

metidos a um fracionamento e as frações submetidas a novos testes. As substâncias presentes nas frações ativas serão isoladas por métodos cromatográficos e enviadas para novos ensaios. Aquelas que apresentarem atividade serão identificadas por métodos espectrofotométricos, tais como: ressonância magnética nuclear de carbono-13 e hidrogênio, infravermelho, ultravioleta e massa. Os princípios ativos isolados e identificados serão enviados para estudos complementares no painel de 60 linhagens tumorais humanas do programa de seleção de novas drogas do National Cancer Institute (EUA).

809

Estudo etnofarmacológico na Floresta Tropical Atlântica, SP, e triagem farmacológica de espécies nativas com atividade analgésica e antiulcerogênica

Luiz Claudio Di Stasi

Instituto de Biociências de Botucatu
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Processo 1995/09512-4
Vigência: 1/4/1997 a 31/3/2001

O projeto propõe inicialmente a realização de um levantamento etnofarmacológico na região da Floresta Tropical Atlântica, SP, voltado à preservação da diversidade cultural relacionada à medicina tradicional local e como subsídio para a seleção de espécies medicinais para estudos fitoquímicos e farmacológicos. Em uma segunda etapa, propõe a avaliação das atividades analgésica e antiulcerogênica, determinação da toxicidade (DI50) e do perfil fotoquímico de espécies medicinais nativas, como subsídio para a realização de estudos dirigidos à obtenção de novas substâncias ativas e/ou preparações tradicionais padronizadas. Após a realização das etapas de pesquisa etnofarmacológica, farmacológica e fitoquímica, o projeto propõe atividades de extensão de serviços para a comunidade local.

810

Distúrbios do sono em condições dolorosas crônicas

Suely Steinschreiber Roizenblatt

Escola Paulista de Medicina
Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)
Processo 1995/09421-9
Vigência: 1/9/1996 a 31/8/2000

A associação entre fibromialgia e distúrbios do sono já foi estabelecida. O presente estudo visa caracterizar os distúrbios do sono em condições dolorosas crônicas, como as síndromes de amplificação dolorosas difusas e regionais e na artrite reumatoide por meio da polissonografia, da análise espectral do EEG noturno e do mapeamento cere-

bral. Os participantes e seus controles serão submetidos a uma avaliação clínica, questionário sobre o sono, avaliação psicológica, exame físico geral e pesquisa de pontos dolorosos. Serão realizados o polissonograma do sono total e o mapeamento cerebral. A partir dos dados obtidos em condições basais será feita a avaliação da influência de medidas terapêuticas medicamentosas e não medicamentosas sobre os parâmetros do sono.

811

Sinalização celular em melanócitos humanos normais e transformados: hormônios melanotrópicos e radiação ultravioleta

Alice Reis de Oliveira

Instituto de Biociências
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 1995/09390-6
Vigência: 1/2/1997 a 31/12/1998

A mudança de cor em mamíferos depende da proliferação celular e da produção de pigmentos em células especializadas, os melanócitos. As respostas são lentas e mediadas por uma cascata de eventos que regulam a diferenciação e a proliferação dos melanócitos. A célula pigmentar apresenta aspectos de grande interesse como modelo de diferenciação celular. No câncer, incluindo-se melanomas, os mecanismos que controlam o crescimento e a diferenciação celular são desregulados. O entendimento dos processos que causam essas perturbações é de fundamental importância não só para a terapêutica, como para o conhecimento dos mecanismos que embasam a proliferação celular e a expressão fenotípica em células normais. No presente projeto de pesquisa, a proposta é avaliar os processos de diferenciação e proliferação celulares modulados pelos hormônios melanotrópicos α -MSH, MCH, catecolaminas e melatonina, focalizando algumas vias de sinalização intracelular recrutadas pela ativação hormonal e UV, tanto em melanócitos normais como em linhagens de melanomas humanos. Em resposta a hormônios melanotrópicos associados ou não com radiação UVB, serão avaliados: 1) proliferação e diferenciação, esta evidenciada pela melanogênese, de melanócitos normais e transformados; 2) regulação do ciclo celular, pela análise da expressão e atividade de ciclinas, quinases associadas a ciclinas (CDKs) e inibidores dessas quinases (CKIs, p21, p16 e p27), pRB e p53; 3) padrão de expressão de isoformas de PKC e PKA; 4) padrão de fosforilação de tirosina e serina/treonina de proteínas celulares, com a perspectiva de identificar substratos das vias de transdução de sinais desencadeados por esses hormônios. Serão usadas culturas de melanócitos humanos normais e transformados, tratadas com α -MSH, MCH, catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) e melatonina. O efeito desses hormônios na expressão fenotípica e na proliferação celular será avaliado, respectivamente, por determinação de atividade

