

35.001

A PHARMACOEPIDEMIOLOGIC STUDY OF POTENTIAL DRUG INTERACTIONS IN A BRAZILIAN TEACHING HOSPITAL. ¹Polacchine, B. S.; ²Catisti, D. G.; ²Antonietti, G. H.; ²Cruciol-Souza, J. M.; ³Name, C. F.; ⁴Thomson, J. C. ¹Fisiologia e Farmacologia UEL; ²Ciência e Tecnologia dos Alimentos CCR-UEL; ³Ciências Fisiológicas UEL ⁴Clínica e Cirurgia UEL

Objetivo:

Background: Drug prescribing is very complex and drug–drug interaction is a potential cause of adverse drug reactions. The prevalence of such drug interactions in Brazilian teaching hospitals is unknown.

Purpose: To estimate the proportion of potential drug–drug interactions in inpatients of a Brazilian teaching hospital.

To estimate the proportion of potential drug–drug interactions in inpatients of a Brazilian teaching hospital. Drug prescribing is very complex and drug–drug interaction is a potential cause of adverse drug reactions. The prevalence of such drug interactions in Brazilian teaching hospitals is unknown. To estimate the proportion of potential drug–drug interactions in inpatients of a Brazilian teaching hospital.

Métodos e Resultados:

Prescription data from adults inpatients were retrieved from the hospital handwritten records, once a week during a period of four months in 2004. Potential drug interactions were identified and classified by severity and onset through the use of Micromedex/DrugReax® database system. The pharmacoepidemiologic analysis took a total of 1785 prescriptions, being 1089 (61%) male inpatients and 696 (39%) female ones. The average age of patients were 53 years old (SD = 19). More than half of the prescriptions (58%) were from: orthopedy (15%), general (10%), digestive surgery (10%), emergency surgery (8%), neurology (8%) and cardiology (8%). The number of drugs prescribed ranged from 2 to 26 drugs, with an average of 7 drugs (SD = 4) prescribed to each patient. The overall prevalence of potential drug interactions was 49,7% but with a maximal value of 12,5% for the most clinically significant interactions. Although a total of 434 different drug-drug interactions were detected in our sample, only 116 were classified by DrugReax® as "major" interactions (clinically significant). The more commons interacting combinations of them were: digoxin and hydrochlorothiazide; digoxin and amiodarone; captopril and spironolactone.

Prescription data from adults inpatients were retrieved from the hospital handwritten records, once a week during a period of four months in 2004. Potential drug interactions were identified and classified by severity and onset through the use of Micromedex/DrugReax® database system. The pharmacoepidemiologic analysis took a total of 1785 prescriptions, being 1089 (61%) male inpatients and 696 (39%) female ones. The average age of patients were 53 years old (SD = 19). More than half of the prescriptions (58%) were from: orthopedy (15%), general (10%), digestive surgery (10%), emergency surgery (8%), neurology (8%) and cardiology (8%). The number of drugs prescribed ranged from 2 to 26 drugs, with an average of 7 drugs (SD = 4) prescribed to each patient. The overall prevalence of potential drug interactions was 49,7% but with a maximal value of 12,5% for the most clinically significant interactions. Although a total of 434 different drug-drug interactions were detected in our sample, only 116 were classified by DrugReax® as "major" interactions (clinically significant). The more commons interacting combinations of them were: digoxin and hydrochlorothiazide; digoxin and amiodarone; captopril and spironolactone.

Conclusões:

Although drug-drug interactions were common in our sample (49,7%), only a fraction (12,5%) were potentially dangerous to the patient.

Although drug-drug interactions were common in our sample (49,7%), only a fraction (12,5%) were potentially dangerous to the patient.

35.002

QUANTIFICAÇÃO DE NIMODIPINO EM PLASMA HUMANO POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSA. Nascimento, D. F.; Cunha, A. N.; Moraes, R. A.; Barbosa, F. G.; Santana, A. P. M.; Frota Bezerra, F. A.; Moraes, M. O.; Moraes, M. E. A. Fisiologia e Farmacologia Unidade Farmacologia Clínica UFC

Objetivo:

Desenvolver um método rápido, sensível, específico para quantificação do nimodipino em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa usando dibucaína como padrão interno (PI).

Métodos e Resultados:

O analito e o PI foram obtidos das amostras de plasma através da extração líquido-líquido utilizando hexano-acetato de etila (1:1 v/v) com recuperação de 70,00%, 70,51% e 74,02% para as concentrações de 0,30, 15,0 e 35,0 ng/mL, respectivamente. As análises cromatográficas foram realizadas usando uma coluna VARIAN® POLARIS C₁₈ (3µm, 50 x 2,0 mm) e pré-coluna SECURITYGUARD™ C₁₈ (4 x 3 mm) e utilizando como fase móvel uma solução de acetonitrila-acetato de amônio 0,02 mol/L (80:20 v/v). O método apresentou um tempo de corrida de 4,5 minutos e mostrou-se linear no intervalo de 0,1 a 40 ng/mL, com limite de quantificação de 0,1 ng/mL. No espectrômetro de massa, foram utilizadas as transições *m/z* 418,6 > 342,6 e *m/z* 344,2 > 271,0 para o analito e PI, respectivamente. As precisões intralote foram 8,57%, 0,81% e 1,37% e a exatidão intralote foi de 110%, 96% e 104% para 0,3, 15,0 e 35,0 ng/mL, respectivamente. As precisões interlote foram 5,46%, 4,12% e 3,37%, e a exatidão interlote foi de 102,89%, 106,6%, 109,69% para as mesmas concentrações. Este método foi aplicado para a avaliação do perfil farmacocinético do nimodipino administrado em 24 voluntários sadios.

Conclusões:

Através da cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massa no modo MS/MS, desenvolveu-se um método sensível, seletivo, preciso e exato para analisar os parâmetros farmacocinéticos do nimodipino.

35.003

EFEITO COMPARATIVO DO AZUMOLENE E DANTROLENE SÓDICO EM MÚSCULOS ESQUELÉTICO E CARDÍACO ATIVADOS POR DIFERENTES FREQUÊNCIAS DE ESTIMULAÇÃO. Carmo, P. L.; Zapata-Sudo, G.; Trachez, M. M.; Sudo, R. T. Farmacologia Básica e Clínica ICB-UFRJ

Objetivo:

A mortalidade da hipertermia maligna (HM) é >70% dos casos. O dantrolene sódico (DS), único fármaco eficaz no tratamento da HM, é pouco solúvel em água. Seu análogo hidrossolúvel, azulolene sódico (Az), sintetizado no Brasil, encontra-se em fase de pesquisa pré-clínica. Este trabalho comparou os efeitos do Az e DS em músculos esquelético e cardíaco submetidos a diferentes frequências de estimulação.

Métodos e Resultados:

Músculos extensor longo dos dedos (EDL) e solear (SOL) de camundongos e papilar de ratos foram preparados para registro de tensão isométrica. A frequência dos estímulos que gerou os abalos foi 0,2; 0,5 ou 1Hz e, estes foram avaliados na ausência e presença de concentrações crescentes de Az ou DS.

Os abalos do SOL e EDL reduziram em função da concentração de Az ou DS em todas as frequências. Concentrações que inibem 50% do abalo máximo (CI₅₀) do SOL pelo Az, foram de 2,4±0,6; 8,8±3,8; 7,2±0,8µM; e pelo DS foram de 3,3±1,5; 8,3±2,4; 3,7±1,2µM a 0,2; 0,5 e 1Hz, respectivamente. No SOL, a potência do Az foi maior a 0,2Hz e a potência do DS, a 0,2 e 1Hz quando comparada a 0,5Hz (p<0,05). As CI₅₀ do Az no EDL foram de 2,5±0,8; 6,2±2,5; 3,7±0,4µM e, para o DS foram de 1,6±0,4; 4,7±0,8; 1,5±0,3µM a 0,2; 0,5 e 1Hz respectivamente. Então, no EDL, Az e DS foram equipotentes nas frequências de 0,2 e 1Hz, em relação a 0,5 Hz (p<0,05). O DS foi mais potente que o Az a 1Hz, no SOL e no EDL. No papilar, a dependência da frequência em diminuir o inotropismo, somente foi observada com o DS. Assim, a 1Hz, na concentração de 15µM, a amplitude dos abalos foi de 66,6±7,3 e 101,3±9,7% do controle para o DS e Az (p<0,05), respectivamente.

Conclusões:

A potência do Az em inibir os abalos de músculos esqueléticos é comparável a do DS. Az não provoca inotropismo negativo no tecido cardíaco como o DS. A dependência da frequência foi observada no músculo esquelético na presença do Az, porém, não no músculo papilar.

35.004

IN VIVO EFFECTS OF THE FLAVONOIDS QUERCETIN AND MORIN ON ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITIES. ¹Camargo, C. A.; ²Sousa, R. R. R. ^{**}; ³Araújo, D. R. ^{**}; ²da Silva, M. E. F. ^{**}; ²Paula, E.; ²Meirelles, N. C.; ²Miranda, M. A. ^{**}; ⁴Granjeiro, J. M.; ²Aoyama, H. ¹Patologia Clínica FCM-UNICAMP; ²Bioquímica IB-UNICAMP; ³Bioquímica IB-UFMG; ⁴Biologia Celular e Molecular, UFF

Objetivo:

Flavonoids, natural compounds present in a wide variety of vegetables, have medicinal properties such as antiinflammatory, antiallergic, antiviral, antibacterial, antitumor, antioxidant and antihemorrhagic. Phosphatases have shown pivotal roles in different cell processes including cell growth, mitogenesis, metabolism, gene transcription, cell cycle control and stress responses. We have previously observed that depending on their structures, the flavonoids could differently affect the *in vivo* activities of acid phosphatases. In this work we described *in vivo* effects of quercetin and morin on mouse (liver, kidney and blood) alkaline phosphatase (AP) (EC 3.2.3.1) activities.

Métodos e Resultados:

Twenty four hours after subcutaneous administrations of 100 µM quercetin or morin on male mice, kidney, liver and plasma were collected, homogenized in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4), centrifuged, and the clear extracts were used for enzyme activity and protein determinations. The enzyme activities were determined at pH 9.4 using 1 mM *p*-nitrophenylphosphate as substrate, 2 mM MgCl₂, at 37 ° C for 20 minutes, measuring the formation of *p*-nitrophenol. AP from the liver, kidney and plasma were distinctly affected by quercetin and morin. In the kidney, antagonistic effects on the AP activities were observed: quercetin promoted an activation of 5%, and morin an inhibition of 64%. Morin had no significant effects, whereas quercetin increased the AP activities by 15% and 18%, respectively in the liver and plasma.

Conclusões:

Our results stress the importance of the hydroxyl groups positions (3' and 4' for quercetin, 2' and 4' for morin) for the distinct flavonoids effects.

35.005

MONITORAMENTO DO ATENOLOL PLASMÁTICO EM PACIENTES PORTADORES DE INSUFICIÊNCIA CORONARIANA SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA DE REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA. ¹Leite, F. S. ^{**}; ¹Pereira, V. A.; ¹Chignalia, A. Z. ^{*}; ²Santos, S. R. C. J.; ³Carmona, M. J. C.; ³Auler Jr., J. O. C. ¹Análises Clínicas e Toxicológicas e Farmácia USP; ²FCF-USP; ^{5,6}Anestesiologia, HCFMUSP

Objetivo:

A isquemia miocárdica é um importante fator de risco para a mortalidade e complicações cardiovasculares no período perioperatório, sendo que a administração profilática de beta-bloqueadores reduz estes riscos. Os pacientes com função renal dentro da normalidade e candidatos à cirurgia de revascularização do miocárdio (RM) com circulação extracorpórea (CEC), estão frequentemente sob tratamento com o fármaco hidrofílico atenolol em doses terapêuticas usuais. Este estudo tem como objetivo monitorar as concentrações plasmáticas de atenolol durante o washout no perioperatório.

Métodos e Resultados:

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo CEP do hospital. Investigaram-se oito pacientes portadores de angina instável, com função renal dentro da normalidade, com indicação cirúrgica de RM / CEC e em terapia crônica dose ajustada com atenolol, 25 a 100 mg/dia PO no pré-operatório. Quatorze amostras sanguíneas seriadas (5 mL cada) foram coletadas no perioperatório durante o washout da dose pré-operatória de atenolol. A quantificação do atenolol plasmático foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência/fluorescência (CLAE-F), após a purificação da matriz biológica. Finalmente, utilizou-se o software Excel, Office 98, para a expressão dos resultados através da média e desvio padrão. Os níveis plasmáticos do atenolol, após a última dose da medicação, dia que precedeu a cirurgia, estão ilustrados através das médias, DP na Figura abaixo:

Conclusões:

A cirurgia de RM/CEC não alterou a eliminação do atenolol, uma vez que a transformação logarítmica das médias evidenciou coincidência entre concentrações obtida e prevista. Ressalta-se

ainda, que os níveis mostraram-se inferiores a concentração mínima efetiva (200 ng/mL) já a partir da oitava hora.

35.006

AVALIAÇÃO DA DISTRIBUIÇÃO TECIDUAL DA QUININA EM RATOS WISTAR SADIOS E INFECTADOS POR *PLASMODIUM BERGHEI* ATRAVÉS DE MICRODIÁLISE. Pedroni, H. C.^{***}; Bettoni, C. C.; Spalding, S.; Dalla Costa, T. Farmácia UFRGS

Objetivo:

A falta de efetividade da quinina (QN) sob as formas hepáticas da malária pode ser resultante da baixa concentração atingida no fígado após sua administração. Para investigar esta hipótese, as concentrações livres teciduais de QN foram determinadas por microdiálise (MD) em fígado e músculo de ratos sadios e infectados.

Métodos e Resultados:

Os experimentos, aprovados pelo CEP da UFRGS (2003235), foram conduzidos em ratos machos Wistar sadios e infectados de 6-7 semanas (n = 10/grupo). A malária experimental foi induzida pela inoculação i.v. de 10⁸ hemáceas parasitadas por *P. berghei* resultando em parasitemia de 38,2 ± 12,6 % 10 a 13 dias pós-infecção. Após jejum *overnight* e anestesia, as sondas de MD (BAS CMA/20) foram inseridas no lobo direito do fígado e no músculo da pata posterior dos ratos. As sondas foram perfundidas com Ringer a 1,0 µL/min. Após a administração oral de QN (250 mg/kg), amostras de dialisado foram coletadas a cada 30 min por 12 h e a concentração de QN foi determinada por CLAE. A taxa de recuperação *in vivo* das sondas no fígado e no músculo foi de 35,9 ± 7,0 % e 26,0 ± 3,8 %, não alterando devido à infecção. A partir dos perfis teciduais livres foram calculados a área sob a curva (ASC₀₋₇₂₀) e o tempo de residência médio da QN (MRT). Observou-se um platô nos níveis de QN em ambos tecidos e situações investigadas. No fígado sadio e infectado a ASC₀₋₇₂₀ foi de 228 ± 131 e 205 ± 121 mg.min.mL⁻¹ e o MRT foi de 5,9 ± 1,1 e 5,0 ± 1,3 h, respectivamente. No músculo obteve-se ASC₀₋₇₂₀ de 875 ± 532 e 581 ± 467 mg.min.mL⁻¹ e MRT de 5,4 ± 1,0 e 4,8 ± 1,2 h, para ratos sadios e infectados, respectivamente. Nenhum parâmetro diferiu significativamente nos grupos investigados (α = 0,05). A razão ASC_{0-720(músculo)/ASC_{0-720(fígado)} de 2,7 ± 0,9 e 2,6 ± 0,9 para ratos sadios e infectados denota a maior afinidade da QN pelo tecido muscular.}

Conclusões:

A malária não alterou a distribuição tecidual da QN e a falta de efetividade do fármaco nas formas hepáticas de *Plasmodium* não pode ser atribuída aos baixos níveis obtidos no órgão, pois níveis plasmáticos semelhantes (0,1 a 5 µg/mL) são efetivos nas formas eritrocíticas do parasita em ratos Wistar.

35.007

DETERMINAÇÃO DO ACETATO DE MEGESTROL EM PLASMA HUMANO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSA. Martins, I. L.; Tavares, J. P.^{***}; Leite, A. L. A. S.; Vieira, A. S.[†]; Cunha, D. L.[†]; Frota Bezerra, F. A.[†]; Moraes, M. O.; Moraes, M. E. A. Fisiologia e Farmacologia Unidade Farmacologia Clínica UFC

Objetivo:

Desenvolver um método seguro, sensível, específico, de alta precisão e exatidão para quantificação do acetato de megestrol (AM) em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massa usando betametasona como padrão interno (PI).

