

- Biologia do Sistema Reprodutor

39.001

REPRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS MORFO-FISIOLÓGICAS DO CAMUNDONGO NOCAUTE COM DEFICIÊNCIA DE NO-SINTASE ENDOTELIAL. Oliveira, C. M.; Ko, G. M.^{**}; Jurkiewicz, A. Farmacologia UNIFESP

Objetivo:

Há cerca de 6 anos, foram importados, pelo CEDEME, algumas linhagens de AnGMs, entre elas cinco casais de camundongos isogênicos nocautes para NO-sintase (eNos -/-), com background genético de C57Bl/6 (wild type). Em continuação a estudos anteriores, foram formados 3 grupos: (a) 10 casais de eNos -/-, (b) 10 casais de C57Bl/6 (como controle) e (c) posteriormente, 10 casais de fêmeas eNos -/- com machos C57Bl/6, gerando camundongos EB6. Foi feita a análise dos parâmetros reprodutivos relacionados abaixo.

Métodos e Resultados:

Os resultados obtidos (média \pm epm), comparando eNOS -/- (E) e C57Bl/6 (B6) mostram que não houve diferenças no intervalo, em dias, entre a primeira e segunda gestação (E=39,3 \pm 5,2 e B6=37,8 \pm 4,7) e entre a segunda e terceira gestação (E=36,2 \pm 4,0 e B6=35,2 \pm 4,2), abertura vaginal dos filhotes (31 a 35 dias para E e B6), data do primeiro estro dos filhotes (2^a a 3^a dia após a abertura vaginal para E e B6). Entretanto, houve diferenças significativas no número de filhotes por ninhada (E=4,3 \pm 0,5 e B6=7,4 \pm 0,8), número de desmamados por ninhada (E=2,5 \pm 0,6 e B6=6,5 \pm 0,9), taxa de desmame (E=53% e B6=85%), peso (g) das fêmeas (p. ex., aos 7 dias de idade (E=3,4 \pm 0,4 e B6=5,2 \pm 0,1) e aos 98 dias de idade (E=19,7 \pm 0,2 e B6=22,4 \pm 0,4) e dos machos aos 7 dias de idade (E=3,3 \pm 0,4 - B6=4,9 \pm 0,1) e aos 98 dias de idade (E=22,8 \pm 0,6 e B6=25,5 \pm 0,4)). Em relação ao grupo (c), houve diferença significativa no intervalo entre a primeira e a segunda gestação (EB6=30,25 \pm 0,85, E=39,3 \pm 5,2 e B6=37,8 \pm 4,7), no número de filhotes nascidos por ninhada (EB6=6,2 \pm 0,6, E=4,3 \pm 0,5 e B6=7,4 \pm 0,8) e no número de desmamados por ninhada (EB6=6,0 \pm 0,4, E=2,5 \pm 0,6 e B6=6,5 \pm 0,9).

Conclusões:

Em conclusão, o padrão reprodutivo do eNOS -/- foi menor que o dos controles. Além disso os experimentos com o grupo (c) mostraram que essa deficiência se corrigiu em grande parte pela substituição dos machos nocautes pelos controles. Sugere-se que os dados obtidos se devem à influência do NO na reprodução.

39.002

EFEITOS DA DESNUTRIÇÃO MATERNA DURANTE A LACTAÇÃO SOBRE A EXPRESSÃO DO RECEPTOR DE ANDROGENIO NO OVÁRIO DA PROLE NA PUBERDADE. Faria, T. S.^{**}; Brasil, F. B.^{**}; Feitoza, D. C. O.; Sampaio, F. J. B.; Ramos, C. D. F. Anatomia UERJ

Objetivo:

Avaliar os efeitos da desnutrição protéica e calórica materna nas concentrações séricas de testosterona e estradiol, e na expressão do receptor de androgênio (AR) no ovário da prole na puberdade.

Métodos e Resultados:

Ratas Wistar foram divididas em grupos no dia do nascimento da ninhada: controle (C)-23% de proteína; restrição protéica (RP)-8% de proteína; restrição calórica (RC)-23% de proteína, restrita às mesmas quantidades ingerida pelo grupo RP. Do desmame até os 40 dias de idade, a prole fêmea (5 animais por grupo) teve livre acesso a ração. No dia do sacrifício (dia 40), os animais na fase diestro do ciclo, tiveram o sangue coletado para determinação das concentrações hormonais e o útero excisado para determinação do AR, por western blot. Foi utilizada a análise de variância univariada seguida do teste de Newman Keuls para análise dos resultados. Os dados são expressos como média \pm erro padrão. A quantidade relativa de ER α foi significativamente reduzida (C=0,79 \pm 0,24; RP=0,17 \pm 0,05; RC=0,23 \pm 0,04, p<0,05) nos grupos RP e RC, quando comparados ao grupo C. O grupo RP não apresentou alteração na concentração hormonal, enquanto o grupo RC apresentou redução na concentração de testosterona (C=0,09 \pm 0,02; RP=0,10 \pm 0,02; RC=0,03 \pm 0,01; p<0,05) e aumento na concentração de estradiol (C=59,00 \pm 11,12; RP=71,62 \pm 5,66; RC=99,79 \pm 5,69; p<0,01), sendo ambas alterações significativas.