tirosinásica/conteúdo de melanina e de curvas de crescimento. A expressão de genes reguladores do ciclo celular (ciclina, seus ativadores e inibidores, p53 e pRB) será avaliada por *Northern blot*, *Western blot* ou imunoprecipitação, dependendo da disponibilidade de anticorpos ou sondas específicas. Quando pertinente, a atividade dessas proteínas será analisada com ensaio de quinase. A caracterização de PKs será feita inicialmente pela identificação das isoformas expressas em melanócitos e melanomas. Serão construídos oligonucleotídeos degenerados a partir de regiões conservadas da proteína. Com esses oligonucleotídeos, pretende-se identificar, utilizando as técnicas de PCR e *Northern blot*, as formas de PKs existentes em melanócitos normais e transformados e a modulação dessa expressão por hormônios melanotrópicos. O padrão de fosforilação de proteínas celulares será avaliado por *immunoblot* com anticorpos anti-PTYR e PSER, ou por incorporação com fosfato inorgânico marcado radioativamente com ^{32}P . As proteínas que se mostrarem diferencialmente fosforiladas devido ao tratamento com o hormônio serão purificadas por cromatografia de afinidade com anticorpos anti-Ptyr ou Pser. A proteína purificada será submetida a *immunoblot* com anticorpos anti-Ptyr ou Pser para confirmação de que se trata de uma fosfoproteína e com outros anticorpos conhecidos, na tentativa de sua identificação.

812

Estudo da influência do omeprazol na secreção de metronidazol, claritromicina, amoxicilina e ampicilina em suco gástrico de voluntários *Helicobacter pylori* positivos ou negativos

José Pedrazzoli Júnior

Faculdade de Ciências Médicas de Bragança Paulista
Universidade São Francisco (USF)
Processo 1995/09303-6
Vigência: 1/9/1996 a 31/8/2000

A implicação da bactéria *Helicobacter pylori* na etiopatogenia de doenças gastroduodenais, como a gastrite antral crônica e doença ulcerosa péptica, levou a um novo enfoque no tratamento clínico dessas moléstias. Assim, a prioridade terapêutica passou a ser a erradicação desse microrganismo, capaz de alterar a história natural da úlcera péptica, com redução significativa das recidivas ulceroas características dessa afecção. Como em toda doença bacteriana, antimicrobianos têm sido utilizados em associação com bloqueadores de secreção ácida no tratamento da doença ulcerosa, mas fatores importantes de farmacocinética permanecem ainda desconhecidos, como, por exemplo: efeito da inflamação crônica da mucosa antral gástrica causada pelo *H. pylori* na secreção de antimicrobianos no suco gástrico; importância da concentração de antibióticos utilizados no suco gástrico para a erradicação do *H. pylori*; efeito do bloqueio de secreção ácida na secre-

ção dos antibióticos utilizados no suco gástrico. Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a importância do bloqueio da secreção ácida na concentração de antimicrobianos no suco gástrico em voluntários sadios comparado com portadores de gastrite antral causada pelo *H. pylori*. Os antimicrobianos escolhidos foram a claritromicina, o metronidazol, a amoxicilina e a ampicilina. Os três primeiros são amplamente utilizados no tratamento dessa bactéria, enquanto a ampicilina apesar de pertencer à mesma família da amoxicilina não apresenta efeito *in vivo* contra o *Helicobacter pylori*. O bloqueador de secreção ácida escolhido foi o omeprazol, que inibe a bomba de prótons, responsável pelo passo final da secreção ácida gástrica, diminuindo a mesma em mais de 90%. Os antimicrobianos serão administrados em dose única por via endovenosa, em voluntários sadios e em pacientes portadores de gastrite antral causada pelo *Helicobacter pylori*, diagnosticada por endoscopia e biópsia, antes e durante bloqueio de secreção ácida. Os antimicrobianos serão dosados no plasma, na saliva e em suco gástrico antes, durante e por três horas após a administração dos mesmos. O método a ser utilizado para a determinação da drogas nos diversos fluidos corporais será o de cromatografia líquida de alta pressão (HPLC).

813

Estudo da neuroquímica de processos aversivos e antinociceptivos em estruturas encefálicas, utilizando microeletrodos na determinação de neurotransmissores *in vitro* e *in vivo*

Luís Antônio da Silva

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 1995/08418-4
Vigência: 1/9/1996 a 31/8/1999

Uma constante preocupação dos pesquisadores interessados na neurobiologia do comportamento de defesa consiste em investigar as bases neuroanatômicas, neurofisiológicas e neuroquímicas dos processos aversivos e antinociceptivos. Este trabalho pretende preencher algumas dessas lacunas, na medida em que procura integrar técnicas morfológicas, psicofarmacológicas e eletroquímicas na determinação da gênese e elaboração das reações de defesa em nível mesencefálico. Em uma primeira fase do experimento, serão confeccionados microeletrodos para a determinação de neurotransmissores *in vitro* e *in vivo*, por meio de voltametria cíclica e de pulso diferencial. Esses eletrodos serão testados em microcélulas eletroquímicas, onde serão rastreados diversos mediadores químicos isoladamente ou em conjunto. Obtendo-se uma boa sensibilidade, seu desempenho será testado em *slices* cerebrais, onde serão rastreados os mediadores neurais diretamente em algumas estruturas do sistema cerebral aversivo. A fim de monitorar morfológicamente essa investigação neuro-