Métodos e Resultados:

O analito e o PI foram obtidos das amostras de plasma através da extração líquido-líquido utilizando hexano-acetato de etila (1:1 v/v) com recuperação de 74,86%, 85,11% e 91,95% para as concentrações de 6, 60 e 120 ng/mL, respectivamente. As análises cromatográficas foram realizadas usando uma coluna PHENOMENEX[®] C₁₈ (10 (m, 250 x 4,6 mm) e pré-coluna SECURITYGUARDTM C18 (4 x 3 mm) e utilizando como fase móvel uma solução de acetoneitrila-água (80:20 v/v), contendo 0,1% de ácido fórmico. O método apresentou um tempo de corrida de 3 minutos e mostrou-se linear no intervalo de 2 a 150 ng/mL, com limite de quantificação de 2 ng/mL. No espectrômetro de massa, foram utilizadas as transições m/z 384,7 > 324,7 e m/z 393,2 > 373,1 para o analito e PI, respectivamente. As precisões intralote foram 3,16%, 4,65% e 2,68%, e a

exatidão intralote foi de 6,77%, 6,23% e 5,73% para 6, 60 e 120 ng/mL, respectivamente. As precisões interlote foram 7,76%, 6,23% e 6,37%, e a exatidão interlote foi de 0,08%, 1,55% e 2,11% para as mesmas concentrações. Este método foi aplicado para a avaliação do perfil farmacocinético do AM administrado em 30 voluntários sadios.

Conclusões:

Através da cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massa no modo MS/MS, desenvolveu-se um método sensível, seletivo, preciso e exato para analisar os parâmetros farmacocinéticos do AM.

35.008

ESTUDO PILOTO DE BIOEQUIVALÊNCIA ENTRE DUAS FORMULAÇÕES CONTENDO CARBAMAZEPINA (COMPRIMIDO DE 200 MG). ¹Leite, I. O.; ²Nascimento, D. F.; ²Santana, G. S. M.; ²Lima, F. A. V.; ²Salmito, G. A.; ²Moraes, M. E. A.; ²Frota Bezerra, F. A.; ²Moraes, M. O.; ¹Farmacologia e Toxicologia UFC; ²Fisiologia e Farmacologia Unidade Farmacologia Clínica UFC

Objetivo:

Avaliar se as formulações estudadas de carbamazepina (comprimido de 200 mg) produzido pela União Química (teste) e pelo Laboratório Novartis Biociências S.A. (referência) apresentam uma clara tendência a bioequivalência.

Métodos e Resultados:

O estudo foi do tipo aberto, randomizado e cruzado com dois internamentos de 36 horas intercalados por 14 dias. Foram selecionados 8 voluntários sadios com idade entre 21 e 39 anos, através de consulta médica, ECG e exames laboratoriais. As concentrações plasmáticas de carbamazepina foram dosadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção em UV-visível. A concentração máxima obtida (C_{max}) e a área sob a curva da concentração plasmática versus tempo (ASC) foram determinadas e comparadas. As duas formulações de carbamazepina foram bem toleradas havendo apenas relatos de eventos adversos de leve intensidade tais como: cefaléia (n=1), vômitos (n=1), diarreia (n=1) e disúria (n=1). A média geométrica da razão do C_{max} e da $ASC_{(0-336h)}$ de carbamazepina União Química versus Tegretol[®] foram respectivamente de 117,05% (IC de 90%=113,21 – 121,02%) e 104,99% (IC de 90%=97,57 – 112,98%).

Conclusões:

Através da análise do poder do teste e do cálculo de probabilidade pode-se concluir que a probabilidade de C_{max} e da $ASC_{(0-336h)}$ serem bioequivalentes é de 88% para ambos os parâmetros farmacocinéticos.

35.009

AValiação DO EFEITO DE RETINOL NA LESÃO DA BARREIRA FUNCIONAL INTESTINAL EM CÉLULAS CACO-2 INDUZIDA PELA TOXINA A DO *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*. ¹Maciel, A. A. F.; ¹Braga, A. B. C.; ¹Braga-Neto, M. B.; ²Oriá, R. B.; ¹Lima, A. A. M. ¹Fisiologia e Farmacologia UFC; ²Morfologia, UFC

Objetivo:

A vitamina A (retinol) e seus metabólitos são essenciais para o crescimento e diferenciação do tecido epitelial. A deficiência de retinol é acompanhada por redução da integridade intestinal, entretanto os mecanismos envolvidos não são bem conhecidos. Uma vez que a Toxina A promove uma alteração na função da barreira intestinal, o objetivo deste estudo é avaliar o efeito protetor do retinol na lesão induzida pela TxA.

Métodos e Resultados:

Células Caco-2 (passagem 40-47) foram cultivadas em Opticell mantidas a 37°C em DMEM, com 5% de CO₂. As células foram tripsinizadas e semeadas em transwell-COL (diâmetro: 6,5mm; área: 0,33cm²), e volume do meio foi de 0,4mL na parte apical e 1,0mL na parte basal. A Resistência Elétrica Transepitelial, TER foi medida utilizando *Millicel Electrical Resistance System*, colocando eletrodos na região apical e basal dos poços. A adição do retinol ao meio foi obtida a partir de uma solução preparada com etanol absoluto (ETOH). As células foram tratadas em diferentes concentrações de retinol (0,1, 0,3, 1 e 3µg/mL) e o grupo controle recebeu ETOH absoluto como veículo. Após atingir a confluência, foi adicionada a TxA na parte apical, numa concentração de 0,1µg/mL. O retinol, nas concentrações de 0,1µg/mL (86 ± 0,9 Ωcm²; p<0,001), 0,3µg/mL (83 ± 5,2 Ωcm²; p<0,001) e 1µg/mL (81 ± 2,2Ωcm²; p<0,001), preveniu a redução da TER (Ω) (% do valor

inicial), 3h após exposição das células à TxA, em relação ao controle com ETOH ($71 \pm 0,1\Omega\text{cm}^2$), N=4 para cada dose. As células tratadas com a dose de $0,1\mu\text{g/ml}$ de retinol apresentaram valores aumentados de resistência transepitelial em relação ao controle com ETOH ($p < 0,001$) em todos os intervalos de tempo a partir de 3h. As doses de $0,3\mu\text{g/mL}$ ($83 \pm 5,2$ vs. $71 \pm 0,2\Omega\text{cm}^2$; $p < 0,001$) e de $1\mu\text{g/mL}$ ($81 \pm 2,2$ vs. $71 \pm 0,2\Omega\text{cm}^2$; $p < 0,001$) de retinol às 3h e na dose de $3\mu\text{g/mL}$ ($36 \pm 2,1$ vs. $18 \pm 0,4\Omega\text{cm}^2$; $p < 0,001$) às 8h preveniu a redução na TER em relação ao controle com etanol.

Conclusões: Esse estudo sugere que o retinol possui ação protetora dose dependente sobre a barreira morfofuncional em células intestinais Caco-2 lesadas pela TxA, obtendo-se efeito máximo com a dose de $0,1\mu\text{g/mL}$

35.010

COMPARATIVE BIOAVAILABILITY OF 2 LITHIUM CARBONATE FORMULATIONS IN HEALTHY HUMAN VOLUNTEERS AFTER A SINGLE DOSE ADMINISTRATION ¹Guilherme, M. C.; ²Pereira, D. G. ^{**}; ²Donato, J. L.; ¹de Nucci, G. ¹Farmacologia USP; ²Farmacologia UNICAMP

Objetivo:

To compare the bioequivalence of one lithium carbonate oral tablet (300 mg) from Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., Brazil, as test formulation, with one lithium carbonate oral tablet (300 mg) from Eurofarma Laboratórios Ltda., Brazil, as reference formulation, in 24 volunteers of both sexes.

Métodos e Resultados:

The study was conducted open with a randomized two-period crossover design and one-week washout period. Plasma samples were obtained over a 72-hour interval. Lithium concentrations were analyzed by flame atomic absorption spectrophotometer. From the lithium concentration as a function of time curves, the following pharmacokinetic parameters were obtained: AUC(last), AUC(inf) and C(max). Geometric mean ratio of lithium test/reference individual percent ratio was 101.99% for AUC(last), 103.84% for AUC(inf) and 104.77% for C(max). The 90% confidence intervals were 96.81-107.44%, 98.44-109.54% and 98.60-111.33%, respectively.

Conclusões:

Since the 90% CI for AUC(last), AUC(inf) and C(max) were within the 80-125% interval proposed by the Food and Drug Administration, it was concluded that lithium carbonate oral tablet (300 mg) from Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., Brazil, is bioequivalent to lithium carbonate oral tablet (300 mg) from Eurofarma Laboratórios Ltda., Brazil, with regard to both the rate and extend of absorption.

35.011

FIRST-HAND SMOKE EXPOSURE DELAYS WOUND CONTRACTION AND GRANULATION TISSUE IN C57BL/6 MICE. Cardoso, J. F.; Souza, B. R. ^{**}; Amadeu, T. P. ^{**}; Valença, S. S. ^{**}; Porto, L. C. M. S.; Costa, A. M. A. Histologia e Embriologia UERJ

Objetivo: Cigarette smoke exposure is a worldwide risk factor to life. Inhaling cigarette smoke produces several effects that are not well understood. The aim of this study was to investigate the effects of first-hand smoke exposure on mouse excisional cutaneous wound healing using C57BL/6 mouse.

Métodos e Resultados:

Adult male C57BL/6 were divided in experimental and control group. Experimental group (n=7) was exposed to a smoke-air mixture of commercial filtered Virginia cigarette, 3 times/day, 7 days/week, for 10 days with whole-body exposure in an inhalation chamber. Control group (n=5) was sham-smoke exposed. In the 11st day a full-thickness excision wound (1cm^2) was done in back of animals and followed for 7 days. Wound area is expressed as percentage of initial area. The cigarette smoke exposure protocol was performed until euthanasia. After euthanasia, the lesion area and adjacent normal skin were formol-fixed and paraffin-embedded. The sections were stained with hematoxylin-eosin, Sirius red, toluidine blue and picro-mallory. Experimental group presented delayed wound contraction ($20.8\% \pm 7.7$) opposed to control group ($16.5\% \pm 4.4$) ($p=0.015$). Granulation tissue from the group exposed to cigarette smoke presented some morphological changes in fibroblasts of deep region opposed to control group. Collagen density analysis of exposed group showed greenish and red fragmented fibers in deep region of granulation tissue whereas control group presented mainly long red fibers and some yellow-greenish collagen fibers.

Conclusões:

First-hand cigarette smoke exposure impaired cutaneous wound healing, by delaying wound contraction and altering granulation tissue development.

35.012

DETECÇÃO DO CITOMEGALOVÍRUS E POLIOMAVÍRUS NA CISTITE HEMORRÁGICA PÓS-TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE MEDULA ÓSSEA. ¹Tavares, C. A.; ¹Mudinutti, C.; ¹Mudinutti, C.; ¹Pasquotto, J.; ¹Barbosa, T. O.; ¹Bonon, S. H. A.; ¹Vigorito, A. C.; ²de Souza, C.A.; ¹Costa, S. C. B. ¹Clínica Médica, UNICAMP; ²Hemocentro UNICAMP

Objetivo:

A Cistite Hemorrágica (CH) é uma importante complicação após o transplante de medula óssea (TMO), com uma incidência de 7 a 70%. Os fatores de risco associados com a cistite hemorrágica vem sendo analisados em inúmeros estudos. Estes incluem a reativação do Poliomavírus (BKV) no uroendotélio, do Citomegalovírus (CMV), pacientes idosos ao transplante; transplantados de medula óssea alogênico e pacientes com doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD). OBJETIVOS: detectar a infecção ativa pelo Citomegalovírus (CMV) em amostras de sangue de pacientes transplantados alogênicos de medula óssea, utilizando as técnicas da antigenemia (AGM) e da Nested-PCR (N-PCR); detectar a infecção causada pelo Poliomavírus (tipo BK), em amostras de sangue e urina de pacientes transplantados alogênicos de medula óssea utilizando as técnicas de citologia urinária, Nested-PCR e Imunohistoquímica.

Métodos e Resultados:

Foram estudados prospectivamente até o momento, 24 pacientes transplantados alogênicos de medula óssea. Para detecção da infecção ativa por Citomegalovírus foram realizadas as técnicas de Antigenemia e Nested-PCR, em amostras de sangue coletadas semanalmente desde o dia zero (pré-transplante) até o dia + 150 pós-transplante. Para a pesquisa da infecção causada pelo Poliomavírus (tipo BK) serão realizadas técnicas de imunohistoquímica em amostras positivas ou duvidosas detectadas por citologia urinária na qual pode-se observar a presença de inclusão viral chamada de células "Decoy". Também será feita a Nested-PCR para o BK. Nove pacientes (37,5%) dos 24 estudados, tiveram hematúria microscópica. Destes 6 (66,7%), tiveram citologia duvidosa para BKV e apresentaram infecção ativa por CMV detectada por AGM e/ou N-PCR. Um paciente com hematúria microscópica e citologia positiva não teve infecção ativa pelo CMV. Dois dos 24 pacientes (8%) tiveram hematúria macroscópica e um destes teve citologia positiva para BK e o outro teve citologia duvidosa. Ambos pacientes apresentaram infecção ativa por CMV detectadas por AGM e/ou N-PCR.

Conclusões:

Com este trabalho poderemos analisar dois dos fatores de risco para cistite hemorrágica, o que poderá auxiliar no diagnóstico precoce da etiologia desta doença nestes pacientes. Com a utilização da imunohistoquímica e da N-PCR para BKV, poderemos identificar a infecção pelo BKV, principalmente nos casos de citologia duvidosa.

35.013

ARGININE AND ZINC SYNERGY IN PROMOTING INTESTINAL CELL INJURY REPAIR. ¹Destura, R.; ¹Alcântara, C.; ²Braga-Neto, M. B.; ¹Amoah-Dangwa, A.; ¹Pinkerton, R.; ²Lima A. A. M.; ¹Guerrant, R. L. ¹Immunology and Infectious Diseases University of Virginia; ²Fisiologia e Farmacologia DFF-UFC

Objetivo: Intestinal injury repair involves cell migration and proliferation, which requires the induction of polyamine synthesis. Polyamines are important end-products of the "conditionally essential" amino acids, arginine and glutamine, which are necessary for cell division, DNA replication and regulation of cell cycle. DNA and RNA transcription and replication cofactors are zinc-dependent. Our previous studies have shown that arginine and zinc independently stimulate both migration and proliferation. We further postulate that the combined effects of arginine and zinc on cell migration will be significantly greater than its individual effects.

Métodos e Resultados: We examined the synergistic effects of arginine and zinc on intestinal injury using rat intestinal epithelial cells (IEC-6) in a monolayer culture system. Cell migration was measured after scarifying an 85-95% confluent cell monolayer. Several dose-combinations of arginine (0, 0.1, 0.5, 1, and 5mM) and zinc (0, 0.1, 0.5, 1, and 5µM) were supplemented to

glutamine-free DMEM with 0.1% fetal calf serum. Analysis of combined effects was performed using MacSynergy II. Dose response curves revealed greatest cell migration occurring for zinc at 0.1 μ M and 0.5 μ M and for arginine at 0.01 mM and 0.1 mM. Total calculated synergistic volume across the entire combination grid equaled 134.81 (95%CI, 40-230) Synergistic interactions were observed primarily with zinc 0.1 μ M in combination with arginine at 0.05mM, 0.1mM and 0.5mM. Greatest synergy was observed at zinc 0.1 μ M / arginine 0.05mM where synergy volume was 35.13 (95% CI, 29.31 -40.65)

Conclusões:

Arginine and zinc showed significant interactive and synergistic effects in cell migration and proliferation after injury in the cell monolayer model. Arginine and zinc supplementation can play a significant role in rapid intestinal mucosal restitution after an injury.

35.014

EFEITO DO RETINOL NA CONFLUÊNCIA DE CÉLULAS INTESTINAIS CACO-2. ¹Maciel, A. A. F.; ¹Braga, A. B. C.; ¹Braga-Neto, M. B.; ²Oriá, R. B.; ¹Lima, A. A. M. ¹Fisiologia e Farmacologia DFF-UFC; ²Centro Ciências da Saúde UNIFOR

Objetivo:

O retinol e seus análogos são reguladores nutricionais essenciais para o crescimento e diferenciação das células epiteliais intestinais. A deficiência de retinol potencialmente inibe a adaptação intestinal pela modulação apoptótica, proliferação e migração do enterócito. O objetivo deste estudo é avaliar o efeito do retinol no tempo de confluência de células Caco-2.

Métodos e Resultados:

As células Caco-2 (passagem 40-47) foram cultivadas no sistema de Opticell contendo Dulbecco's Modified Eagle Medium, 10% de soro fetal bovino, 100U/mL penicilina e 100 μ g/mL estreptomicina. As células foram incubadas a 37° C com 5% de CO₂ e, após a tripsinização, semeadas em transwell-COL (diâmetro de 6,5mm e área de 0,33cm²), onde o volume do meio de cultura foi de 0,4mL na parte apical e 1,0mL na parte basal. Em todos os experimentos o inóculo inicial foi de 6 x 10⁵ células/mL. A suplementação do meio com retinol (n=4 para cada dose) foi obtida a partir de uma solução inicial preparada com etanol absoluto (ETOH). As células foram tratadas em diferentes concentrações de retinol (0,1, 0,3, 1 e 3 μ g/ml) e o grupo controle (n=4) recebeu a mesma quantidade de ETOH absoluto. A Resistência Elétrica Transepitelial (TER Ω) em monocamadas de células Caco-2 foi medida utilizando *Millicel Electrical Resistance System* colocando eletrodos separados na região apical e basal dos poços. Mediu-se a TER de cada poço a cada 24 horas, até ser atingida a confluência. O etanol aumentou o tempo de confluência de 48h para 168h em relação ao controle. A resistência após o período de 168h nas células tratadas com etanol foi reduzida para 86% em relação ao controle. O retinol na dose 3 μ g/ml reduziu o tempo de confluência de 168h para 120h e, no tempo de 96h, promoveu um aumento significativo na TER (17.01 \pm 1.52 Ω cm²) comparado às células tratadas apenas com ETOH (5,94 \pm 0,45 Ω cm²).