Conclusões:

Nossos dados mostram que a desnutrição materna durante a lactação alterou a expressão do AR independente da concentração sérica hormonal.

39.003

RELAÇÃO ENTRE LUZ, EPITÉLIO E ESTROMA PROSTÁTICOS DE RATOS CASTRADOS E VASECTOMIZADOS. ¹ Pereira, S.; ²Mello Júnior, W.; ²Martinez, F. E. ¹Biologia Celular IB-UNICAMP; ²Anatomia UNESP-Botucatu

Objetivo:

Avaliar os volumes relativo e absoluto da luz, epitélio e estroma da próstata ventral de ratos castrados e vasectomizados, visto que um desequilíbrio entre esses componentes pode provocar doenças como o câncer de próstata e a hiperplasia benigna de próstata.

Métodos e Resultados:

Os ratos machos adultos, divididos em três grupos experimentais (GE): controle (Co), vasectomizado (Va) e castrado (Ca), foram estudados 48h e 7 dias após cirurgia. Secções histológicas da próstata ventral, coradas com tricrômico de Masson, foram utilizadas para determinar os volumes relativos da luz (VRL), epitélio (VREp) e estroma (VREs) pelo sistema de Weibel (grade 168 pontos) em 20 campos. Para calcular os volumes absolutos (mm³) da luz (VAL), epitélio (VAEp) e estroma (VAEs), o volume relativo (%) foi multiplicado pelo peso médio (g) do respectivo grupo, visto que 1mg da próstata ventral de ratos tem volume de aproximadamente 1mm³. Os VRL, VREp e VREs (média±desvio-padrão), e VAL, VAEp e VAEs (média) são apresentados, na tabela, com análise de variância seguida do teste de Tukey (P≤0,05).

Parâmetro	GE	Tempo após cirurgia	
		48h	7dias
VRL	Co	61,3±11,7 ^{Aa}	60,4±5,5 ^{Aa}
	Ca	60,3±2,6 ^{Aa}	40,9±2,9 ^{Bb}

	Va	57,9±6,9 ^{Aa}	56,5±8,1 ^{Aa}
<hr/>			
	Co	23,9±2,8 ^{Aa}	26,3±3,6 ^{Aa}
VREp	Ca	23,5±2,3 ^{Aa}	18,9±2,5 ^{Aa}
	Va	24,3±4,7 ^{Aa}	32,9±5,5 ^{Aa}
<hr/>			
VREs	Co	14,8±10,4 ^{Aa}	13,3±3,9 ^{Aa}
	Ca	16,2±0,8 ^{Aa}	40,2±4,1 ^{Bb}
<hr/>			

	Va	17,7±3,7 ^{Aa}	10,6±2,9 ^{Aa}
	Co	400,4 ^{Aa}	369,1 ^{Aa}
VAL	Ca	284,1 ^{Ba}	47,9 ^{Bb}
	Va	365,6 ^{Aa}	343,8 ^{Aa}
VAEp	Co	156,3 ^{Aa}	160,8 ^{Aa}
	Ca	110,5 ^{Ba}	22,2 ^{Bb}

	Va	153,7 ^{Aa}	200,2 ^{Cb}
	Co	96,5 ^{Aa}	81,3 ^{Aa}
VAEs	Ca	76,1 ^{Aa}	47,2 ^{Bb}
	Va	111,7 ^{Aa}	64,5 ^{Cb}

*Letras maiúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os grupos; letras minúsculas diferentes indicam diferença significativa entre os momentos de estudo.

Os VAL e VAEP diminuíram 48h pós-castração. Os VRL, VAL, VAEP e VAEs diminuíram, enquanto o VREs aumentou 7 dias pós-castração. O VAEP aumentou, enquanto o VAEs diminuiu 7 dias pós-vasectomia.

Conclusões:

Assim, os resultados indicam que tanto a castração quanto a vasectomia podem modificar os componentes (luz, epitélio e estroma) da próstata ventral de ratos.

39.004

EFEITO ANTIESPERMATOGÊNICO DO EXTRATO DE BACUPARI EM RATOS. ¹Sousa, P.V.*; ¹Martins, J.S.*; ¹Lavers, M.P.N.*; ²Alves, R.J.*; ²Lião, L. M.; ¹Costa, M. F. O.; ¹Mazaro e Costa, R. ¹Ciências Fisiológicas UFGO; ² Química UFGO

Objetivo:

Bacupari, *Cheiloclinium cognatum* (Celastraceae, Hippocratoideae) é uma planta de cerrado selecionada por características quimiotaxonômicas. Estudou-se a ação do Bacupari no aparelho reprodutor masculino de ratos.