Conclusões:

Sugerimos que o etanol retarda o tempo de confluência e reduz a resistência total das células Caco-2, e que o retinol previne esse efeito. O melhor efeito do retinol foi obtido com a dose de 3 μ g/ml.

35.015

ENOS HAPLOTYPES BUT NOT GENOTYPES ARE ASSOCIATED WITH HYPERTENSION. ¹Sandrim, V. C.; ²Coelho, E. B.; ¹Tanus-Santos, J. E. ¹Farmacologia FMRP-USP; ²Clínica Médica FMRP-USP

Objetivo:

Polymorphisms in endothelial NO synthase (**eNOS**) have been inconsistently associated with **hypertension (HAS)**. Specifically, the polymorphisms T-786C (in the promoter region), Glu298Asp (in exon 7), and b/a (in intron 4) have been widely studied. One possible explanation for the inconsistency is that previous studies usually focused on only one polymorphism, and not on the haplotypes (Hap), which take into account combinations of genetic variants. In this study, we compared the frequencies of different eNOS Hap involving the three eNOS polymorphisms in hypertensive (HT) and normotensive subjects (NT).

Métodos e Resultados:

We studied 122 white HT (78 women, age 47.3±10.4 years, Systolic Blood Pressure – SBP – 142.3±26.7 mmHg and 44 men; age 44.1±8.4 years; SBP, 146.6±26.1 mmHg) and 113 white NT subjects (35 women; age 44.1±8.4 years; SBP 115.6±9.2 mmHg and 68 men; age 40.3±6.4 years; SBP, 124.3±13.1 mmHg). Genomic DNA was isolated from blood samples and genotypes for the three polymorphisms were determined by PCR followed by restriction fragment digestion.

Frequencies of genotypes TT, TC and CC (T⁻⁷⁸⁶C) were, respectively, 32, 54, 14% in NT and 33, 55, and 12% in HT (P=0.48); genotypes Glu/Glu, Glu/Asp and Asp/Asp (exon 7) frequencies were 47, 47, 6% in NT and 43, 48, and 9% in HT (P=0.78), respectively; finally, genotypes bb, ba, and aa (intron 4) frequencies were 76, 21, 4% in NT and 70, 27, 3% in HT (P=0.67), respectively. However, significant (P=0.0091) differences were found in **overall Hap distribution**. Three Hap were significantly more commonly found in NT than in HT subjects: the Hap combining the variants T, Asp, and b, or the variants C, Glu, and b, or the variants C, Glu, and b (all P<0.05).

Conclusões:

While **no significant** differences were found in **genotypes** distribution, three haplotypes were more common among HT subjects compared with NT subjects. These findings strongly suggest a haplotype effect (but not a genotype effect) on the risk of developing hypertension.

35.016

INFLUÊNCIA DOS GENÓTIPOS DE CYP2C9 NA FARMACOCINÉTICA E NA FARMACODINÂMICA DO PIROXICAM EM BRASILEIROS. ¹Perini, J. A.; ²Vianna-Jorge, R.; ²Suarez-Kurtz, G. ¹Farmacologia INCa; ²Farmacologia INCa

Objetivo:

A enzima CYP2C9 metaboliza diversos fármacos amplamente utilizados, incluindo o anti-inflamatório não-esteroidal piroxicam (P). O gene CYP2C9 é polimórfico sendo que CYP2C9*2 (C430T) e CYP2C9*3 (A1075C) são os polimorfismos mais freqüentes, variando amplamente nas diferentes populações.

O objetivo deste trabalho é correlacionar polimorfismos da CYP2C9 sobre a farmacocinética e a farmacodinâmica do P.

Métodos e Resultados:

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética do INCA. A técnica de PCR-RFLP foi usada para a genotipagem de 38 voluntários sadios (27 homens). Foram coletadas amostras de sangue no intervalo de 0 a 240 horas após a administração oral de 20mg P. As concentrações plasmáticas de P foram quantificadas por HPLC-UV, e os parâmetros farmacocinéticos foram obtidos por análise não-compartimental no programa WinNonlin. As concentrações plasmáticas de tromboxano B₂ (TXB₂) foram dosadas através do método imunoenensaio enzimático, a fim de avaliar o efeito inibitório do P na atividade da ciclooxigenase 1 (COX-1).

A figura mostra as curvas das concentrações plasmáticas de P (média ± SD) ao longo do tempo, de acordo com os diferentes genótipos de CYP2C9 (*1/*1 n=17, *1/*2 n=9, *1/*3 n=9, *2/*2 n=1, *2/*3 n=1 e *3/*3 n=1).

A tabela mostra a influência dos diferentes genótipos de CYP2C9 em parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos do P.

^aP < .05 vs CYP2C9*1/*1 (Student-Newman-Keuls test)

Conclusões: Ambos alelos variantes CYP2C9*2 e *3 afetam a farmacocinética, com conseqüências farmacodinâmicas na inibição da atividade COX-1 pelo P.

35.017

DESENVOLVIMENTO DE MODELO GENÉTICO PARA RECONHECIMENTO E DIAGNÓSTICO DA HIPERTERMIA MALIGNA EM FAMÍLIA BRASILEIRA. ¹Moore, C. A. T.; ¹Matos, A. R.; ²Rumjanek, F. D.; ¹Zapata-Sudo, G.; ¹Sudo, R. T. ¹Farmacologia Básica e Clínica ICB-UFRJ; ²Bioquímica Médica ICB-UFRJ

Objetivo:

A Hipertermia Maligna (HM), doença farmacogenética, se manifesta durante anestesia geral com derivados halogenados e succinilcolina. Esta doença está associada à disfunção da regulação intracelular de Ca²⁺ conseqüente a mutação do gene do receptor de rianodina do tipo 1 do músculo esquelético (RyR1). O método atual para o diagnóstico de HM é o teste de contratura *in vitro* (IVCT) em resposta à cafeína e ao halotano realizado em biópsias musculares. O objetivo do

trabalho foi desenvolver um modelo diagnóstico genético não invasivo em família brasileira com a mutação já reconhecida.

Métodos e Resultados:

A suscetibilidade genética foi investigada em 27 indivíduos de uma família com mutação do RYR1 (Arg2355Cis). A alteração genética desta família foi provocada pela substituição da citosina pela timina na posição 7062 do éxon 44 (Clin Genet 62:80, 2002). Os DNAs foram extraídos a partir de amostras de sangue total. Foi utilizada técnica de amplificação e separação por PCR do éxon 44 com os primers RYR44R e RYR44F. Os fragmentos amplificados foram analisados pela técnica de SSCP ("single strand conformation polymorphism"), comparativamente aos padrões obtidos de indivíduos normais e positivos para HM. Diferenças no padrão de corrida do éxon 44 foram observadas entre os indivíduos normais e portadores de HM.

Padrões semelhantes ao portador de HM foram detectados em 5 indivíduos e semelhantes ao não-portador em 15 indivíduos. Em 6 indivíduos não houve semelhança com os controles positivo ou negativo. A confirmação dos nossos resultados está na dependência de uma avaliação do sequenciamento do éxon 44 dos indivíduos, que já foi encaminhado.

Conclusões:

Através desse protocolo não invasivo é possível inferir se os pacientes possuem a alteração genética causadora de HM, porém, tendo em vista resultados diferentes aos dos padrões positivo e negativo no gel do SSCP, melhoria da técnica e estudo em amostras maiores são necessários.

35.018

EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO AGUDA E CRÔNICA DE METILPREDNISOLONA SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO PULMONAR. ¹Torres, R. L.; ²Torres, I. L. S.; ³Dallegrave, E. ^{**}; ⁴Dantas, G. ^{**}; ⁵Dallegrave, G. ^{*}; ⁵Rossi, G. ^{*}; ³Stenzel, B. ^{**}; ¹Fernandes, T. R. G.; ¹Belló-Klein, A.; ⁶Ferreira, M. B. C.; ⁵Cardoso, P. F. G.; ¹Fisiologia UFRGS; ²Farmacologia, UNIVATES; ³Veterinária UFRGS; ⁴Neurociências UFRGS; ⁵Medicina UFRGS; ⁶Farmacologia UFRGS

Objetivo: Metilprednisolona, antiinflamatório amplamente utilizado em clínica médica, foi administrada a ratos adultos e medido seu efeito sobre estresse oxidativo em pulmões.

Métodos e Resultados: Os animais (n=60) foram divididos em 3 grupos, submetidos, a tratamento agudo, sub-crônico ou crônico, subdivididos em controles (C) (n=10) e tratados com metilprednisolona (MP) (n=10). Os grupos C receberam água (v.o.) ou salina (i.p.). No tratamento agudo (AG), os animais receberam uma dose de 50 mg/kg de metilprednisolona (i.p.) e foram mortos 24 h após. Nos tratamentos sub-crônico (SC) e crônico (CR), os animais foram tratados com 5 mg/kg por 15 dias e 30 dias (v.o.), respectivamente. O estresse oxidativo foi avaliado em tecido pulmonar utilizando as técnicas de quimiluminescência (QL) e de potencial antioxidante total (TRAP). Na análise estatística, utilizou-se o teste t de Student, com grau de significância de P<0,05. Os dados foram expressos como média±EPM de µmol de Trolox (TRAP) e cps/mg de proteína (QL). No grupo AG, observou-se aumento significativo de TRAP (C: 351±23,7; MP: 441±28,5), sem alteração de QL (C: 15771,57±763,3; MP: 20574,97±2370,5). No grupo SC, não foi observada alteração de QL (C: 10084,3±421,07; MP: 8718,15±690,99) ou de TRAP (C: 428,87±17,03; MP: 448±23,67). No grupo CR, houve aumento significativo de QL (C: 8673,87±736,26; MP 13891,02± 513,8), sem alteração de TRAP (C: 335,75±20,8; MP: 255,5±40,9).

Conclusões: O resultado observado no tratamento agudo pode sugerir um efeito protetor desse fármaco no tecido pulmonar e/ou adaptação do organismo a uma situação de aumento de radicais livres. Por outro lado, o tratamento crônico pode induzir o estresse oxidativo, observado pelo aumento de QL. Os resultados obtidos podem estar relacionados com os efeitos farmacológicos decorrentes do uso de corticóides

35.019

5-FLUOROURACIL AND INTESTINAL EPITHELIAL CELLS IN MIGRATION. ¹Braga-Neto, M. B.; ²Vieira, C. M. ^{**}; ¹Braga, A. B. C. ^{*}; ¹Maciel, A. A. F. ^{**}; ²Guerrant, R. L.; ¹Lima, A. A. M. ¹Fisiologia e Farmacologia UFC; ²Department of Immunology and Infectious Diseases University of Virginia

Objetivo:

The intestinal mucosa is composed of a dynamic epithelial cell population. The intestinal crypt cells proliferate and migrate to the villus tip, which maintains mucosal homeostasis. Antitumor drugs such

as 5-Fluorouracil (5-FU) block intestinal epithelial proliferation and perturb its homeostasis and cause serious gastrointestinal toxicity. Excess permeation of large molecules and malabsorption of D-glucose, D-xylose, L-leucine, L-tryptophan and sulfanilamide have been observed in patients and experimental animals that had received 5-FU. The aim of this study is evaluate the effect of 5-FU and glutamine on cellular migration and determine the dose response of 5-FU.

Métodos e Resultados: We examined the effect of 5-FU on intestinal injury using rat intestinal epithelial cells (IEC-6) in a monolayer culture system. Cell migration (cells/mm²) was measured after scarifying an 85-95% confluent cell monolayer with a razor blade. The wells were coated with Matrigel according with the manufactor instructions. IEC-6 cells were cultured in medium with and without glutamine (0.6g/L). Several doses of 5-FU (0.3, 1.0, 3.0 and 10mM) were supplemented to glutamine DMEM with 5% fetal calf serum. Analysis of combined effects was performed using GraphPad Prism. The control without glutamine (2067 ± 66.67 cells/mm²) revealed significant reduction in migration compared to the control with glutamine (3060 ± 250.2 cells/mm²). Dose response curves revealed the greatest reduction (p<0.05) in migration occurring for 5-FU at 3mM (875 ± 62.92 cells/mm²) and 10mM (850 ± 95.74 cells/mm²) when compared to the control with glutamine (1720 ± 142 cells/mm²) after 12h of exposition to 5FU. After 24h the reduction in migration occurred at 1mM (2060 ± 250.2 cells/mm²), 3mM (1380 ± 96.95 cells/mm²) and 10mM (1220 ± 120 cells/mm²) when compared to the control with glutamine (3060 ± 250.2 cells/mm²).

Conclusões: 5-FU showed significant reduction in IEC-6 cell migration after injury in the cell monolayer model. Glutamine supplementation can play a significant role in rapid intestinal mucosal restitution after an injury in IEC-6 cells.

35.020

LESÃO DA BARREIRA EPITELIAL INTESTINAL INDUZIDA PELA TOXINA A DO *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*: ANÁLISE DOSE, TEMPO E EFEITO. ¹Braga, A. B. C.; ¹Maciel, A. A. F. ^{**}; ¹Braga-Neto, M. B.; ¹Coutinho, B. P.; ²Oriá, R. B.; ¹Lima, A. A. M. ¹Fisiologia e Farmacologia UFC; ²Centro de Ciências da Saúde UNIFOR

Objetivo:

O *Clostridium difficile* é a causa mais comum de diarreia nosocomial. A toxina A (TxA) dessa bactéria causa lesão da barreira epitelial decorrente da inativação das proteínas GTPase da família Rho, com perda das tight junctions. Esse efeito pode ser avaliado indiretamente através da medida da resistência elétrica transepitelial (TER). Para compreender melhor a dinâmica da lesão induzida pela toxina A, é necessário estabelecer o comportamento de concentrações diferentes da toxina durante o tempo de exposição. O objetivo do trabalho é verificar a alteração da TER induzida pela toxina A do *C. difficile*, estabelecendo uma curva dose, tempo e efeito.

Métodos e Resultados:

Foram usadas células Caco-2, na passagem 40-47. As células foram mantidas a 37°C em DMEM, numa atmosfera de 5% CO₂. Atingida a confluência, as células foram tripsinizadas e semeadas em placas contendo 12 poços com filtros cobertos por colágeno, mantendo-se 2 poços sem células. Foi adicionado 0,4mL e 1mL do meio na região apical e basal de cada poço, respectivamente. A TER foi medida utilizando *Millicel Electrical Resistance System* colocando eletrodos separados na região apical e basal dos poços. Mediu-se a TER de cada poço a cada 24 horas, até ser atingida a confluência (resistência lida ≥ 180Ω). Foi adicionada 10µl PBS (controle, n = 5) ou 10µl de TxA nas concentrações 0.1, 0.3, 1 e 3µg/mL na região apical de cada poço (n = 5 para cada concentração). A TER foi medida 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 12, e 24h após ser colocada a TxA. Houve redução significativa (p<0.05) da TER em relação ao controle 0.5h e 1h após a indução da lesão com TxA na dose de 3µg/ml. Após 2 h, a TxA nas doses de 0,3µg/mL, 1µg/mL e 3 µg/mL provocou efeito semelhante. Após 3h de incubação, houve redução significativa da TER com todas as doses de toxina. O efeito máximo da maior e menor dose ocorreu, respectivamente, após 2h e 6h, não existindo diferença significante entre elas nesse período.

Conclusões:

A toxina A do *C. difficile* causa lesão da barreira epitelial intestinal de forma dose e tempo dependente. O tempo para início e efeito máximo de TxA na dose de 3µg/mL foi de 30 minutos e 2 horas, respectivamente.

35.021

OS EFEITOS DOS ANÁLOGOS DA L-ARGININA NA ATIVIDADE DA NOS EM PLAQUETAS DE PACIENTES HIPERTENSOS. Silva, M. N. S. B.; de Meirelles, L. R. **; Mendes, M. A. P. *; Brunini, T. M. C.; Mendes-Ribeiro, A. C. Farmacologia e Psicobiologia UERJ

Objetivo:

O óxido nítrico (NO) é um importante modulador da função endotelial e plaquetária. O NO é produzido a partir do aminoácido catiônico L-arginina, sob ação da enzima NO sintase (NOS). Os análogos endógenos da L-arginina assimétrico dimetilarginina (ADMA), monometilarginina (L-NMMA), poderiam participar da fisiopatologia da hipertensão arterial¹. Nosso grupo demonstrou previamente que esses análogos inibem o transporte da L-arginina mais eficazmente em plaquetas, de pacientes hipertensos². O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito dos análogos endógenos e exógenos na atividade da NOS, em plaquetas de pacientes hipertensos.