Métodos e Resultados:

Utilizou-se ratos *Wistar* adultos (95 dias de idade), acima de 350 g, tratados por v.o., durante 35 dias, divididos em: Grupo Tratado (T, n=10) recebeu extrato diclorometânico de folhas de *C. cognatum* na dose de 500 mg/kg/dia e Grupo Controle (C, n=10) que recebeu óleo de soja (veículo). Aos 30 dias de tratamento foi avaliada a eficiência de cruzamento, utilizando ratas em

proestro (40 fêmeas adultas nulíparas, duas por macho), confirmando o cruzamento na manhã seguinte, pela observação de espermatozoides no esfregaço vaginal. Os animais foram mortos para retirada do testículo e epidídimo. Foram determinadas: a produção espermática diária (PED) e, as quantidades e concentrações de espermatozoides, estimadas pela contagem das células em homogeneizados do testículo e epidídimo (unidades: cabeça-corpo e cauda). O ducto deferente foi retirado e lavado com solução formol salina 10% para coleta dos espermatozoides para análise morfológica realizada por esfregaço citológico, foram analisadas alterações de cabeça e cauda. Os resultados foram analisados pelo teste não-paramétrico de Mann-Whitney, $p < 0,05$. O grupo Tratado apresentou diminuição da PED (35%; $p < 0,01$) e na concentração de espermatozoides no testículo e no epidídimo (24% e 36%, respectivamente, $p < 0,05$). Não houve alteração no tempo de trânsito espermático pelo epidídimo e nem na morfologia dos espermatozoides (C: Normais 87,2%; Anormais: 12,8%; T: Normais 85,1%; Anormais: 15,6%). No grupo tratado, houve redução de 20% na eficiência de cruzamento (número de fêmeas com espermatozoides no esfregaço vaginal/grupo).

Conclusões:

Nossos resultados evidenciam que *C. cognatum*, assim como outras espécies da mesma família, apresenta ação antiespermatogênica, sem interferir na dinâmica epididimária.

39.005

ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO COMPONENTE GLANDULAR PROSTÁTICO DE RATOS CUJAS MÃES FORAM SUBMETIDAS À RESTRIÇÃO PROTÉICA E CALÓRICA DURANTE A LACTAÇÃO. ¹Babinski, M. A.; ²Lyra, R.; ²Costa, W. S.; ²Sampaio, F. J. B.; ²Ramos, C. D. F. ¹Morfologia, UFF; ²Anatomia UERJ

Objetivo:

O objetivo deste trabalho foi determinar os efeitos da restrição protéico-calórica durante a lactação nas unidades funcionais da próstata da prole.

Métodos e Resultados:

Ratas Wistar fêmeas, nulíparas, foram mantidas em biotério com temperatura (25 ± 10) e ciclo claro-escuro (7:00-19:00) controlados. No nascimento, as mães foram separadas nos seguintes grupos: (C) grupo controle, com livre acesso à água e à dieta normal (ração comercial com 23% de proteína), (RPC) restrição protéica com livre acesso à água e à dieta hipoprotéica (8% de proteína) e (RC) restrição calórica com livre acesso à água, porém submetido à dieta normal (ração comercial com 23% de proteína) restrita às mesmas quantidades ingeridas no dia anterior pelo grupo em dieta hipoprotéica. Ao desmame (21D), todos os filhotes machos foram sacrificados e a próstata foi excisada. Todas amostras foram fixadas em formol, processadas para inclusão em parafina, coradas com H/E e analisadas pelo software Image-Pro sendo expressos em micrômetros. Os parâmetros histomorfométricos analisados foram: a) área total do lúmen (ATL) ; b) área total do ácino (ATA); c) área do epitélio (AE). Foram medidos todos os ácinos presentes em 5 campos diferentes, de 5 lâminas, perfazendo 25 áreas teste por próstata observadas aleatoriamente. Para a análise estatística foi utilizado ANOVA, considerando um $p =$ ou $< 0,05$ como significativo. A análise histomorfométrica mostrou alterações significativas nos grupos RP e RC quando comparado ao grupo C. O parâmetro ATA (C=5590 \pm 370; RPC=3776 \pm 562; RC=4658 \pm 443) e ATL (C=18122 \pm 875; RPC=16517 \pm 1787; RC=14891 \pm 1319) foram significativamente reduzidos ($p < 0,01$) em ambos os grupos. A área total do epitélio (ATE) não apresentou alteração significativa entre os grupos (C=24187 \pm 1602; RPC=20294 \pm 1412; RC=19549 \pm 1697).

Conclusões:

Nossos resultados mostram que a restrição protéica e energética durante a lactação leva a uma atrofia dos ácinos prostáticos da prole. O decréscimo significativo das áreas e as modificações estruturais do epitélio são relevantes, o que talvez sejam indicativos de alteração nos mecanismos de secreção dos ácinos prostáticos.

39.006

INFLUÊNCIA DA DESNUTRIÇÃO MATERNA DURANTE. ¹Brasil, F. B. ^{**}; ²Marques, J. A.; ¹Faria, T. S. ^{**}; ¹Costa, W. S.; ¹Sampaio, F. J. B.; ¹Ramos, C. F.; ¹Anatomia UERJ; ²IBRAG UERJ

Objetivo:

O objetivo deste trabalho é quantificar, através de método estereológico, o colágeno endometrial da prole na época da puberdade, cujas mães foram submetidas à restrição protéico-calórica durante a lactação.

Métodos e Resultados:

Ratas Wistar fêmeas, nulíparas, foram mantidas em biotério com temperatura (25 ± 10) em ciclo claro-escuro (7:00-19:00) controlados. No nascimento, as mães foram separadas nos seguintes grupos: (C) grupo controle, com livre acesso à água e à dieta normal (ração comercial com 23% de proteína), (RPC) restrição protéico-calórica, com livre acesso à água e à dieta hipoprotéica (8% de proteína) e (RC) restrição calórica com livre acesso à água, porém submetido à dieta normal (ração comercial com 23% de proteína) restrita às mesmas quantidades ingeridas no dia anterior pelo grupo em dieta hipoprotéica. Após o desmame, cinco filhotes fêmeas de cada grupo tiveram livre acesso à dieta comercial e foram sacrificados na época da puberdade com pentobarbital. Somente os animais na fase diestro do ciclo foram utilizados. O útero foi excisado, processado por método de rotina, incluído em parafina e as lâminas coradas com tricrômico de Gomori. A quantificação do colágeno endometrial foi feita utilizando-se o sistema-teste M42. A densidade volumétrica do colágeno endometrial foi significativamente reduzida no grupo RC em relação aos grupos C e RPC (C = $30,30 \pm 0,9$; RPC = $30,09 \pm 0,7$; RC = $26,49 \pm 0,7$. C vs RC $p < 0,01$; RPC vs RC $p < 0,05$).

Conclusões:

Nosso resultado mostra que a densidade volumétrica do colágeno endometrial na época da puberdade foi reduzida apenas pela restrição calórica materna durante o período de lactação.

39.007

5ALPHA-REDUCTASE 2 IN BRAIN SEXUAL DIFFERENTIATION OF MALE RATS. ¹Ribeiro, C. M.; ²Gerardin, D. C. C.; ³Piffer, R. C.; ³Garcia, P. C.; ⁴Kempinas, W. G.; ¹Pereira, O. C. M.; ¹⁶Farmacologia UNESP-Botucatu; ²Farmacologia ICB I-USP; ³Endocrinologia FM-UNESP-Botucatu; ⁴Morfologia UNESP-Botucatu

Objetivo:

The present study was carried out to determine whether 5alpha-reductase 2 (5alpha-R2) metabolic pathway plays a key role in brain sexual differentiation.

Métodos e Resultados:

The perinatal inhibition of 5alpha-R2 by finasteride (20 mg/Kg/day) from gestational day 19 to postnatal day 5 has long-term effects on sexual behavior and reproductive physiology in male pups. Data were compared by Student's t-test (mean \pm SEM) or Mann-Whitney test (median), n = at least 5 animals/group, $p < 0,05$. Sexual maturation assessed by timing of preputial separation was unchanged in treated animals. Finasteride-treated males were able to mate with control females which became pregnant but exhibited increased rate of pre-implantation loss (8.33/15.38 %). The subfertility observed was probably due to abnormally shaped sperm (91.00/84.50% of normal form), since the sperm number was not altered. The plasma testosterone level was enhanced ($1.59 \pm 0.35/4.14 \pm 0.80$ ng/ml). The copulatory potential of all finasteride-treated rats assessed by sexual behavior evaluation (latency to first mount, intromission, and ejaculation; total number of mounts, intromissions, and ejaculations) was not affected. Despite this, 53% of them when pretreated with estradiol and cohabited with sexually experienced control rats showed lordosis and accepted mount of another male, suggesting an incomplete brain defeminization.

Conclusões:

These data indicate that brain sexual differentiation of male rats seems to be mediated also by 5alpha-reduced metabolites, since its inhibition during perinatal period disrupted sexual behavior and reproductive physiology in adult life. Besides, it was shown that the process through which the developing CNS actively acquires the potential to execute male copulatory behavior overlap but may be different and independent from defeminization.

39.008

MOUSE PUBIC SYMPHYSIS DURING PREGNANCY AS A MODEL FOR THE STUDY OF REMODELATION TISSUE. ¹Pinheiro, M. C.; ²Moraes, S. G.; ³Toledo, O. M. S.; ²Joazeiro, P. P. ¹Radiologia USP; ²Histologia e Embriologia, UNICAMP; ³Morfologia, UNIFESP

Objetivo:

The expansion of the pubic symphysis during pregnancy in many mammalian species, including rodents and humans, depends on the growth of the interpubic ligament and its relaxation in late pregnancy stage. This process involves an increase of biosynthesis of the extracellular matrix components and change in the relation between the synthesis and degradation of such components. Thus, the aim of the present study was to describe changes in collagen fibers, elastic system fibers and proteoglycans that occur in the mouse interpubic ligament during pregnancy.

Métodos e Resultados: Pubic symphysis were obtained from pregnant adult female Swiss mice between the 12th and the 18th day of pregnancy. The main characteristics of the collagen fibers and elastic fibers systems were determined by light and electron microscopy. A distinct arrangement of microfibrils, elastin deposition and development of the thin elastic fiber network was observed in interpubic ligament. The elastic system fibers of the extracellular matrix formed a supporting framework that uniformly distributed stress in order to provide adequate interpubic resilience during delivery. The interpubic ligament was formed by tightly packed collagen fibers organized in a crimp undulation structure. In the late pregnancy stage, the bundles of collagen fibers were spread out and crimp disappeared. Concerning to the proteoglycans, the ultrastructural and immunohistochemical study revealed the association of decorin with collagen fibrils, which contributes to an increase in resistance to tensile stresses. Versican is another important proteoglycan found in the interpubic ligament; it is involved in space filling and tissue hydration. It was localized in the interfibrillar space and usually linked to hyaluronic acid forming aggregates. Therefore, versican and hyaluronic acid working as water holding molecules would be responsible for the hydration of the ligament at the end of pregnancy, allowing an increase in resilience.