Métodos e Resultados:

Métodos e resultados: 6 pacientes com hipertensão essencial no estágio 1 e 7 normotensos pareados por idade participaram deste estudo (48 ± 1 vs 38 ± 2). As plaquetas foram isoladas e incubadas com L-[H³]-arginina na presença de L- Leucina e dos análogos ADMA, L-NMMA, L-NA e Aminoguanidina e a. A atividade da NOS foi quantificada através da conversão da L-[H³]-arginina em L-[H³]-citrulina (pmol/l 10^8 cels).

Nossos achados demonstram que a produção basal de L-citrulina está dramaticamente reduzida em pacientes hipertensos ($0,2 \pm 0,04$) comparados com controle ($0,38 \pm 0,09$). Em pacientes normotensos, o amino ácido neutro, L-leucina inibiu a atividade da NOS 87%, o L-NMMA, 84%, o ADMA 84%, o L-NA 76% e a Aminoguanidina 21%. Nos pacientes hipertensos, a L-leucina inibiu 75%, o L-NMMA 85%, o ADMA 90%, o L-NA 20% e não houve inibição com a presença de Aminoguanidina.

Conclusões:

Conclusão: O presente estudo comprova que os análogos endógenos de L-arginina, ADMA e L-NMMA inibem a atividade da NOS em plaquetas, mais eficazmente que os análogos exógenos. Interessantemente, o aminoácido neutro L-leucina, que compete pelo transporte de L-arginina, reduziu a síntese de L-citrulina evidenciando a importância do transporte na produção de NO em plaquetas.

1. Matsuoka et al. Hypertension 1997, 29:242.

2. Brunini et al. Clin Exp Pharm Physiol 2004, 31 : 738-740.

Apoio Financeiro : Welcome Trust

35.022

MODULAÇÃO FUNCIONAL DA BARREIRA EPITELIAL INTESTINAL INDUZIDA PELA ENTEROTOXINA A DO *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* EM CÉLULAS CACO-2. ¹Braga, A. B. C.; ¹Maciel, A. A. F. **; ¹Braga-Neto, M. B. *; ¹Barbosa Jr., M. S. **; ²Oriá, R. B.; ¹Lima, A. A. M. ¹Fisiologia e Farmacologia UFC; ²Centro de Ciências da Saúde UNIFOR

Objetivo:

A barreira funcional epitelial intestinal (BFEI) é regulada por proteínas formadoras de junções firmes (zônula ocludina e ocludina) e moléculas de adesinas (E-caderina e β -catenina). A modulação funcional da BFEI por enterotoxinas bacterianas e fatores tróficos intestinais ainda é pouco conhecido. Este trabalho avalia a medida funcional da BFEI utilizando marcadores moleculares de lactulose (L; M.W.=342) e manitol (M; M.W.=182).

Métodos e Resultados:

Foram utilizadas células intestinais Caco-2, na passagem 30-40. As células foram mantidas a 37°C em Dulbecco's modified Eagle's medium, numa atmosfera de 5% de CO₂. Atingida a confluência, as células foram tripsinizadas e semeadas em placas contendo 12 poços com filtros cobertos por colágeno, mantendo-se 2 poços sem células. Foi adicionado o mesmo meio de cultura na porção apical (0,4 ml) e basal (1,0 ml) de cada poço. A resistência elétrica transepitelial (TER) foi medida utilizando *Millicel Electrical Resistance System* colocando eletrodos separados na região apical e basal dos poços. Marcadores moleculares (L e M) foram adicionados na região apical e amostras coletadas da região basal dos poços. As amostras para medidas de L e M foram analisadas em cromatografia líquida de alta pressão (HPLC-PAD). Mediu-se a TER dos poços a cada 24 horas e a confluência (TER $\geq 180 \Omega$) foi atingida no tempo de 48 hs. Foi adicionado PBS (10 μ l) ou toxina A (TxA; 0.1 μ g/ml) na região apical dos poços. TxA reduziu a TER ($22 \pm 1,1$ vs. $44 \pm 1,5$

Ωcm^2 ; $p < 0.05$) após 3 hs de incubação em relação ao controle (PBS). TxA aumentou a permeabilidade ao M (82 ± 7 vs. $60 \pm 4\%$; $p = 0.033$) e L (80 ± 7 vs. 58 ± 3 ; $p = 0.023$).

Conclusões:

Estes resultados mostram que a TxA causa lesão da barreira epitelial intestinal conforme medido através da resistência transepitelial e dos marcadores moleculares de lactulose e manitol. Os dados validam o modelo *in vitro* para medida funcional da barreira epitelial intestinal com os marcadores de lactulose e manitol.

35.023

POSSIBLE PROTECTIVE EFFECTS OF ATORVASTATIN IN A MICE MODEL OF MALARIA. Montenegro, F. M.; Spiller, F. **; Romão, P. R. T; Tanus-Santos, J. E. Farmacologia FMRP-USP

Objetivo:

Malaria is a common health problem affecting many developing countries. A major consequence of Plasmodium infection is hemolysis, thus leading to hemoglobin decompartmentalization and disruption of nitric oxide (NO) mediated protection of the cardiovascular system. Treatment with atorvastatin, however, has been shown to restore NO bioavailability in many diseases. Here we addressed the possible protective effects of atorvastatin in a mice model of malaria.

Métodos e Resultados:

Balb/c mice received either water (C group; N=15) or Atorvastatin (10 mg/kg, P.O.; A group; N=12) for 3 days and then were infected with Plasmodium yoelii and parasitemia (% of red cells infected) was measured 3 and 4 days after infection.

While no significant differences were found in parasitemia on day 3 after infection ($45 \pm 12\%$, and $45 \pm 12\%$ in C group and A group, respectively; $P = \text{NS}$), lower parasitemia was seen on day 4 after infection in group A compared with group C ($62 \pm 7\%$, and $69 \pm 13\%$ in A group and C group, respectively; $P = 0.013$). In addition, while the survival rate on day 5 was 100% in group A and 40% in group C, no significant differences were found on day 6 (33% and 13%, respectively in group A and group C; $P = \text{NS}$).

Conclusões:

Our results suggest that atorvastatin may delay the increase in parasitemia after infection with Plasmodium, thus suggesting a possible protective effect of atorvastatin during malaria.

35.024

CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-TUMORAL DOS COMPOSTOS NITROSILOS DE RUTÊNIO LIBERADORES DE NO. ¹Barbugli, P. A; ²Lunardi C. N; ²Bendhack, L. M; ⁴Silva, R. S; ¹Espreáfico, E. M. ¹Biologia Celular e Molecular FMRP-USP; ²Farmacologia FCFRP; ³Química Analítica FCFRP

Objetivo:

Caracterização da atividade anti-tumoral e caracterização do mecanismo de ação dos compostos de rutênio no processo de morte celular, através da liberação de NO em células de melanoma. Três compostos de rutênio serão usados neste projeto que se encontra em fase inicial de execução: $15\text{ANE}(\text{trans}[\text{RuCl}([\text{15}\text{aneN4})\text{NO}]_2^+)$ que libera NO sob fotoestimulação em luz UV; $\text{cis}[\text{RuCl}(\text{bpy})_2\text{NO}]^+$ liberador de NO sob fotoestimulação em luz visível e $\text{cis}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{pz})(\text{NO})]$ que libera NO no citosol sem a necessidade de fotoestimulação.

Métodos e Resultados:

Foi realizada uma curva dose-resposta, sem fotoestimulação, com as células de melanoma murino (B16-F10) na presença de diferentes concentrações da droga $15\text{ANE}(\text{trans}[\text{RuCl}([\text{15}\text{aneN4})\text{NO}]_2^+)$. A metodologia empregada para verificar a viabilidade celular: ensaio colorimétrico MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)2,5-difeniltetrazolio brometo] para detecção do crescimento celular / morte celular, de acordo com a capacidade da mitocôndria em converter o sal MTT em produto corado medido espectrofotometricamente. O ensaio foi realizado em microplacas de 96 wells nas seguintes concentrações da droga: $0\mu\text{M}$ (controle), $10\mu\text{M}$, $25\mu\text{M}$, $50\mu\text{M}$, $100\mu\text{M}$, $200\mu\text{M}$, $400\mu\text{M}$, $600\mu\text{M}$ e $800\mu\text{M}$, sendo $n=12$ e a leitura foi realizada em leitor de Elisa com filtro de 560nm e 690nm. Os resultados mostram que a morte celular é diretamente proporcional ao aumento da concentração da droga. O ensaio apresentou ótima reprodutibilidade e a porcentagem de viabilidade celular variou de 44.2% na concentração de $800\mu\text{M}$ até quase 100% nas concentrações de $25\mu\text{M}$ e $10\mu\text{M}$. Este estudo

será realizado em linhagens celulares de melanoma humano e com outras linhagens tumorais e não tumorais para avaliação do espectro de ação dessas drogas.

Conclusões:

Neste ensaio encontramos as concentrações não tóxicas da droga no escuro (25µM e 10µM) para verificarmos se estas concentrações, sob fotoestimulação, promovem a morte celular e por qual mecanismo de ação.

35.025

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE METILPREDNISOLONA NA HIDRÓLISE DE NUCLEOTÍDEOS EM SORO DE RATOS. ¹Torres, I. L. S.; ²Fürstenau, C. R.**; ³Rossi, G.*; ⁴Dallegrave, E.; ⁴Dantas, G.**; ³Dallegrave, G. J.*; ⁵Stenzel, B.*; ²Battastini, A. M. O.; ²Sarkis, J. J. F.; ⁴Ferreira, M. B. C.; ¹Farmacologia UNIVATES; ²Bioquímica ICBS-UFRGS; ³Medicina UFRGS; ⁴Farmacologia ICBS-UFRGS; ⁵Faculdade Veterinária, UFRGS

Objetivo:

Embora uso terapêutico de corticóides associe-se ao surgimento de efeitos adversos importantes, suas propriedades antiinflamatória e imunossupressora são indiscutíveis. A hidrólise de nucleotídeos tem sido relacionada com grande número de processos fisiológicos. No presente estudo, investigou-se o efeito das administrações crônica e aguda de metilprednisolona sobre as atividades ATPásica-ADPásica e de 5'-nucleotidase em soro de ratos.

Métodos e Resultados:

Empregaram-se ratos Wistar adultos machos. No tratamento crônico, o grupo controle (n=7) recebeu água (v.o.), enquanto o grupo tratado (n=8) recebeu 5 mg/kg de metilprednisolona (v.o.), por 30 dias. No tratamento agudo, o grupo controle (n=7) recebeu veículo (i.p.), enquanto o grupo tratado (n=8) recebeu 50 mg/kg de metilprednisolona (i.p.). Os animais foram mortos por decapitação e o sangue coletado do tronco. O soro foi incubado em condições de linearidade de reação com os substratos ATP, ADP e AMP, sendo medido o Pi liberado. Os dados foram expressos como média±EPM da atividade específica (nmoles de Pi/min/mg de proteína). No soro de animais tratados cronicamente com metilprednisolona houve redução na hidrólise de ATP (controle: 1,75±0,10; tratado: 0,76±0,12; Teste *t*, *P*=0,001), ADP (controle: 1,87±0,18; tratado: 1,00±0,13; Teste *t*, *P*=0,003) e AMP (controle: 1,69±0,21; tratado: 0,82±0,05; Teste *t*, *P*=0,008). Com o uso agudo, houve redução na hidrólise de ADP (controle: 0,85±0,08; tratado: 0,55±0,08; Teste *t*, *P*<0,05).

Conclusões:

Sugere-se que os efeitos observados representem adaptação da atividade enzimática à presença do fármaco, refletindo diferentes funções de nucleotídeos e/ou enzimas. Além disto, a alteração da atividade das enzimas solúveis pode estar envolvida no aparecimento de efeitos adversos a corticóides.

35.026

ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE (ENOS) HAPLOTYPES BUT NOT GENOTYPES AFFECT CIRCULATING NITRATE/NITRATE (NOX) CONCENTRATIONS. Metzger, I. F.; Souza-Costa, D. C.**; Nagasaki, S.**; Marroni, A. S.**; Tanus-Santos, J. E. Farmacologia FMRP-USP

Objetivo:

Controversy exists regarding the possible effects of polymorphisms in eNOS gene on NO_x plasma levels. A possible explanation is that previous studies took into consideration only one polymorphism, instead of combinations of polymorphisms. In this study we compared the distribution of haplotypes involving three relevant eNOS polymorphisms (T-786C in the promoter region; 4b/4a in Intron 4, and Glu298Asp in Exon 7) in healthy subjects with low and high circulating NO_x levels.

Métodos e Resultados:

We studied 154 healthy subjects (fasting, white, males, non-smokers, 18-60 years of age, and not taking any medication). Genomic DNA was isolated from blood samples and genotypes were determined by PCR and restriction fragment length digestion. Circulating NO_x was determined by chemiluminescence. Haplotypes frequencies were compared in two groups of subjects: those with the 30 lowest NO_x levels (group L) and those with the 30 highest NO_x levels (group H).

NOx levels in group L and H were $24.2 \pm 4.5 \mu\text{M}$ and $80.9 \pm 8.9 \mu\text{M}$, respectively. Genotypes frequencies for the three polymorphisms were not different when the two groups were compared (all $P > 0.05$). However, the haplotype including the alleles C (promoter), 4b (intron 4), and Glu (exon 7) was significantly (P corrected for multiple comparisons = 0.0047) more common in group L (16%) than in group H (4%). No other significant differences were found in the frequencies of the remaining haplotypes.

Conclusões: Our results suggest that, while genotypes do not affect circulating NOx levels, haplotypes analysis provides more reliable information regarding the influences of eNOS polymorphisms on nitric oxide bioavailability, as assessed by circulating NOx. Our results indicate that the specific combination of alleles C, 4b, and Glu impairs NO bioavailability.

35.027

VALIDATED HPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF LASSBIO-579 IN RAT PLASMA.

¹Conrado, D. J. ^{**}; ¹Barpe, D. R. ^{*}; ²Menegatti, R. ^{**}; ²Fraga, C. A. M.; ²Barreiro, E. J.; ¹Rates, S. M. K.; ¹Dalla Costa, T. ¹Farmácia, UFRGS; ²Lassbio FF-UFRJ

Objetivo:

The search for more efficient dopaminergic drugs lead to the syntheses of different compounds by molecular hybridization of clozapine and L-741. One of the structures obtained was LASSBio-579 (1-[1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-4-ilmetil]-4-fenil-piperazina), which showed an inhibitory effect on dopaminergic behavior, on the basis of the results of catalepsy and blockade amphetamine-induced stereotypy. Aiming the pharmacokinetic evaluation of the compound, a high performance liquid chromatography (HPLC) method was developed and validated for the determination of LASSBio-579 in rat plasma using ketoconazole as internal standard (I.S.).

Métodos e Resultados:

Analysis was performed on a Shimadzu HPLC system using a Shimadzu C18 column and isocratic elution with 20 mM sodium dihydrogen phosphate monohydrate – methanol (20:80, v/v, $\text{pH}_{\text{apparent}}$ 8.8) at a flow of 1.0 mL/min. A photodiode array detector was used at 247 nm. Plasma samples were deproteinized with acetonitrile (1:2) and 150 μL of the supernatant was injected into the system. The retention times of LASSBio-579 and I.S. were approximately 5.5 and 6.5 min, respectively. Calibration curves in spiked plasma were linear over the concentration range of 0.30–8.0 $\mu\text{g/mL}$ with determination coefficient > 0.99 . The limit of quantification was 0.30 $\mu\text{g/mL}$. The accuracy of method was $> 90\%$. Intra- and inter-day relative standard deviations were less than 12%. The applicability of the HPLC method for pharmacokinetic studies was tested using plasma samples obtained after administration of LASSBio-579 intravenously (10 mg/kg) to male Wistar rats ($n = 3$). Blood samples were collected by lateral tail vein up to 10 h and plasma was processed as described. No interference from endogenous substances or metabolites was observed, showing the specificity of the method developed.

Conclusões:

The HPLC method for the determination of LASSBio-579 was validated according to FDA criteria and it was successfully employed in pre-clinical pharmacokinetic study in rats.

35.028

THE EFFECT OF PHOSPHORAMIDIC ACID DERIVED IN THE *IN VITRO* REPLICATION OF

HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE-1. ¹Fogel, T.; ¹Costa, M. N. ^{*}; ²Macedo, W. P. ^{**}; ²Souza, M. C.; ¹Frugulhetti, I.C.P.P; ¹Biologia Celular e Molecular UFF; ²Química Orgânica UFF

Objetivo: Herpes simplex virus type-1 (HSV-1) is an enveloped DNA virus, which causes a variety of infections in humans. There are two different classes of clinically used anti-HSV drugs: the nucleosid analogs (acyclovir, valacyclovir, famcyclovir, adenine arabinoside) and DNA polymerase inhibitors (Foscovir and phosphonoacetate). However, because of the mutations in thymidine kinase and DNA polymerase, resistant strains of HSV against the current antiviral drugs occurred. With the emergence of these drug-resistant strain of HSV, new antiviral agents, especially those with a different mode of action than acyclovir, are urgent needed. The aim of the present work was to evaluate the cytotoxicity of mono-phosphoramides compounds and its potential anti-herpes simplex virus type 1 properties. It was showed that organophosphorus compounds derived from phosphoramidic acid in association with heterocycle systems and nucleosides have antiviral action. Thus, we investigated the effect of news monophosphoramides in the *in vitro* replication of HSV-1.