Conclusões: The rapid ECM remodeling that occurs in mouse pubic symphysis during the pregnancy is responsible for an increase in length and pliancy of the interpubic ligament.

39.009

PRESENÇA DE ATIVIDADES AMINOPEPTIDÁSICAS NO ESPERMA DA CASCAVEL NEOTROPICAL *CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS*. ¹Marinho, C. E.; ²Almeida-Santos, S. M.; ¹Silveira, P. F.; ¹Farmacologia Instituto Butantan; ² Herpetologia, Instituto Butantan

Objetivo: O armazenamento de longo prazo do sêmen e a manutenção de sua capacidade fertilizadora no trato genital da fêmea são ocorrências naturais na cascavel *Crotalus durissus terrificus* Laurenti, 1768. Componentes do sêmen, do vas deferens e/ou do útero e/ou da vagina poderiam atuar na preservação da viabilidade dos espermatozoides. A atividade de aminopeptidase (AP) vem sendo relacionada com a performance reprodutiva de mamíferos machos. O nosso objetivo foi avaliar se atividades AP mais abundantes de tecidos de mamíferos, AP neutra (N) e básica (B), são detectáveis no sêmen total da cascavel *C. d. terrificus*.

Métodos e Resultados: Remoção do vas deferens por laparotomia, seguida de estiramento, compressão e microperfusão com PBS para coleta do sêmen. Imediata ultracentrifugação do sêmen coletado na ausência e presença de Triton X-100 para separação das frações solúvel (S) e de membrana solubilizada (M). Varredura fluorimétrica semi-quantitativa das atividades APN e APB nas frações S e M do sêmen total, utilizando substratos sintéticos derivados de naftilamida. Para testar sua susceptibilidade, a atividade APN foi avaliada na ausência e presença do inibidor puromicina (20µM). Os resultados (picomoles substrato hidrolisado/min/mg proteína, expressos como média±epm) são: APN-S (47524±18937, n=2); APN-M (3385±1195, n=3); APB-S (6402±2821, n=2); APB-M (330±124, n=3). A puromicina inibiu a APN em 26±9% e 26±2% nas frações S e M, respectivamente.

Conclusões: Nossa prospecção preliminar mostra que as atividades APN e APB predominam na fração S (teste t de Student monocaudal, p<0.03). O nível de atividade APB em M é relativamente desprezível. A atividade APN é pouco sensível à puromicina. Esse perfil de atividade AP é similar ao descrito para o sêmen humano (Fernandez et al., Peptides 23:462-468, 2002).

39.010

INFLUÊNCIA DO CONSUMO CRÔNICO DE ETANOL NA ESTRUTURA HISTOLÓGICA DA PRÓSTATA DE RATOS ADULTOS. ¹Siviero, M. P.; ¹Oliveira, P.V.; ¹Verardi, H.; ¹Haas, V.; ²Bavaresco, C. S.; ¹Scortegagna, E. ¹Histologia e Embriologia UPF; ²Bioquímica UFRGS

Objetivo: O alcoolismo é caracterizado pela ingestão excessiva de etanol a qual, em altas doses, afeta negativamente todos os sistemas orgânicos e, particularmente, o sistema endócrino. Neste

contexto, sabe-se que a ingestão crônica de etanol provoca uma redução dos níveis plasmáticos de testosterona acompanhada de atrofia testicular. A próstata é uma glândula dependente de estímulos induzidos por testosterona para a manutenção de suas características morfológicas e funcionais. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar as alterações morfológicas na próstata de ratos adultos submetidos a um modelo experimental de alcoolismo crônico

Métodos e Resultados:

Doze ratos Wistar adultos (260g) foram divididos em dois grupos: Controle (ingestão de água durante todo o período experimental) e Teste (receberam uma dose diária de etanol 38° GL através de sonda esofágica, durante 135 dias). Após o período experimental, os animais foram sacrificados; as próstatas retiradas, fixadas em formol, embebidas em Paraplast e cortadas em micrótomo (7 µm) para histologia. Os cortes foram corados com hematoxilina e eosina para análise geral das células e do estroma prostático e pelo método tricrômico de Mallory para evidênciação do tecido conjuntivo. Os resultados serão apresentados de forma descritiva

Conclusões: A ingestão crônica de etanol provocou hiperplasia das células epiteliais, com possível rompimento da membrana basal, assim como alterações indicativas da presença de processo inflamatório. Estudos posteriores devem ser realizados a fim de confirmar se as alterações histológicas apresentadas nesse estudo ocorrem também na condição humana.

39.011

HIPERTENSÃO RENOVASCULAR E FUNÇÃO REPRODUTIVA EM RATAS. Ribeiro, R. A.; Lucion, A. B.; Sanvitto, G. L. Fisiologia UFRGS

Objetivo:

O sistema renina-angiotensina possui papel importante na regulação da pressão arterial durante o desenvolvimento da hipertensão renovascular. Além de seu efeito vasopressor a angiotensina II (Ang II) possui potencial importância na fisiologia reprodutiva. Assim, nosso objetivo foi verificar os efeitos da hipertensão renovascular sobre o comportamento sexual e ovulação em ratas.