Métodos e Resultados: Vero cells were infected with an ACV resistant strain of HSV-1 in the presence or absence of these organophosphorus by using a cytopathic effect (CPE) reduction assay. The cytotoxicity (CC_{50}) was investigated in Vero cells by Trypan blue dye exclusion method.

Conclusões:

The results showed that some drugs inhibit HSV-1 cytopathic effect up to 90% at concentration of $50\mu\text{M}$. Cytotoxicity concentrations (CC_{50}) ranging from $700\mu\text{M}$ to $1500\mu\text{M}$ of these organophosphorus had no significant effects on the viability of Vero cells. These results may provide some important information for future design of antiviral drugs. Further, assays will be performed to evaluate the mechanism of action of the compounds in the *in vitro* replication of HSV-1.

35.029

PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS OF A NITRIC OXIDE-RELEASING DERIVATIVE OF ENALAPRIL IN MALE CONSCIOUS BEAGLES. ¹Okuyama, C. E.; ¹Mendes, G. D.; ²Rezende, V. M.; ¹Lagos, R. M.; ²Barrientos-Astigarraga, R. E.; ¹de Nucci, G. ¹Farmacologia, UNICAMP; ²Ciências Biomédicas USP

Objetivo:

Enalapril, a nonsulphydryl angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor, is a prodrug which has been used in the treatment of essential hypertension, congestive heart failure, myocardial infarction and diabetic nephropathy. The addition of an exogenous NO donor could improve the pharmacological activity of the drug. Then, this study investigates the pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters of a nitric oxide-releasing derivative of enalapril (NCX 899) in beagles.

Métodos e Resultados:

The dogs received both nitro-enalapril (2.42 mg/kg, i.v., n=5) and enalapril maleate (2 mg/kg, i.v., n=5). The plasma concentrations of the analytes and their metabolites were quantified by reversed phase liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS-MS). Additionally ECA inhibitory activity was tested by fluorimetry in dog serum.

The nitro-enalapril group had values for the area under curve (AUC_{0-24h}) of 23.15 ± 10.64 , 201.28 ± 21.57 and 5313 ± 544.05 $\mu\text{gh/l}$ for nitro-enalapril, enalapril and enalaprilat, respectively. The enalapril maleate group had values for AUC_{0-24h} of 553.0 ± 156.1 and 4551.19 ± 965.2 $\mu\text{gh/l}$ for enalapril and enalaprilat, respectively. The analysis did not show any significant difference of the enalaprilat values for AUC_{0-24h} for both drugs. Nitro-enalapril was as effective as enalapril maleate in inhibiting the angiotensin-converting enzyme, as assessed *ex-vivo* in dog serum.

Conclusões:

Our results showed that NCX 899 could act in the modulation of the arterial hypertension. This new compound presents an interesting therapeutic potential as showed in the ACE inhibitory activity in dog serum, indicating a therapeutic effect due to its potential nitric oxide-releasing properties.

35.030

INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA REDUZEM TRANSPORTE INTESTINAL DE ÍONS EM CAMUNDONGOS. ¹Aguiar, C. V.; ¹Nunes-Monteiro, S. M.; ¹Monteiro, M. C. S. A.; ²Oriá, R. B.; ¹Puster, R. A.; ¹Maciel, J. G.; ¹Brito, G. A. C.; ¹Lima, A. A. M. ¹Fisiologia e Farmacologia DFF-UFC; ²Centro de Ciências da Saúde UNIFOR

Objetivo: Um dos efeitos colaterais dos inibidores de transcriptase reversa (INTR) é a diarreia Kartalija et al (1999) encontrou, em estudos clínicos, uma frequência de diarreia de 28% em pacientes tratados com Zidovudina (AZT) e de 12% em pacientes tratados com (DDI). Objetivou-se, então, analisar a secreção iônica e a absorção de água no intestino de camundongos tratados com INTR.

Métodos e Resultados: Camundongos Swiss, machos (35-40g), foram tratados por sete dias com AZT (50mg/kg/dia), DDI (100mg/kg/dia), ou PBS (0,25ml/dia), via gavagem. Utilizou-se protocolo de perfusão intestinal (n=6/grupo). Segmentos de 15cm do íleo eram perfundidos com solução de Ringer, sendo coletado o perfusato a cada 15 min (total de 75 min) para análise de secreção de Na^+ , K^+ , Cl^- e balanço de água. AZT apresentou aumento significativo da secreção de Na^+ ($-44,44 \pm 1,32$ $\mu\text{Eq/min/g}$ vs. $-21,9 \pm 0,77$ $\mu\text{Eq/min/g}$, $p < 0,001$) e da secreção de Cl^- ($-43,41 \pm 2,32$ $\mu\text{Eq/min/g}$ vs. $-31,7 \pm 2,14$ $\mu\text{Eq/min/g}$ $p < 0,05$). Houve redução na secreção de K^+ ($-0,225 \pm 0,041$ $\mu\text{Eq/min/g}$ vs. $-1,456 \pm 0,023$ $\mu\text{Eq/min/g}$, $p < 0,001$). Não houve alteração no balanço de água (-

0,049 ± 0,004 ml/min/g vs. -0,023 ± 0,004 ml/min/g, p>0,05). DDI apresentou aumento na secreção de Na⁺ (-32,34 ± 0,7971 μEq/min/g vs. -21,9 ± 0,77 μEq/min/g, p< 0,001) e de K⁺ (-1,841 ± 0,0205 μEq/min/g vs. -1,456 ± 0,023 μEq/min/g, p<0,001), sem aumento na secreção de Cl⁻ (-35,60 ± 4,492 μEq/min/g vs. -31,7 ± 2,14 μEq/min/g p>0,05) e sem alteração no balanço de água (-0,0406 ± 0,0052 ml/min/g vs. -0,0227 ± 0,00434 ml/min/g, p>0,05).

Conclusões:

Estes dados mostram secreção intestinal de íons induzida por antiretrovirais Inibidores de Transcriptase Reversa.

35.031

DEPURAÇÃO PLASMÁTICA E AÇÃO ANTI-NEOPLÁSICA DE UMA MICRO-EMULSÃO CONTENDO 7-CETOCOLESTEROL (LDE/7KC) EM CAMUNDONGOS IMPLANTADOS COM MELANOMA. ¹Favero, G. M.; ²Maria, D. A.; ³Otake, A. H.; ⁴Maranhão, R. C.; ¹Bydlowski, S. P.; ¹Clínica Médica FMUSP; ²Bioquímica Instituto Butantan; ³ Oncologia Experimental FMUSP; ⁴ Lípidos, InCor-HC-FMUSP

Objetivo:

Oxisteróis, incluindo 7KC, têm a capacidade de inibir o crescimento e viabilidade celular. Em trabalho anterior avaliou-se o uso de uma emulsão lipídica (LDE), conhecida por interiorizar quimioterápicos em células tumorais, através de receptores apo B/E, com 7KC a ela incorporada (complexo LDE/7KC), LDE/7KC demonstrou efeito anti-proliferativo sobre a linhagem de melanoma (B16F10) caracterizado por: (i) indução de morte celular em uma pequena fração das células tratadas, por processo marcado pela hiperpolarização do potencial transmembranar mitocondrial e aparecimento de figuras de mielina (apoptose e autofagia); (ii) alterações de citoesqueleto associadas à poliploidia, sugerindo inibição da citocinese. Neste projeto, avaliou-se a cinética plasmática, bio-distribuição e a ação anti-neoplásica de LDE/7KC no modelo de melanoma murino B16F10.

Métodos e Resultados:

A depuração plasmática e a bio-distribuição foram realizados em camundongos C57/bl6/6J com 40 dias de vida; 3mg de LDE/7KC marcada com 7-KC H³ e ¹⁴C colesterol livre foram injetados na veia do plexo retro-orbital dos animais com coleta de sangue e sacrifício dos animais após 5, 15, 30, 60 e 240 minutos, seguido da retirada da pele e demais órgãos internos. Os órgãos foram pesados e realizada extração lipídica com posterior ressuspensão e análise dos isótopos em contador beta. Os resultados demonstraram diminuição progressiva da radioatividade no plasma e um acúmulo de isótopos no fígado, rim/supra-renal e intestino. 5x10⁴ células de melanoma (B16F10) foram implantadas na tela subcutânea do dorso do animal; após 20 dias iniciou-se os diferentes tratamentos com LDE/7KC em dose única. Na dose 20mg/Kg de 7-KC emulsionado o tumor teve um menor crescimento e os animais maior taxa de sobrevivida.

Conclusões:

A cinética e a bio-distribuição demonstraram um comportamento semelhante de LDE/7KC à LDL, com acúmulo em órgão com maior expressão de receptores para LDL (apoB/E). A partícula também apresentou atividade anti-neoplásica, objeto de futuros estudos.

35.032

ANTIRETROVIRAIS INIBIDORES DE PROTEASE ALTERAM A BARREIRA MORFOFUNCIONAL INTESTINAL EM CAMUNDONGOS. Aguiar, C. V.; Puster, R. A.; Maciel, J. G.; Nunes-Monteiro, S. M.; Monteiro, M. C. S. A.; Oriá, R. B.; Brito, G. A. C; Lima, A. A. M. Fisiologia e Farmacologia, UFC

Objetivo: Diarréia crônica surge como efeito colateral de antiretrovirais, por mecanismos ainda não elucidados. Objetivou-se, então, avaliar alterações morfofuncionais intestinais em camundongos tratados com os Inibidores de Protease Nelfinavir (NEL) e Indinavir (IND).

Métodos e Resultados: Camundongos *Swiss*, machos (35-40g), foram tratados por 7 dias com NEL 100mg/kg/dia, IND 100mg/kg/dia ou PBS 0,25ml/dia, via gavagem. Utilizou-se protocolos de análise morfométrica (n=6/grupo), avaliação de permeabilidade intestinal (n=18/grupo) pelo teste de lactulose e manitol (L/M) e perfusão intestinal (n=6/grupo) para estudo de absorção de Na⁺, Cl⁻ e água. NEL apresentou redução no comprimento de vilos em duodeno (294,3±9,92 vs. 408,5±8,64μm) e jejuno (289,5±7,75 vs. 357,5±10,6μm) e redução de criptas em intestino médio (91,75±2,68 vs. 112,3±4,35 μm) e íleo (100±3,69 vs. 121,5±5,77μm). IND mostrou redução do

comprimento de vilos em duodeno (292,5±10,12 vs. 408,5±8,64 µm), jejuno (251,8±7,29 vs. 357,5±10,6µm), intestino médio (190,4±4,17 vs. 239,8±5,68µm) e íleo (195,9±3,13 vs. 221,8±6,32µm), além de aumento de criptas em duodeno (100±3,69 vs. 121,5±4,22µm) e redução de criptas em intestino médio (86,86±2,22 vs. 112,3±4,35µm) e íleo (89,43±2,05 vs. 121,5±5,77µm). NEL causa maior excreção urinária de manitol (7,90±1,22 vs. 3,21±0,76%) e lactulose (5,32±0,52 vs. 1,44±0,28%), sem alterar a taxa L/M. Não houve alteração de permeabilidade intestinal em IND. NEL e IND mostraram respectivamente maior secreção de Na⁺ (-58,5±1,48 e -43,25±1,87 vs. -21,9±0,77µEq/min/g), Cl⁻ (-69,33±3,2 e -43,27±2,31 vs. -31,7±2,14 µEq/min/g) e água (-59±9 e -49±7 vs. -23±9 µl/min/g).

Conclusões:

Estes resultados mostram que os Inibidores de Protease reduzem os vilos e criptas intestinais alterando a barreira morfofuncional intestinal, resultando na secreção de íons e água no intestino.

35.033

CHARACTERIZATION OF PROTEIC FRACTION FROM THE CROTOXIN RESPONSIBLE FOR PLATELET AGGREGATION. Fonseca, F. V. Bioquímica IB-UNICAMP

Objetivo:

Crotoxin has been characterized as micro-heterogeneous mixture of protein accounting mainly by PLA₂ and Crotopotin and other compounds, this toxins is responsible for several and important biological effect that includes myotoxicity, nephrotoxicity, neurotoxicity and recently antibacterial and platelet aggregating. But the platelet aggregation induced by crotoxin is not completely understood and some points remain unclear. The aims this work was isolated and characterized the protein fraction responsible for this effect

Métodos e Resultados:

Crotoxin was isolated from the *Crotalus durissus cascavella* venom by molecular exclusion HPLC and the protein of crotoxin were purified by RP-HPLC. In this conditions we purified a new thrombin-like protein F202 that confirmed as a new serine protease by enzymatic assay for serine protease, SDS-PAGE, N-terminal sequencing. This protein showed a molecular mass of 28kDa and its N-terminal (VVGDECNINEHKFLVALYANSSLY...) showed high amino acid sequence similarities with other thrombin like. Neither PLA₂ nor crotopotin did not induce the platelet aggregation. But F202 induced a dose response aggregating effect and its activity was inhibited strongly by TLKC (N-tosyl-L-lysine-chloromethyl ketone).

Conclusões:

The platelet aggregation induced by crotoxin did not involve PLA₂ or Crotopotin but a new protein named as F202, which was characterized as typical serine protease similar to thrombin-like.

35.034

CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE PROPOFOL E A RESPOSTA FARMACODINÂMICA DURANTE CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA. ¹Kondo, R. T. O.; ¹da Silva Filho, C. R.*; ¹Pereira, V. A.; ²Santos, S. R. C. J.; ³Carmona, M. J. C.; ³Auler Jr., J. O. C.; ¹Farmácia USP; ²FCF-USP; ³Anestesiologia, HC-FMUSP

Objetivo: O propofol, agente hipnótico não barbitúrico, é amplamente utilizado na anestesia geral em cirurgias de grande porte sendo administrado através de infusão contínua alvo-controlada. O objetivo do trabalho foi investigar através da modelagem PK-PD) as concentrações do propofol plasmático e o grau de profundidade de anestesia medido pelo índice bispectral (BIS).

Métodos e Resultados:

Os 20 pacientes com indicação de revascularização do miocárdio (RM) selecionados assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, e foram divididos nos grupos, CEC e CONTROLE. Ambos receberam infusão alvo-controlada (alvo de 2 mcg/mL) durante a cirurgia e na finalização reduziu-se a infusão do hipnótico (1 mcg/mL) no preparo para o desmame e despertar do paciente. Característica dos grupos: 1 (F) /9 (M) e 4 (F) /6(M), 62,9 ± 7,6 anos e 68,6 ± 7,0 anos de idade, media/DP, CEC e CONTROLE, respectivamente.

Quantificou-se o propofol através de CLAE e utilizaram-se os softwares Microsoft Excel 97 e GraphPad Prism 3.0 na modelagem plotando-se os dados de concentração plasmática de propofol/C vs BIS/E (variação percentual efeito relativamente ao basal). O modelo do EMAX sigmóide slope variável foi escolhido pela alta correlação E vs C (r²>0,95).

MODELAGEM PK-PD, parâmetros:

A análise dos resultados permitiu verificar que a CEC prolonga o tempo de hipnose, aumentando o tempo de despertar dos pacientes; entretanto não altera o grau de profundidade de anestesia.

Conclusões: Com base nos resultados obtidos podemos concluir que a CEC altera a farmacodinâmica, provavelmente em decorrência da alteração da afinidade (fármaco-receptor).

35.035

MODELAGEM FARMACOCINÉTICA DO ATENOLOL EM PACIENTES COM INSUFICIÊNCIA CORONARIANA GRAVE SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA DE REVASCULARIZAÇÃO COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA. ¹Leite, F. S. ²; ¹Pereira, V. A.; ¹Chignalia, A. ³; ³Santos, S. R. C. J.; ³Carmona, M. J. C.; ³Auler Jr., J. O. C.; ¹Análises Clínicas e Toxicológicas e Farmácia USP; ²FCF-USP; ³Anestesiologia, HCFMUSP

Objetivo: A administração profilática do beta-bloqueador hidrofílico atenolol, previne a isquemia miocárdica, reduzindo os riscos de complicações cardiovasculares e o índice de óbito no perioperatório. A circulação extracorpórea (CEC) empregada durante a cirurgia, pode alterar a cinética de fármacos. Esse estudo investigou a farmacocinética do atenolol em pacientes com insuficiência coronariana grave submetidos à cirurgia cardíaca com CEC.