Métodos e Resultados:

Ratas Wistar com 90 dias de idade (190-250g), e que apresentavam no mínimo três ciclos estrais regulares foram divididas em dois grupos: 2 rins/1 clipe (2K1C n=16) e controle (CON n=16). Os animais foram anestesiados com injeção i.p. de xilazina e ketamina (100 mg/kg/rata), para laparotomia com dissecação da artéria renal esquerda com implantação de um clipe de prata de 0,15mm de diâmetro, no grupo 2K1C. Para o CON os mesmos procedimentos foram realizados com exceção da implantação do clipe. Oito dias após cirurgia, a pressão arterial sistólica (PAS) e frequência cardíaca (FC) foram verificadas por pletismografia caudal. Na noite do segundo proestro após os registros da PAS e FC, o comportamento sexual foi registrado, e na manhã seguinte (estro), o número de óvulos foi contado. Os resultados foram expressos como média±EPM, e analisados por teste t de *Student* ($p < 0,05$). A PAS e FC foram maiores nas ratas 2K1C (PAS=172,50±3,15; FC=407,20±14,68), em relação ao grupo CON (PAS=114,6±2,23; FC=356,10±5,16). Ratas 2K1C apresentaram redução na frequência de lordose (18,50±2,33) quando comparadas com as CON (27,44±2,26). O quociente de lordose (nº de lordose/nº de monta) em ratas 2K1C foi significativamente menor que o verificado no grupo CON (2K1C=0,63±0,08; CON=0,91±0,02). Além disso, as ratas hipertensas tiveram redução no número de óvulos (6,56±0,83) comparado ao das CON (11,44±0,40).

Conclusões:

Os resultados obtidos demonstram que ratas com hipertensão renovascular tiveram redução na função reprodutiva. Esta redução pode ser secundária ao aumento de pressão e/ou ao aumento de Ang II que ocorre neste modelo.

39.012

CLONING AND EXPRESSION OF DELETED IN AZOOSPERMIA RNA-BINDING REGION. Affonso, R.; Costa, H.; Silva, I. D. C. G. Ginecologia UNIFESP

Objetivo:

Deletions of the azoospermia factors on the Y chromosome long arm are an important cause of male infertility. The region contain a single-copy gene named DAZ (for deleted in azoospermia) which is transcribed in the adult testis and appears to encode an RNA-binding protein. In the present work we performed studies on the RNA-binding region (DAZrrrm).

Métodos e Resultados:

E. coli BL21(DE3) cells were transformed by the expression vector petTOPO101 (Invitrogen) and protein over expression occurred in presence of 1.0 mM IPTG for three hours. Inclusion bodies of DAZrrm protein were isolated, solubilized in 8M urea and purified by Ni-NTA affinity column (Qiagen). The refolding of recombinant protein was then achieved by dialysis against 20 mM Tris-HCl pH 7.5 buffer. SDS-PAGE followed by mass spectrometry was used to verify the expression of the protein. The conformation of the recombinant protein was analyzed by Dichroism Circular (Spectropolarimeter J-810, Jasco).

Conclusões:

The DAZrrm protein was analyzed by MALDI-TOF mass spectrometry (Amersham-GE) in which its identity was confirmed. A preliminary study by circular dichroism suggests that DAZrrm is stable in the range 5 to 15°C in pH 7.5.

39.013

EFEITO DO COMPORTAMENTO MATERNAL SOBRE A FUNÇÃO REPRODUTIVA EM RATAS FÊMEAS. Uriarte, N.; Rosa, X. F.; Lucion, A. B. Departamento de Fisiologia, UFRGS

Objetivo: A manipulação neonatal reduz a capacidade reprodutiva das fêmeas, diminuindo o comportamento sexual, ovulação e a liberação de gonadotrofinas e hormônios gonadais. Sabe-se que a manipulação neonatal pode induzir alterações no comportamento maternal das mães de filhotes manipulados. Assim, nosso objetivo foi avaliar se variações naturais do comportamento maternal recebido pelos filhotes afetam sua função reprodutiva quando adultos.

Métodos e Resultados: O comportamento maternal das fêmeas (n=40) foi registrado durante os 8 primeiros dias pós-parto em 4 sessões diárias de observação (início às 10:00, 13:00, 16:00 e 18:30 hs). Em cada sessão o comportamento da mãe foi registrado em 25 observações pontuais a cada 3 min., totalizando 100 registros diários por rata (25 registros x 4 sessões). As mães foram assim classificadas segundo a frequência de lamber os filhotes e divididas em dois grupos: mães High (n=13), com frequências acima do quartil superior da distribuição desse comportamento na população e mães Low (n=10), com frequências abaixo do quartil inferior. A função reprodutiva de fêmeas filhas dessas mães foi avaliada aos 90 dias de idade. Na noite do proestro, o comportamento sexual dessas fêmeas foi registrado. Na manhã seguinte (estro) os ovidutos foram retirados para contagem do número de óvulos. Os dados (médias±EPM) foram comparados pelo teste t-Student (p<0,05). As fêmeas filhas de mães High apresentaram uma diminuição não significativa no quociente de lordose (posturas de lordose/número de montas) quando comparadas com ratas filhas de mães Low (0,42±0,09 vs. 0,60±0,09) e um número de óvulos significativamente menor que as filhas de mães Low (7,7±0,5 vs. 10,0±0,5). Conclusão: O comportamento maternal excessivo recebido durante os primeiros dias de vida pode diminuir a função reprodutiva das fêmeas. Estes resultados sugerem que os efeitos exercidos pela manipulação neonatal seriam devidos ao aumento do comportamento de lambida nas mães de filhotes manipulados.