Métodos e Resultados:

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo CEP do hospital. Oito pacientes com função renal normal, portadores de angina instável e submetidos a revascularização do miocárdio (RM) foram investigados. Administraram-se doses empíricas do atenolol PO (25 a 100 mg/dia), para a garantia do beta-bloqueio no pré, e após a extubação, no pós-operatório tardio. Treze amostras sanguíneas foram coletadas após as doses pré e pós-operatória. A determinação do atenolol plasmático foi realizada através da cromatografia líquida de alta eficiência/fluorescência (CLAE-F). Empregou-se o modelo de um compartimento aberto para a estimativa da farmacocinética, *software* PK solutions 2.0. Para a análise estatística, utilizou-se o teste de Wilcoxon, Graphpad InStat 2.01. Os parâmetros estimados mostraram-se inalterados ($p < 0,05$), pela maior variabilidade no pós-operatório relativamente ao pré-operatório, sendo os resultados expressos através da mediana (IC95%): $t_{1/2} = 10,4$ (5,8 - 17,1) vs 11,7 (8,1 - 14,3) h; $Cl_T = 4,0$ (2,6 - 6,7) vs 3,2 (2,3 - 4,8) mL/min.kg e $V_d = 3,8$ (2,4 - 5,2) vs 3,0 (2,2 - 3,6) L/Kg; pós versus pré, respectivamente.

Conclusões: A disposição cinética do atenolol mostrou-se inalterada nos pacientes submetidos à cirurgia de RM com CEC, registrando-se maior variabilidade dos parâmetros cinéticos após a cirurgia cardíaca.

35.036

PHARMACOKINETIC-PHARMACODYNAMIC MODELING OF ORAL CLONAZEPAM IN HUMANS. ¹Santos, F. M. ²; ¹Parreiras G. E. S. ²; ²Gonçalves, J. S.; ³Caminha, R. C.; ⁴Gram, K. R. S. ²; ⁴Neves, C. S. M. ²; ¹Noël, F.; ¹Farmacologia Básica e Clínica ICB-UFRJ; ²Medicamentos UFRJ; ³Clínica Médica UFRJ-HUCFF; ⁴Farmácia, UFRJ

Objetivo: Benzodiazepines are extensively used as sedatives, hypnotics, anxiolytic and/or anticonvulsant. Pharmacokinetic and pharmacodynamic (PK/PD) modeling helps understanding the relationship between drug concentrations and pharmacodynamic effect of a drug. The aim of this work is to establish a PK/PD model for clonazepam, after a single oral administration in humans.

Métodos e Resultados: The study was a single-dose, open design where 22 healthy volunteers received a single oral dose of 4mg clonazepam tablets. Sixteen blood samples were collected during 72 hours post-dosing. After each sample withdrawal, the psychomotor performance was measured by using Digit Symbol Substitution Test (DSST) and Trail Making Test A and B (TMTA and TMTB). Subjects had previously been trained in three one-hour sessions during two weeks in order to avoid improvement in the psychomotor performance due to repeated tasks. Mean peak plasma concentration (C_{max}) of clonazepam, measured by HPLC-MS-MS, was 12,4 ng/mL and time to reach C_{max} was 2.5 hours. Maximum degree of performance inhibition (E_{max}) were 59% for DSST, 127% for TMTA and 117% for TMTB. The time to reach E_{max} was 2 hours for DSST and TMTB and 1.5 hours for TMTA. The plot of pharmacodynamic effect versus plasma concentration looks mostly like a clockwise hysteresis curve, with a slight inversion of the hysteresis at high concentrations.

Conclusões: The clockwise hysteresis is best interpreted by an acute tolerance. The slight inversion of the hysteresis at high concentrations could be accounted by a delay for equilibration between plasma and effect site (here, brain) compartments. Our study also shows that TMTA and TMTB, used in clinical practice for brain injury diagnosis, are sensible to a 4mg oral dose of clonazepam.

35.037

IMAGENS MAGNÉTICAS DA DESINTEGRAÇÃO DE COMPRIMIDOS NO ESTÔMAGO HUMANO. ¹Cora, L. A. ^{**}; ¹Andreis, U; ²Américo, M. F. ^{**}; ¹Miranda, J. R. A. ¹Física e Biofísica IB-UNESP-Botucatu; ²Fisiologia FMRP-USP

Objetivo: A liberação do princípio ativo contido em comprimidos ocorre através do processo de desintegração, que é a fragmentação da forma farmacêutica no trato gastrointestinal (TGI). A cintilografia é o método padrão para avaliar o processo *in vivo*. A Biosusceptometria AC (BAC) foi originalmente proposta para avaliar a desintegração de comprimidos e utiliza bobinas de indução para registrar a variação temporal do fluxo magnético, obtido pela resposta de um material magnético ingerido. O objetivo deste estudo foi caracterizar a desintegração dos comprimidos através das imagens magnéticas obtidas pela BAC.

Métodos e Resultados:

Nove voluntários em jejum participaram do estudo e ingeriram um comprimido, obtido por compressão direta de 1.0 g de ferrita misturada com 0.5 g de excipientes, revestidos por uma solução de polímero pH-dependente. Os sensores foram posicionados na superfície abdominal dos voluntários e os sinais adquiridos durante 15 min. A partir dos sinais magnéticos digitalizados, foram calculadas matrizes (256x256) em intervalos de 3 s, sendo este procedimento repetido a cada 30 s. Foram aplicadas rotinas para o processamento digital, implementadas em ambiente MatLab[®].

A desintegração é caracterizada pela transição de um marcador (MM) para um traçador magnético (TM). A transição do MM para o TM foi considerada ao calcular um aumento de 50% (t_{50}) na área imageada, sendo 1.11 ± 0.40 (média \pm DP) min.

Conclusões:

Devido à importância do TGI humano para a absorção de drogas, há um crescente interesse em avaliar formas farmacêuticas diante das variáveis fisiológicas e as técnicas de imagem são indispensáveis nestes estudos. A BAC mostrou acurácia ao monitorar os comprimidos e ao caracterizar o processo de desintegração. A BAC é uma técnica não-invasiva e livre de radiação, que poderá se consagrar como um método de imagem alternativo na pesquisa farmacêutica e fisiológica.

35.038

MICROMÉTODO PARA ANÁLISE SIMULTÂNEA DE FENITOINA, FENOBARBITAL E CARBAMAZEPINA EM PLASMA ATRAVÉS DE CLAE-UV. APLICAÇÃO NO MONITORAMENTO TERAPÊUTICO DE PACIENTES QUE NECESSITAM A ASSOCIAÇÃO NO CONTROLE DO GRANDE MAL EPILÉPTICO. ¹Sanches, C.; ²Machado, E. M.; ³Santos, S. R. C. J.; ¹Farmacologia USP; ²Farmácia, USP; ³FCF-USP

Objetivo: A associação da fenitoina, fenobarbital e carbamazepina é bastante comum na clínica neurológica de adultos e pediátrica. O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar metodologia analítica simples, seletiva e precisa para aplicação no controle terapêutico de pacientes portadores do grande mal que necessitam da associação desses fármacos no controle das crises.

Métodos e Resultados: Pacientes ambulatoriais do Centro de Saúde do Butantã foram monitorados no Centro de Controle Terapêutico do Departamento de Farmácia da FCF USP. O sangue foi coletado de veia periférica, centrifugado a 3000 rpm 30 min, o plasma separado e armazenado a -20° C. Utilizou-se a extração líquido-líquido com 2 mL de diclorometano após adição de fosfato monobásico de sódio (30 f μ moles) a 200 f μ L de plasma previamente a quantificação através de CLAE-UV. O extrato seco foi dissolvido e 20 μ L injetados no HPLC. A análise foi realizada em cromatógrafo líquido SHIMADZU LC-10A, coluna Nova Pack de 4 μ m, C18, 150x3,9mm, di. A fase móvel foi constituída por água e acetonitrila (70:30, v/v) em fluxo 0,4 mL/min. Os picos foram monitorados através de detector UV-VIS 210nm SHIMADZU SDP 10 AV, fne os picos integrados através de Chromatopac CR-6A-SHIMADZU. Diariamente, analisaram-se

8 calibradores, CQs (B, M, e A) além das amostras colhidas dos pacientes para controle terapêutico. Na análise foram considerados os parâmetros exigidos nas BPL, RE 899, maio 2003. Na seletividade ensaiaram-se plasmas icterico, lipêmico e hemolisado.

Conclusões: A metodologia analítica desenvolvida e validada evidenciou boa linearidade, sensibilidade, alta recuperação, precisão e exatidão, além de boa estabilidade e robustez adequada. Os pacientes recebendo a medicação distribuída no posto de saúde evidenciaram C^{SS} dentro das faixas terapêuticas recomendadas, estando prevista a monitorização de ajuste na insuficiência hepática, renal e na falha cardíaca.

35.039

QUANTIFICAÇÃO DE MILRINONA NO PLASMA ATRAVÉS DE CLAE-UV-VIS APLICAÇÃO NO CONTROLE TERAPÊUTICO DE PACIENTES QUE NECESSITAM DE AGENTES INOTRÓPICOS VASODILATADORES DURANTE A CIRURGIA CARDÍACA. ¹Sanches, C.; ²Santos, S. R. C. J.; ³Carmona, M. J. C.; ³Auler Jr., J. O. C. ¹Farmacologia USP; ²FCF-USP; ³Anestesiologia, HCFMUSP

Objetivo: A milrinona, inotrópico com atividade vasodilatadora é inibidor da fosfodiesterase administrado através de infusão na manutenção do paciente cirúrgico. O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar metodologia analítica simples, seletiva e precisa para aplicação no controle terapêutico de pacientes cirúrgicos.

Métodos e Resultados: Em adultos, a dose recomendada é de 50µg/kg em 10 min no ataque, e 0,375 a 0,75µg/min. na manutenção. Doze pacientes foram monitorados, e o sangue foi coletado de cateter venoso central na sala durante a cirurgia, centrifugado a 3000 rpm 30 min, o plasma separado e armazenado a -20o C. Utilizou-se a extração líquido-líquido (diclorometano) previamente a quantificação da milrinona plasmática. O extrato seco foi dissolvido e 20µL injetados no CLAE. A análise foi realizada em cromatógrafo líquido SHIMADZU LC-10A, coluna Nova Pack de 4 micron, C18, 150x3,9mm, di. A fase móvel foi constituída por água e acetonitrila (80:20,v/v) em fluxo 0,5 mL/min. Os picos foram monitorados através de detector UV-VIS SHIMADZU SDP 10 AV, λ 340nm e os picos integrados através de Chromatopac CR-6A-SHIMADZU. Diariamente, analisaram-se 8 calibradores, CQs (B, M, e A) além das amostras colhidas dos pacientes para controle terapêutico. Na análise foram considerados os parâmetros exigidos nas BPL, RE 899, maio 2003. Na seletividade ensaiaram-se plasmas icterico, lipêmico e hemolisado.

Conclusões: A metodologia analítica desenvolvida e validada evidenciou boa linearidade, sensibilidade, alta recuperação, precisão e exatidão, além de boa estabilidade e robustez adequada. Os pacientes recebendo infusão de 0,375 a 0,75µg/min evidenciaram CSS variando entre 100-300 ng/mL, estando prevista a monitorização de ajuste na insuficiência renal e na falha cardíaca.

35.040

ANTIRETROVIRAIS INIBIDORES DE TRANSCRIPTASE REVERSA ALTERAM A BARREIRA MORFOFUNCIONAL INTESTINAL EM CAMUNDONGOS. Aguiar, C. V.; Maciel, J. G.*; Puster, R. A.*; Nunes-Monteiro, S. M.; Monteiro, M. C. S. A.**; Brito, G. A. C.; Oriá, R. B.; Lima, A. A. M. Fisiologia e Farmacologia, UFC

Objetivo:

Diarréia crônica em pacientes HIV⁺/AIDS surge como efeito colateral de antiretrovirais, por mecanismos ainda não elucidados. Objetivou-se avaliar alterações morfofuncionais intestinais em camundongos tratados com os inibidores de transcriptase reversa (INTR) Zidovudina (AZT) e Didanosina (DDI).

Métodos e Resultados: Camundongos Swiss, machos (35-40g), foram tratados por sete dias com AZT (50mg/kg/dia), DDI (100mg/kg/dia), ou PBS (0,25ml/dia), via gavagem. Realizou-se avaliação de permeabilidade intestinal (n=18/grupo) pelo teste de lactulose e manitol (L/M) e análise morfométrica (n=6/grupo) para cálculo de comprimento de vilos e criptas. Não houve morbidade e mortalidade nos grupos estudados. Não se observou com AZT alterações nas taxas de excreção urinária de manitol (2,3±0,6 vs 3,01±0,58%), lactulose (0,91±0,25 vs. 1,33±0,25 %) e na razão L/M (0,72±0,08 vs. 0,52±0,07%). AZT causou redução do comprimento de vilos em duodeno (296,8±10,9 vs. 408,5±8,64µm) e jejuno (304,0±11,32 vs.357,5±10,6µm) e aumento do comprimento de criptas em duodeno (107,3±3,43 vs.87±3,84µm) e jejuno (118,5±4,38

vs. $97,25 \pm 3,72 \mu\text{m}$). A taxa de excreção urinária de manitol ($3,82 \pm 0,76$ vs $3,01 \pm 0,58\%$), lactulose ($1,63 \pm 0,42$ vs. $1,33 \pm 0,25\%$) e a razão L/M ($0,41 \pm 0,04$ vs. $0,52 \pm 0,07\%$) não foram alteradas com DDI. Observou-se neste composto redução do comprimento de vilos em duodeno ($287,8 \pm 9,8$ vs. $408,5 \pm 8,64 \mu\text{m}$) e jejuno ($277,3 \pm 8,62$ vs. $357,5 \pm 10,6 \mu\text{m}$) e redução de criptas em íleo ($91,33 \pm 2,49$ vs. $121,5 \pm 5,77 \mu\text{m}$).

Conclusões:

A redução do comprimento dos vilos em duodeno e jejuno de animais tratados com os INTR, AZT e DDI, sugere uma ação patológica na barreira funcional intestinal. A redução do comprimento de vilos acompanhada de um aumento da profundidade das criptas no grupo AZT sugere alteração na migração celular ou ainda lesão de vilos com hiperplasia compensatória de criptas no epitélio intestinal.

35.041

DESCRIÇÃO DE VALORES HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS DE VOLUNTÁRIOS SADIOS NA CIDADE DE FORTALEZA-CE. ¹Gomes, I. B. S.**; ¹Lima, V.**; ¹Bezerra, R. C. R.; ¹Lima, P. G. F.*; ¹Cavalcante, D. M.*; ¹Cavalcanti, P. P.**; ¹Bezerra, M. F.; ¹Frota Bezerra, F. A.**; ²Moraes, M. O.; ¹Moraes, M. E. A.; ¹Fisiologia e Farmacologia Unidade Farmacologia Clínica, UFC; ²Fisiologia e Farmacologia UFC

Objetivo: Parâmetros laboratoriais de referência são definidos utilizando-se critérios estatísticos para uma amostra aleatória de indivíduos, incluindo doadores de sangue, participantes de exames de admissão ou voluntários em ensaios clínicos. Sabe-se, no entanto, que os valores desses parâmetros podem variar em diferentes populações. O objetivo desse estudo consistiu em obter a variabilidade dos parâmetros hematológicos e bioquímicos da população de voluntários sadios da cidade de Fortaleza-CE.

Métodos e Resultados: Foram coletados dados nos prontuários de 1947 voluntários sadios, 1063 homens(H) e 884 mulheres(M), com idade média de 25,0 e 25,9 anos e IMC médio de 24,18 e 22,94kg/m², respectivamente, que participaram de ensaios clínicos na UNIFAC, no período de 1999 a 2003. Os resultados incluem % de hemoglobina(Hb) e hematócrito(Ht), n^o de eritrócitos, leucócitos(Leu) e plaquetas(Pl), e dosagens séricas (mg/dL) de glicose(G), triglicerídeos(TG), colesterol(Col) e creatinina(Cr), para ambos os sexos. As dosagens foram automatizadas. Os dados obtidos foram descritos como a média \pm 2DP para H e M, respectivamente: Hb= $15,32 \pm 1,7$ e $13,06 \pm 1,7$; Ht= $45,1 \pm 4,8$ e $39,1 \pm 4,7$; Eritrócitos($10^6/\text{mm}^3$)= $5,1 \pm 0,6$ e $4,4 \pm 0,6$; Leu(n^o/mm^3)= $6.634,1 \pm 2.844,2$ e $6.799,5 \pm 3117,1$ e Pl(n^o/mm^3) = $241.849,5 \pm 100.788,6$ e $260.148,5 \pm 113.414,4$; G= $85,5 \pm 14,7$ e $82,2 \pm 13,9$; TG= $101,4 \pm 83,8$ e $84,0 \pm 67,4$; Col= $161,9 \pm 56,1$ e $168,1 \pm 56,4$; e Cr= $0,9 \pm 0,3$.

Conclusões: Os achados sugerem que os valores de referência dos parâmetros investigados sejam redefinidos como aqueles incluídos no intervalo Média \pm 2DP, os quais correspondem aproximadamente a 95,8% da distribuição total dos valores de cada parâmetro. Ressalta-se que tais valores referem-se à população de adultos do Estado do Ceará, sendo de grande importância no desenvolvimento de futuros estudos epidemiológicos.

35.042

EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO NA PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO E FUNÇÃO PLAQUETÁRIA EM PACIENTES URÊMICOS. ¹Santorio, M. M.; ¹da Silva, C. D.**; ¹Brunini, T. M. C.; ¹Moss, M. B.**; ¹Siqueira, M. A. S.**; ²Santos, S.; ¹da Silva, H.**; ¹Mendes-Ribeiro, A. C. Farmacologia e Psicobiologia, UERJ; ²Nefrologia, UERJ

Objetivo:

Pacientes com insuficiência renal crônica (IRC) apresentam tendências pró, como aumento do fibrinogênio, e anti-trombóticas, como inibição da agregação plaquetária. Neste contexto, em pacientes com IRC a inibição da atividade da plaqueta é anti-trombótica e associada a um aumento da síntese de NO. A desnutrição é uma das mais importantes co-morbidades presentes em pacientes com IRC associada a um aumento na ocorrência de eventos cardiovasculares. Estudos prévios sugerem a existência de um aumento na atividade da via L-arginina – NO na uremia. O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito da desnutrição na produção de NO e função plaquetária em pacientes urêmicos.

Métodos e Resultados:

Participaram do estudo um total de 18 pacientes urêmicos em hemodiálise, sendo 8 desnutridos e 10 eutróficos, e 8 controles pareados por sexo e idade. Foram analisados a atividade da NO sintase (NOS), GMPc e agregação plaquetária em pacientes e controles. A medida da atividade da NOS plaquetária foi determinada pela conversão da L-[³H] arginina em L-[³H] citrulina. Os níveis intraplaquetários de GMPc foram medidos por ELISA (Kit Cayman). A agregação plaquetária foi induzida por colágeno (2 µg/ml) e monitorada por 5 minutos em um agregômetro Chrono-Log. A atividade basal da NOS (pmol/10⁸ cels) estava aumentada em pacientes eutróficos (0,38 ± 0,10), quando comparados com desnutridos (0,07 ± 0,01) e controles (0,17 ± 0,01). Os níveis intraplaquetários de cGMP (pmol/10⁸ cels) estavam elevados em pacientes eutróficos (0,50 ± 0,10), comparados com desnutridos (0,18 ± 0,02) e controles (0,17 ± 0,07). Além disso, houve uma redução da agregação plaquetária em resposta ao colágeno nos pacientes eutróficos (65,3 ± 4,87) em relação aos desnutridos (93,1 ± 3,41) e controles (85,5 ± 4,96).

Conclusões:

Nossos achados mostram, pela primeira vez, uma redução na agregação plaquetária presente em pacientes urêmicos eutróficos. A presença de uma produção de NO aumentada nesses pacientes poderia ser o mecanismo responsável pelo processo. Por outro lado, a ausência de ativação da produção de NO em urêmicos desnutridos poderia explicar a alta incidência de eventos trombóticos nesses pacientes.

35.043

ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS E HEMATOLÓGICAS APÓS A ADMINISTRAÇÃO DE ETANOL EM RATOS DURANTE A ADOLESCÊNCIA. ¹Naldinho, A. C. B.; ²Almeida, M.*; ²Bellot, R.; ²Cesaretti, M. L. R.; ¹Conceição, I. M.; ¹Freitas, T. A.**; ²Mahana, G. D.; ²Migliano, M. B.; ²Tomé, L. A.; ³Camarini, R.; ¹Farmacologia Instituto Butantan; ²Ciências Biomédicas UESP; ³Farmacologia ICB I-USP

Objetivo: Adolescentes de várias espécies diferem dos adultos em muitos aspectos, dentre eles, padrão de consumo de drogas. Os objetivos deste trabalho foram estudar alterações bioquímicas (enzimáticas) e hematológicas após a administração de etanol em ratos durante a adolescência.

Métodos e Resultados: Ratos adolescentes (X) (dia pós-nascimento = 28) e adultos (Y) (DPN = 73) foram tratados com uma solução alcoólica (33%) (E) p.o. ou água (C) por um período de 15 dias. Foram medidos, durante o tratamento, o padrão de consumo de água e alimentos. Uma hora após a última administração, os animais foram sacrificados e o sangue coletado para análises bioquímicas e hematológicas. Os adultos tratados com álcool apresentaram um padrão de consumo (água e alimentos) menor do que os controles durante todo o tratamento, enquanto os adolescentes experimentais apresentaram uma diminuição no consumo de alimento, mas não de água, a partir do meio do tratamento. Os resultados hematológicos mostraram diferenças significantes entre os grupos para algumas medidas. Glicemia: XE (190 ± 23) > XC (155 ± 23); hemácias: XC (5,72 ± 0,41µl x 10⁵) < YC (7,29 ± 0,75) e) e XE (5,99 ± 0,34 < YE (7,18 ± 0,71); Segmentados: XE (30,22 ± 10,77) > XC (18,56 ± 4,75); linfócitos XE (66,67 ± 9,73) < XC (79,22 ± 4,71). Os resultados bioquímicos mostraram que os animais experimentais apresentaram uma atividade da creatina quinase (CK) menor do que os respectivos controles: XE (5793 U/L ± 1610) < XC (10572 ± 5341); YE (6442 ± 3440) < YC (12774 ± 7118). Animais YE apresentaram níveis de lactato desidrogenase (LD) menor do que os demais grupos: YE (2564 U/L ± 991) < YC (4224 ± 953), XE (4940 ± 2203), XC (4514 ± 1916).

Conclusões:

O etanol alterou o padrão de consumo dos adolescentes, sua glicemia, aumentando os riscos de hiperglicemia e alterou os padrões hematológicos, podendo causar anemia. A atividade de enzimas que usam o mesmo cofator (NAD) que o etanol na metabolização de seus substratos mostrou-se alterada. No caso da LD, os adolescentes foram menos susceptíveis a essa alteração do que os adultos.

35.044

ANTI-HIV AGENTS: SYNTHESIS AND DISCOVERY OF NEW POTENT HIV-1 REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS ¹Rodrigues, D. Q.; ¹Souza, S. L. O.*; ²de souza, M. C. V.; ²Ferreira, V. F.; ³Bernardino, A. M. R.; ¹Frugulhetti, I. C. P. ¹Biologia Celular e Molecular UFF; ²Química Orgânica IQ-UFF; ³Virologia, UFF

Objetivo: Reverse transcriptase (RT) is a key enzyme which plays an essential and multifunctional role in the replication of the human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) and thus constitutes an attractive target for the development of new drugs useful in AIDS therapy. The human immunodeficiency virus type-1 reverse transcriptase (HIV-1 RT) is essential for the conversion of viral genomic RNA into a double-stranded DNA intermediate. The HIV-1 RT is a heterodimer composed of 66 and 51 Kda subunits, p66 and p51. The high mutation rate of HIV frequently results in the rapid development of resistance toward the employed drugs to AIDS therapy. For this reason there is a continuous need for alternative inhibitors of HIV related enzymes, including HIV-RT.

Métodos e Resultados: The inhibitory effect of lapachol and some derivatives were evaluated on the reverse transcriptase polymerase activity using recombinant enzyme of HIV-1. The sequence that expressed RT HIV-1 was introduced into an Escherichia coli expression plasmid pUC 12N. This recombinant was composed of 66Kda protein. The bacteria containing this plasmid were grown for 12-16 hours with shaking at 37 °C. The pellet collected by centrifugation was washed and disrupted. The lysates were kept at 4 °C for 30 minutes and the insoluble material was removed by centrifugation. The supernatant was collected and passed over Sephadex G-25 columns. After loading, the columns were washed and the fractions were assayed for reverse transcriptase activity. At a concentration of 50µM, the compounds Epoxi-β, Epoxi-α, Nor-β-lapachona and Epoxi Nor-β-lapachona reached 60, 70, 68 and 75 % of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase activity. The cytotoxicity of compounds was investigated in VERO cells by Trypan blue dye exclusion method. It is important to emphasize that the compounds were not cytotoxic at a concentration of 50µM.

Conclusões:

The anti-HIV-1 RT activities of the lapachol and derivatives described here suggest that these compounds may be selectively targeted to HIV-1 replication, since they were not cytotoxic to cells at a concentration tested.

35.045

AVALIAÇÃO EM RATOS DO EFEITO HIPOTENSOR DE GRÂNULOS DE LIBERAÇÃO PROLONGADA DE CAPTOPRIL REVESTIDOS COM ETILCELULOSE /METILCELULOSE. ¹Stulzer, H.; ¹Fernandes, D.*; ²Silva, M. A. S.; ³Stulzer Jr., W.*; ¹Assreuy, J. ¹Farmacologia UFSC; ²Farmácia, UFSC; ³Farmácia, UNIVILLE

Objetivo:

As formas farmacêuticas de liberação prolongada de fármacos com o tempo de meia-vida reduzido vêm sendo demonstradas extensivamente na literatura farmacêutica, devido aos benefícios terapêuticos e farmacológicos em relação às formas farmacêuticas convencionais. O presente trabalho tendo em vista a necessidade de uma resposta integrada a partir dos resultados obtidos *in vitro*, apresenta como objetivo a avaliação *in vivo* dos grânulos de liberação prolongada desenvolvidos.

Métodos e Resultados:

Os animais da espécie *Ratus norvegicus*, linhagem wistar do sexo feminino foram tratados com captopril (grupo controle) e grânulos de captopril (10mg/Kg) 1, 4, 8 e 12 horas antes de serem submetidos para a verificação da pressão arterial

Através dos resultados obtidos, observou-se que os grânulos revestidos contendo captopril administrados nos animais na mesma concentração que o fármaco puro, proporcionaram um efeito de 12 horas em média, enquanto que o fármaco isolado teve sua ação hipotensora por um período de apenas 8 horas. A pressão arterial média permaneceu próxima a 80 mmHg por um período de 12 horas nos animais que receberam os grânulos revestidos (controle 105,6 ± 3,38; formulação A 85,5 ± 6,5; formulação B 84,3 ± 3,1, n=4, 12 h após administração das formulações) e durante 8 horas para os animais que receberam o fármaco puro (controle 105,6 ± 3,38; captopril 104,0 ± 3,5; n=4), dessa forma observou-se um aumento de 4 horas na ação hipotensora do captopril na forma de grânulos de liberação prolongada em relação ao fármaco isolado.

Conclusões:

Sendo assim, foi possível constatar que as formulações de grânulos de captopril revestidos com etilcelulose e etilcelulose/metilcelulose mantiveram seu efeito por um período de tempo superior àquela mesma concentração do fármaco isolado, sugerindo que as formulações desenvolvidas proporcionaram uma liberação diferenciada do fármaco. Nos testes realizados *in vivo* não se constatou diferenças significativas entre as diferentes formulações de grânulos de liberação

prolongada desenvolvidos, uma vez que ambas tiveram sua ação hipotensora pelo mesmo período de tempo.

35.046

BLOCKADE OF BETA 1 AND 2 ADRENOCEPTORS DELAYS RAT EXCISIONAL CUTANEOUS WOUND HEALING. Souza, B. R.; Santos, J. S.^{*}; Amadeu, T. P.^{**}; Costa, A. M. A. Histologia e Embriologia, UERJ

Objetivo:

The aim of this study was to investigate the effects of β_1 and β_2 adrenoceptor blockade on excisional cutaneous wound healing.

Métodos e Resultados:

Adult male rats were orally treated with propranolol, and control group received drinking water alone. Propranolol was administrated daily until euthanasia. A full-thickness excisional lesion was done. The lesion area was measured to evaluate wound contraction. After euthanasia, the lesion and adjacent normal skin were formol-fixed and paraffin-embedded. Sections were stained with hematoxylin-eosin or toluidine blue, and immunostained for α -SM actin or PCNA. The wound contraction was higher in control group than propranolol treated group (7d: 58% \pm 2 and 67% \pm 3, p=0.03; 14d: 23% \pm 1 and 33% \pm 1, p=0.0005; 21d: 14% \pm 1 and 20% \pm 2, p=0.02; respectively). The percentage of reepithelialized wound area was higher in control group than propranolol treated group (7d: 16% \pm 1 and 12% \pm 1, p=0.003; 14d: 60% \pm 3 and 36% \pm 2, p=0.0002; 21d: 75% \pm 1 and 56% \pm 6, p=0.005; respectively). The percentage of PCNA-positive epithelial cells was smaller in control group than in propranolol treated group (14d: 82% \pm 3 and 88% \pm 2, p=0.04; 21d: 58% \pm 5 and 86% \pm 3, p<0.0001; respectively). The amount of PCNA-positive connective tissue cell was smaller in control group than in propranolol treated group (14d: 1326 cells \pm 157 and 1724 cells \pm 178, p=0.02; 21d: 356 cells \pm 61 and 1599 cells \pm 158, p<0.0001; respectively). The amount of polymorphonuclear leukocytes was smaller in control group than in propranolol treated group (7d: 4 cells \pm 0.6 and 8 cells \pm 1, p<0.0001; 14d: 3 cells \pm 0.4 and 8 cells \pm 1, p=0.002; respectively). The number of mast cell was smaller in control group than in propranolol treated group (14d: 1 cells \pm 0.2 and 3 cells \pm 0.5, p=0.02; 21d: 3 cells \pm 0.5 and 5 cells \pm 0.6, p=0.002; respectively). The relative density of myofibroblast was smaller in control group than propranolol treated group (14d: 2 \pm 0.3 and 3 \pm 0.2, p=0.02; respectively).

Conclusões:

The β_1 and β_2 adrenoceptors blockade impaired cutaneous wound healing by delaying wound contraction and neo-epidermis formation and altering granulation tissue development.

35.047

CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE HORMÔNIO DE CRESCIMENTO HUMANO RECOMBINANTE EM PRODUTOS FARMACÊUTICOS. Bernardi, L. S.; Ceni, D. C.^{*}; Sangoi, M. S.^{*}; Brum, L. J.^{**}; Dalmora, S. L. Centro Ciências da Saúde UFSM

Objetivo:

O hormônio de crescimento humano recombinante (rec-hGH) é um polipeptídeo composto de 191 aminoácidos, utilizado para o tratamento de crianças com deficiência de crescimento, e em adultos, como reposição hormonal na disfunção do eixo hipotalâmico-hipofisário. O presente trabalho teve por objetivos identificar, avaliar a potência e efetuar a determinação de formas diméricas, de alta massa molecular, desamidados e sulfóxidos em produtos farmacêuticos.

Métodos e Resultados:

Foram analisados 10 lotes de produtos farmacêuticos provenientes de diferentes laboratórios em seu prazo de validade. Realizou-se a identificação por eletroforese em gel de poliácridamida observando-se banda na região de 22 kDa, e por cromatografia líquida por exclusão molecular (SE-HPLC). Avaliou-se a potência por SE-HPLC em relação ao padrão de rec-hGH (WHO 88/624), obtendo-se resultados entre 99,96% a 103,87%, com médias de teores para dímeros e polímeros de alta massa de 1,17 \pm 0,9%. Paralelamente determinaram-se os sulfóxidos e desamidados por cromatografia líquida em fase reversa encontrando valores médios de 6,33 \pm 1,56% (n=10). Efetuaram-se também testes de endotoxinas bacterianas e toxicidade.

Conclusões:

Os resultados obtidos nas avaliações dos produtos farmacêuticos estão de acordo com as especificações, garantindo a segurança e a eficácia terapêutica. Demonstrou-se assim, a qualidade contribuindo para aprimorar o controle dos medicamentos em uso clínico.

35.048

DETERMINATION OF VORICONAZOLE IN RAT PLASMA BY LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY (LC-MS). Araújo, B. V.^{**}; Palma, E. C.; Blatt, V.^{*}; Dalla Costa, T. Farmácia UFRGS

Objetivo: In this work a method based on liquid-chromatography-mass spectrometry (LC-MS) has been developed to analyze voriconazole in rat plasma. Voriconazole is a new azole antifungal agent that produces low plasma concentrations in rats due to its high distribution into peripheral tissues. This characteristic, associated with its lower absorptive property, became its quantification by UV a very difficult task.

Métodos e Resultados: The LC-MS system used in this study consisted of a Shimadzu HPLC coupled to the Micromass Quattro II mass spectrometer. Chromatographic Conditions: Analysis were performed using a Shimadzu C18 column and isocratic elution with acetonitrile:water:formic acid (60:40:0.05, v/v, pH 5.5) at a flow of 0.6 mL/min. MS Conditions: The positive electrospray ionization mass spectrometry was used for detection and all mass spectra were recorded under a full scan operation for positive ions, with a scan range from m/z 200 to 750. The quantification was carried out with the selected-ion monitoring mode set to the protonated parent molecular ion (m/z = 350.1). Ketoconazole was employed as internal standard (m/z = 531.4). Voriconazole was extracted from blood samples by liquid-liquid extraction employing ethyl acetate (0.1:1.0, v/v). The supernatant was dried and L were injected into the μressuspended in 200 mL of mobile phase and 25 chromatographic system. The retention times of voriconazole and ketoconazole were approximately 2.8 and 5.5 min, respectively. Calibration curves in spiked g/mL with μplasma were linear over the concentration range of 0.05–10.0 determination coefficient > g/mL. μ0.99. The limit of quantification was 0.05 The method accuracy was > 99%. Intra- and inter-day relative standard deviations were less than 5%.