Conclusões: O comportamento maternal excessivo recebido durante os primeiros dias de vida pode diminuir a função reprodutiva das fêmeas. Estes resultados sugerem que os efeitos exercidos pela manipulação neonatal seriam devidos ao aumento do comportamento de lambida nas mães de filhotes manipulados.

39.014

INFLUÊNCIA DA RESTRIÇÃO ALIMENTAR DURANTE A LACTAÇÃO NA EXPRESSÃO DO RNA MENSAGEIRO DA ENZIMA AROMATASE NO TESTÍCULO DE RATOS AO DESMAME. Lopes, D. R.; Lima, F.V.; Santos, A. M. S.; Carreau, S.; Sampaio, F. J. B.; Ramos, C. F. Anatomia Humana UERJ

Objetivo:

Avaliar os efeitos da restrição protéico-calórica durante a lactação na expressão da enzima aromatase no testículo e nas concentrações séricas e teciduais de testosterona e estradiol da prole, aos 21 dias de idade.

Métodos e Resultados:

Ratas Wistar foram divididas em 3 grupos no dia do nascimento da ninhada: controle (C)-23% de proteína; restrição protéico-calórica (RPC)-8% de proteína; restrição calórica (RC)-23% de proteína, restrita às mesmas quantidades ingerida pelo grupo RPC. Ao final da lactação 7 filhotes

de cada grupo foram sacrificados. Os testículos foram retirados para análise da enzima aromatase por RT-PCR e determinação da concentração tecidual de testosterona por RIA. O sangue foi retirado para análise das concentrações hormonais de testosterona e estradiol por RIA. Foi utilizada análise de variância univariada seguida do teste de Newman Keuls para análise dos resultados. Os dados são expressos como média \pm erro padrão. Resultados: Em relação aos animais do grupo controle, os animais dos grupos RPC e RC apresentaram aumento significativo na concentração sérica (C=0,09 \pm 0,01, RPC=0,45 \pm 0,04, RC=0,15 \pm 0,03; n=7, p<0,01) e intratesticular de testosterona (C=2,1 \pm 0,43, RPC=6,5 \pm 0,7, RC=13 \pm 2,3; n=7, p<0,01); e redução significativa na concentração sérica de estradiol (C=74 \pm 4,6, RPC=49 \pm 3,2, RC=60 \pm 5,5; n=7, p<0,01) e na expressão da enzima aromatase (C=0,79 \pm 0,02; RPC=0,25 \pm 0,09; RC=0,21 \pm 0,05; n=3, p<0,01).

Conclusões:

Podemos concluir que a restrição alimentar durante a lactação altera a função endócrina testicular da prole, levando a alterações nas concentrações séricas dos hormônios sexuais, provavelmente por redução da expressão da enzima aromatase, responsável pela conversão de testosterona a estradiol.

39.015

MORFOLOGIA E MORFOMETRIA DE FIBRAS MUSCULARES TIPO I E II DURANTE A GESTAÇÃO. ¹Mello, E. M.; ²Brito, M. K. M.**; ³Giacometti, J. A.; ³dal Pai, V.; ¹ Bioengenharia EESC-USP; ²Fisioterapia CT-UNESP - Presidente Prudente; ³Físico-Química Biológica UNESP- Presidente Prudente

Objetivo:

Avaliar no músculo reto abdominal, características morfológicas e o grau de hipertrofia das fibras tipo I e II em diferentes estágios de gestação.

Métodos e Resultados:

foram utilizadas 5 cadelas (*Canis familiaris*), sem raça definida, virgens, com 1 a 1,5 anos. Sob anestesia, foram removidas biópsias musculares no período pré-gestacional, após 30 e 60 dias de prenhez e 30 do parto e congeladas em n-Hexana. Foi realizado o estudo das alterações de fibras musculares do músculo reto abdominal de cachorras durante a gestação com lâminas coradas por HE, e morfometria pela coloração de ATPase miofibrilar (m-ATPase)., podendo se identificar as fibras musculares de contração rápida (tipo I) e lenta (tipo II). A gestação é um estímulo fisiológico crônico sobre as fibras musculares e a mensuração dessas fibras fornece informações se o estímulo citado acomete seletivamente este ou aquele tipo de fibra. Foram mensuradas 500 fibras para cada fase de gestação das fibras I e II. As fibras na pré-gestação e 30 dias de prenhez apresentaram-se com diferentes diâmetros, contornos poligonais, um ou mais núcleos periféricos. Em 60 dias as fibras mostram contornos polimórficos e diâmetros aumentados e em 30 dias pós-parto, o tecido foi similar ao pré-gestacional. Com o método ANOVA ONE WAY, com nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), avaliaram-se os diâmetros (μ m) das fibras I e II do músculo, que apresentaram os seguintes resultados que eram esparados:

Fases	Fibras I	F	p	II	F	p
0-30	34,9 \pm 8,7 - 32,9 \pm 7,07	16,1	6,1	41,0 \pm 9,6 - 36,0 \pm 6,8	89,0	0

0-60	34,9±8,7 - 38,9±8,18	55,6	1,9	41,0±9,6 - 42,4±8,3	6,5	0
0-90	34,9±8,7 - 39,4±5,73	90,7	0	41,0±9,6 - 42,4±7,3	6,8	0
30-60	32,9±7,07 - 38,9±8,18	155,8	0	36,0±6,8 - 42,4±8,3	179,6	0
30-90	32,9±7,07 - 39,4±5,73	253,9	0	36,0±6,8 - 42,4±7,3	205,2	0
60-90	38,9±8,18 - 39,4±5,73	1,1	0,2	42,4±8,3 - 42,4±7,3	0	0,9

Conclusões:

Na gestação devido ao estiramento das fibras ocorre hipertrofia das fibras tipo I, por serem de contração rápida, resultado da sobrecarga no músculo pelo peso dos fetos, o que não acontece com as tipo II devido a contração lenta, aumentam pouco o diâmetro. A redução no diâmetro das fibras I e II no período de 0 a 30 dias está associada à adaptação das fibras a elevada atividade metabólica oxidativa.

39.016

RECOMBINANT HUMAN GLANDULAR KALLIKREIN: PURIFICATION AND CRYSTALLIZATION.

¹Calixto, V. C.; ¹Pesquero, J. L.; ²Deperthes, D.; ³Pesquero, J. B.; ¹Araújo, R. C.; ¹Chagas, J. R. ¹CIIB-UMC; ²Urologia DHUV Lausanne, Suíça; ³Biofísica, UNIFESP

Objetivo:

hK2, an enzyme that belongs to the serine proteinase family is highly expressed in the prostate. It is able to liberate the prostate specific antigen (PSA) from zymogen. PSA is a marker for prostatic cancer, even with limitations for a precise diagnostic. hK2 has, therefore, been studied as a putative marker of prostatic pathologies providing, with PSA, a better tool for diagnosis of these diseases. For structural and kinetic studies a heterologous expression system, able to produce milligrams of protein was established using *Pichia pastoris*.

Métodos e Resultados:

hK2 has been expressed in *Pichia* transformed with pPICZa plasmid inserted with the corresponding cDNA. A band of 32 kDa that was differentially expressed was detected on polyacrylamide gel (PAGE). For detection of protein in culture medium, western blotting using hK2 specific monoclonal antibody was used. Enzymatic activity was carried out by fluorometric assay using ZFR-MCA as substrate. The supernatant of fermentation was 10 times concentrated using the QuickStand system (Amersham), and loaded in a Superdex HR-200 column (AKTA system, Amersham) equilibrated with 50 mM sodium phosphate buffer pH 7.0. hK2 eluted electrophoretically pure and enzymatically active. The enzyme was concentrated for crystallography and the Crystal Screen HT kit was used for refinement of salt and pH conditions. Crystals around 50-150 µm were obtained at high value pH and low salt concentrations.

Conclusões:

Active recombinant hK2 was produced and at specific ionic strength and pH, crystals able for crystallography were obtained. The production of a monoclonal antibody probably will permit us to establish a diagnose kit.

39.017

THE INFLUENCE OF THE MALE PRESENCE AND NUTRITION ON OVARIAN STATUS AND SERUM LEVELS OF PROGESTERONE AND OESTRADIOL IN OSTRICHES (*STRUTHIO CAMELUS*). ¹Mangiaterra, M. B. B. C. D.; ²Cogliati, B.; ³Gonçalves Neto, M. C. ¹Ciências Morfológicas USP ²FMVZ-USP; ³Anatomia USP

Objetivo: Among ostriches, male presence can influence the reproductive behavior of the female, inducing the start of reproductive cycle and consequently increasing reproductive index. The aim of this study is to evaluate influence of the male ostrich on ovarian status and on hormonal levels combined with different rations.

Métodos e Resultados: Seventy-five female ostriches of around 2 years of age from the Avestruzes Sarapuí farm were studied. Initially, all animals were analyzed through ultrasound to show that their ovary was inactive. Animals were divided into 4 groups: Group I (n=17) received a reproduction ration. Group II (n=19) received the same reproduction ration, but in the presence of males (male/female rate 1:2); Group III (n=19) received a maintenance ration and Group IV (n=20) received the same maintenance ration in the presence of males (same rate). After 30 days animals were analyzed again through ultrasound and blood samples were collected from the jugular vein to obtain levels of progesterone and oestradiol (by chemiluminescence technique). Examination through ultrasound showed in group I that 29.41% of animals presented an active ovary, in group II, 36.84% of animals presented an active ovary, but these results did not show significant statistical

differences. Group III and IV were analyzed and all animals presented inactive ovaries. Serum levels of progesterone and oestradiol did not show significant statistical differences between animals with active ovaries for the groups.

Conclusões: We concluded that females which received the reproduction ration presented a greater level of ovarian activity and were consequently more prone to initiate the oviposition. However, the male presence did not represent a significant influence over the animals' ovarian status.