Conclusões: Through this LC-MS method voriconazole can be determined at concentrations as low as 50 ng/mL employing only 0.1 mL of plasma sample, which allows several sampling from the same animal and turn feasible the determination of the drug pharmacokinetic profile in rats.

35.049

EFEITO COMPARATIVO ENTRE LIDOCAÍNA, S(-) ROPIVACAÍNA, RS(±), R(+) E S(-) BUPIVACAÍNA NO RELAXAMENTO DE MÚSCULO LISO TRAQUEAL DE RATO. Lautner, R. Q.; Zapata-Sudo, G.; Sudo, R. T. Farmacologia Básica e Clínica ICB-UFRJ

Objetivo: A lidocaína é usada como antitussígeno e broncodilatador (Nakahara T. Eur.J.Pharmacol. 425: 129,2001). Atividade na via respiratória de outros anestésicos não tem sido estudada. Este trabalho avaliou os efeitos da RS(±)bupivacaína, R(+) e S(-)bupivacaína, lidocaina, S(-)ropivacaina na atividade contrátil do músculo liso traqueal de rato.

Métodos e Resultados: Anéis de traquéia de ratos Wistar, machos, pesando entre 230-300 g foram dissecados e preparados para registro de tensão isométrica. Os músculos foram posicionados no interior de cubas verticais preenchidas com solução de Tyrode modificada, oxigenada com gás carbogênio (95% O₂ + 5% CO₂). A temperatura da solução foi controlada em 37o C e o pH em 7.4. Após 1 hora de equilíbrio, contratatura máxima dos anéis foi induzida pela acetilcolina (ACh, 10 μM). No momento do platô da contratatura, os diferentes anestésicos locais foram adicionados à solução em concentrações crescentes e cumulativas. O percentual de inibição induzida pelos anestésicos foi plotado em função da concentração para determinar a concentração inibitória média (CI50). A concentração limiar (menor concentração capaz de diminuir estatisticamente a contratatura induzida pela ACh) foi de 10 μM para RS(±)bupivacaína, 40 μM para R(+) e S(-)bupivacaína, 150 μM para S(-)ropivacaína e 300 μM para lidocaína. A CI50 da RS(±)bupivacaína (52,8±9,8 μM, n= 5) foi significativamente (P<0.01) menor do que a dos isômeros isoladamente (R(+)bupivacaína= 158,6±9,6 μM, n= 5 e S(-)bupivacaína= 110,8±9,5 μM, n=5). A CI50 da S(-)ropivacaina (455,2±15,5 μM, n= 6, P< 0.01) e da lidocaina (1347,6±32,2 μM, n= 6, P< 0.001) foram significativamente superiores ao da RS(±)bupivacaína e seus isômeros.

Conclusões: A ordem de potência dos anestésicos para reverter a contratatura induzida pela ACh na musculatura lisa traqueal foi: RS(±)bupivacaína>S(-)bupivacaína=R(+)-bupivacaína>S(-)ropivacaína>lidocaína.

35.050

EFEITOS FARMACOLÓGICOS DA ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSA DA EMULSÃO LIPÍDICA DE SEVOFLURANO. Rodrigues, A. N.; Zapata-Sudo, G.; Sudo, R. T. Farmacologia Básica e Clínica ICB-UFRJ

Objetivo: Sevoflurano é usado como anestésico inalatório. O trabalho investigou os efeitos farmacológicos de uma nova formulação (emulsão lipídica) do sevoflurano preparada para administração venosa.

Métodos e Resultados: Doses hipnóticas média (DH50), letal média (DI50) e o índice terapêutico (IT) foram determinados em camundongos por meio da administração intravenosa em bolo. A emulsão de sevoflurano também foi administrada em forma de infusão em ratos previamente preparados nas taxas de 37,5 mg.kg⁻¹.min⁻¹ (grupo I) e 50 mg.kg⁻¹.min⁻¹ (grupo II) durante 15 minutos. Neste modelo, foram determinadas as doses hipnóticas e anestésicas e avaliados os efeitos hemodinâmicos e respiratórios. A DH50 e a DI50 após injeção em bolo foram 101 e 278 mg.kg⁻¹, respectivamente. O índice terapêutico (DI50 /DH50) foi de 2,75. A latência hipnótica, após a infusão venosa, foi de 5,3±0,5 e 3,6±0,3 min (P<0,05) para os grupos I (n=10) e II (n= 10), respectivamente, e a latência anestésica de 9,2±0,9 e 4,5±0,4 min, respectivamente. Isto representou uma massa de anestésico injetada de 257,5±43,2 e 454,6±57 mg.kg⁻¹ para provocar hipnose e anestesia no grupo I e de 191±19,3 e 268±36,5 mg.kg⁻¹ no grupo II, respectivamente. A frequência respiratória reduziu nos dois grupos experimentais: no grupo I de 83,4±5,5 para 66,0±1,5 irpm (P< 0,05) e para o grupo II de 85,8±4,5 para 60,0±3,0 irpm (P<0,05). Não houve diferença entre os grupos experimentais. As alterações da pressão arterial média também foram significativas. No grupo I, reduziu de 110,6±5,3 para 94,4±7,5 mmHg (P<0,05) e no grupo II de 118,8±7,3 para 105,0±3,7 mmHg (P<0,05). Também não houve diferença significativa entre os grupos.

Conclusões: A administração intravenosa da emulsão lipídica de sevoflurano promove hipnose e anestesia de boa qualidade. As modificações hemodinâmicas e respiratórias observadas não comprometeram a integridade do animal, podendo ser uma boa alternativa para anestesia clínica.

35.051

ESTUDO PILOTO DA MODULAÇÃO DA GLICOPROTEÍNA-P POR RITONAVIR (RTV) E LOPINAVIR (LPV) ATRAVÉS DE CITOMETRIA DE FLUXO (CF). Carvalho, R. S.; Ribeiro, F. S.; Estrela, R. C. E. **; Suarez-Kurtz, G. Farmacologia INCa

Objetivo: A glicoproteína-P (Pgp) é uma proteína integral de membrana codificada, em humanos, pelo gene MDR1. Pgp atua como uma bomba de efluxo em diversos tipos celulares como, por exemplo, linfócitos T CD4, mediando a extrusão de uma grande variedade de xenobióticos, dentre estes fármacos como os inibidores de protease (IPs). RTV e LPV são IPs utilizados na terapia antiretroviral de alta atividade e como substratos da Pgp tem sua permanência nos linfócitos T CD4 limitada, o que compromete suas ações farmacológicas. O presente trabalho tem como objetivo aplicar a técnica de detecção intracelular de rodamina 123 (Rod123) através de citometria de fluxo na análise da interação dos IPs com a Pgp.

Métodos e Resultados: A linhagem celular LUCENA, que superexpressa Pgp e não expressa outros transportadores (Rumjanek, An Acad Bras Cienc. 57:73, 2001), foi incubada com Rod123 em meio de cultura ou plasma contendo 0,1-30 uM dos IPs. A seguir, a Rod 123 foi removida do meio e seu conteúdo intracelular foi determinado por CF. Tanto RTV quanto LPV exerceram efeitos inibitórios na Pgp, sendo esta resposta dose-dependente. O IC50 de inibição da Pgp para o LPV em meio de cultura foi de 1,5 uM, enquanto para o RTV foi de 3,2 uM. Em plasma nenhum dos IPs foi capaz de inibir 50% da atividade da Pgp, apenas nas concentrações máximas utilizadas observou-se inibição de 25 e 10% para LPV e RTV respectivamente.

Conclusões: RTV e LPV são inibidores da Pgp, sendo o último cerca de 2 vezes mais potente que o primeiro. Entretanto, nas concentrações plasmáticas previamente encontradas em pacientes HIV positivos não exercem atividade inibitória, devido às altas taxas de ligação a proteínas plasmáticas dos IPs.

35.052

HEXAMETÔNIO PROTEGE A MOTILIDADE INTESTINAL DE COELHOS DA DEPRESSÃO INDUZIDA PELA TOXINA A DO *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*. ¹Carvalho-de-Souza, J. L. ^{**}; ¹Lima, C. C.; ²Lima, A. A. M.; ³Cardoso, J. H. L. ¹CCS-UEC; ²Farmácia e Farmacologia UFC; ³Ciências Fisiológicas UEC

Objetivo: Clostridium difficile, um enteropatógeno de mamíferos, é o principal responsável pela incidência de colite pseudomembranosa em humanos submetidos a tratamentos antineoplásicos ou antibióticos. C. difficile produz uma enterotoxina, toxina A (TxA), que induz diarreia inflamatória em modelos experimentais de alça ligada. Estudos preliminares do nosso laboratório mostram que TxA, em curto período de ação (2h), aumenta a amplitude das movimentações espontâneas e das respostas máximas ao K⁺ e à acetilcolina (ACh). Em contato mais prolongado (18h) estes parâmetros são todos deprimidos. Ainda, os efeitos da TxA envolvem vias neurais intrínsecas (N Engl J Med 334:1106, 1996). Objetivamos verificar a participação do sistema nervoso entérico (SNE) nas alterações da contratilidade intestinal promovida pela TxA

Métodos e Resultados: Coelhos Nova Zelândia machos (2,5-3,5 kg) foram utilizados seguindo o modelo de alça intestinal ligada (J Path Bact 66:559, 1953). Foram injetados 1 ml de TxA (1 microg/ml) diluída em PBS ou apenas 1 ml de PBS intraluminalmente em alças com 6 a 8 cm. Os animais foram tratados com hexametônio (HEX), um ganglioplégico, 30 mg/kg i.p. 30 min antes da injeção da TxA. Após 6 ou 18 horas da injeção da TxA os animais foram sacrificados e os segmentos de alças superfundidos em câmara para órgão isolado com solução de Tyrode a 37 °C, pH 7,4 e aerada. O tratamento dos animais com HEX alterou significativamente (ANOVA, Student-Newman-Keuls, p<0,05) os efeitos de 6h de exposição à TxA aumentando os valores dos parâmetros movimentação espontânea, resposta máxima ao K⁺, e à ACh para 227,3 ± 20,72%, 142,2 ± 6,55 e 155,1 ± 10,51%, respectivamente, em relação aos valores obtidos com alças dos animais não tratados com este ganglioplégico. HEX também alterou significativamente (ANOVA, Student-Newman-Keuls, p<0,05) os efeitos da TxA de 18h de exposição aumentando os valores dos mesmos parâmetros, respectivamente, para 175,4 ± 21,05, 311,2 ± 63,37 e 254,6 ± 44,73% em relação aos valores obtidos com alças dos animais não tratados com o ganglioplégico. Todos os experimentos foram repetidos mais de seis vezes

Conclusões: O SNE está envolvido nos efeitos da TxA na contratilidade intestinal de coelhos

35.053

PERFIL CLÍNICO DAS REAÇÕES ADVERSAS A ASPERSÃO COM AMITRAZ EM CÃES ADULTOS SEM RAÇA DEFINIDA (SRD). ¹Vanzeler, M. L. A.; ²Santos, C. E. P.; ¹Ciências Básicas em Saúde FCM-UFMT; ²Veterinária UFMT

Objetivo: OBJETIVOS: Investigar o perfil Clínico as reações adversas a aspersão com Amitraz através das medidas da temperatura retal (TR), Frequência respiratória (FR), Frequência de pulso (FP) reflexos posturais (RP)

Métodos e Resultados: MÉTODOS: Após 30 dias de adaptação os Cães foram banhados com H₂O e sabão de coco, secados e em seguida aspergidos com água e submetidos a exames clínicos para estabelecimento dos níveis controle da TR, FR, FP e RP (medidas através dos seguintes escores: normal = 3, ataxia leve = 2, decúbito = 1 e coma = 0. Duas semanas após este procedimento, os animais foram aspergidos com Amitraz (AMITRACID ®) na proporção de 4ml para 1 litro de H₂O (1:250) e feitos os exames clínicos, observações comportamentais (03, 06, 24 horas) após tratamento. A aspersão e as medidas foram repetidas uma vez por semana durante 04 semanas. RESULTADOS: A TR basal foi de 38,7±0,02, sendo esta reduzida pelo Amitraz às 3 horas após aspersão, na 1º semana p/ 36,9±0,36; na 2º semana p/ 36,5±0,2; na 3º p/ 36,6±0,2 e na 4º p/ 36,8±0,4 e às 6 horas após aspersão na 1º semana p/ 37,2±0,3. A FR basal de 25,6±1,5, foi reduzida pelo Amitraz às 3 horas após aspersão, na 2º semana p/ 18,2±1,8; na 3º p/ 19,6±1,0 e na 4º p/ 19,6±1,0. A FP basal de 96,6±3,3, foi reduzida pelo Amitraz às 3 horas após aspersão, na 1º semana p/ 68,2±5,5; na 2º semana p/ 72,4±7,2; na 3º p/ 73,1±5,4 e na 4º p/ 76,7±6,3, às 6 horas após aspersão na 1º semana p/ 64,4±3,4, na 2º p/ 70,9±5,6; na 3º p/ 73,3±5,3 e na 4º p/ 76,2±6,4 e as 24 horas na 1º semana 79,8±6,8. Os escores basais de RP (3,0±0,0) foram reduzidos pelo Amitraz 3 horas após aspersão, na 1º semana p/ 2,1±0,1; na 2º semana p/ 2,2±0,1;

na 3º p/ 2,3+0,2 e na 4º p/ 0,6+0,2 e às 6 horas após aspersão na 1º semana p/ 2,1+0,6, na 2º p/ 2,3+0,2; na 3º p/ 2,9+0,1 e na 4º p/ 2,9+0,1 ($p < 0,05$ ANOVA seguido de Tukey-kramer).

Conclusões: CONCLUSÕES: Estes dados mostram reações adversas mais acentuadas na fase aguda do tratamento, envolvendo hipotermia, hipotensão, diminuição da frequência respiratória e depressão do SNC e sugerem considerável absorção através da pele íntegra, visto que os animais não apresentavam lesões e também foram monitorados para evitar a ingestão da emulsão durante a secagem.

35.054

RESPOSTA À APLICAÇÃO TÓPICA DE ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS, TRIGLICERÍDEOS E VITAMINAS 'A' E 'E' NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO EM *RATTUS NORVEGICUS* (BERKENHOUT, 1769): EFEITO DA IDADE E IMUNOCOMPETÊNCIA Silva, W. R.; Martinez, P. E. Ciências Fisiológicas FURG

Objetivo: As propostas para o melhoramento do processo de cicatrização devem considerar a importância dos ácidos graxos essenciais (AGEs) e triglicerídeos de cadeia média (TCMs) na manutenção da integridade e função celular. Portanto, neste estudo, pretendeu-se avaliar a utilização tópica de uma solução farmacológica cicatrizante (SFC) contendo AGEs, TCMs e vitaminas A e E na cicatrização de feridas em ratos, segundo a idade e a imunocompetência.

Métodos e Resultados: Foram utilizados 72 ratos (36 jovens e 36 idosos) cuja metade foi tratada com dexametasona (DEX); os demais constituíram o grupo controle (CON). As lesões realizadas no dorso dos animais foram tratadas topicamente com SFC ou Solução Salina (SS). Os animais foram sacrificados e suas lesões estudadas nos 3º, 7º e 14º dias de pós-operatório (DPO). Nos animais jovens e idosos, as lesões tratadas com SS ($3,12 \pm 0,24$ e $1,32 \pm 0,28$ cm², respectivamente) apresentaram área de cicatrização superior a das tratadas com SFC ($2,27 \pm 0,24$ e $-0,81 \pm 0,30$ cm², respectivamente). Ainda, a cicatrização evoluiu progressivamente segundo o DPO; porém, verificou-se que a imunossupressão e o tratamento com SFC retardaram este processo. Pois as áreas cicatriciais no 3º DPO foram $-0,35 \pm 0,16$ e $-2,47 \pm 0,21$ cm² ($P < 0,05$) para os grupos CON e DEX tratados com SS, respectivamente; já no 14º DPO, para o mesmo tratamento tópico, estas áreas foram de $9,07 \pm 0,27$ e $3,03 \pm 0,17$ cm² ($P < 0,05$) para os grupos CON e DEX, respectivamente. No tratamento com SFC, no 3º DPO, as áreas cicatriciais foram $-2,02 \pm 0,21$ e $-3,39 \pm 0,22$ cm² ($P < 0,05$) para os grupos CON e DEX, respectivamente; no 14º DPO, as áreas cicatriciais das lesões tratadas com SFC foram $8,45 \pm 0,14$ e $0,75 \pm 0,30$ cm² ($P < 0,05$) para os grupos CON e DEX, respectivamente. Adicionalmente, foram analisados resultados hematológicos, bioquímicos e histológicos.

Conclusões: As informações obtidas nos permitem recomendar a realização de estudos complementares para verificar a utilidade do tratamento com SFC.