na CSI apresentavam sérios déficits comportamentais, demonstrando dificuldades de orientação e captura da presa quando novamente expostos às baratas; um indicativo de que a CSI seja um setor-chave na predação. Em seguida, verificou-se pelo método do *Phaseolus vulgaris* quais os alvos de projeção da CSI e as possíveis vias de atuação desse setor durante a predação em ratos. E, pelo método do *fluoro-gold*, foram verificados quais setores neurais aferem a CSI. Nossos dados indicam que a CSI modula o comportamento predatório por meio de duas vias neurais: uma via descendente reticular, que pode exercer controle direto sobre o movimento dos olhos, orofacial e dos membros dianteiros, e uma via ascendente que pode exercer modulação da resposta motora durante a predação por meio de sua influência no circuito dos gânglios da base e do cerebelo. Ainda, a CSI recebe informações principalmente referentes à sensibilidade tátil da região orofacial e das vibriças, bem como de estruturas ligadas ao controle motor. Os experimentos de estimulação química no colículo superior associados aos registros eletrofisiológicos deram indícios de uma via neural direta para a substância *nigra pars compacta*, originando-se na CSI; assim, realizou-se um estudo sistemático das projeções do CS e grupos dopaminérgicos mesencefálicos, utilizando o método da BDA (dextranamina biotinilada), *Phaseolus vulgaris* e a técnica de microscopia eletrônica, que evidenciou relações eletrofisiológicas e hodológicas topográficas diretas de células coliculares e substância negra compacta. Mchaffie *et al.* propõem a existência de alças subcorticais fechadas paralelas filogeneticamente antigas entre os gânglios da base e estruturas sensorimotoras do tronco encefálico, como o colículo superior. Assim, na tentativa de melhor compreender o papel do colículo superior, pretende-se avaliar aspectos funcionais das conexões entre o colículo superior e gânglios da base durante a predação, uma vez que não há uma visão integral da anatomia funcional tetotalâmica. Para tal, serão realizados experimentos de manipulações farmacológicas no colículo superior e núcleos-relês talâmicos que fornecem os principais impulsos excitatórios diretos ao estriado; simultaneamente, será observado o comportamento desses animais quando expostos a baratas. Os setores talâmicos a manipular serão definidos a partir de injeções do rastreador anterógrado PHA-L no CSI e do padrão sistemático de distribuição das respectivas fibras, anterogradamente marcadas no tálamo, associados à imunodeteção da proteína Fos após a caça de baratas. Ainda pretende-se avaliar alguns possíveis neurotransmissores envolvidos nas projeções do CSI para o tálamo no contexto da predação; para tal, serão realizadas injeções de rastreador retrógrado (CTb) em alvos talâmicos previamente definidos e verificados o padrão de distribuição de células marcadas no CSI associadas à detecção da proteína Fos e neurofenótipos no CSI no contexto da predação. Para finalizar, pretende-se avaliar se os neurônios do CSI ativos durante a predação projetam-se em padrões topo-

graficamente organizados para o tálamo e substância negra compacta; para tal, serão utilizadas técnicas de imunofluorescência para detecção dos rastreadores retrógrados CTb, *fluoro-gold* e proteína Fos.

824

Participação do fator de crescimento neuronal (NGF) e seus possíveis mecanismos de ação na instalação da hiperalgesia orofacial

Adriana Pelegrini da Silva

Faculdade de Odontologia de Piracicaba
Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)
Processo 2004/12356-5
Vigência: 1/8/2005 a 31/7/2007

A NGF é uma molécula-chave na hiperalgesia inflamatória. Já a participação do NGF na hiperalgesia orofacial é pouco documentada, havendo, no entanto, evidências de sua importância nesse processo, como observado com o aparecimento de alodinia mecânica e hiperalgesia orofacial após injeção local de NGF em humanos. Os mecanismos moleculares envolvidos na hiperalgesia produzida pelo NGF não estão esclarecidos, podendo envolver ativação da via ras/MEK, da fosfolipase C e/ou do fosfatidilinositol-3-quinase. Outras vias indiretas, como aumento no AMPc por inibição da fosfodiesterase-4, também podem contribuir para a instalação da hiperalgesia decorrente de ativação de receptores trk pelo NGF. A injeção intraplantar de carragenina produz aumento de fator de crescimento derivado do cérebro (BDNF) no gânglio da raiz dorsal, aumento este inibido pelo pré-tratamento dos animais com anti-NGF, indicando a participação da via NGF/BDNF na indução dessa hipernocicepção. O estudo dos mecanismos celulares envolvidos na atividade hipernociceptiva de determinado agente álgico torna-se assim importante, a medida em que permite identificar possíveis vias inibitórias e estimulatórias envolvidas na atividade da fibra sensorial nociceptiva. Com base no exposto acima, propõe-se aqui estudar a participação do NGF em diferentes modelos de dor orofacial e avaliar os possíveis mecanismos celulares envolvidos na hipernocicepção desencadeada pelo aferente primário.

825

Avaliação da expressão de proteínas transportadoras de glicose (*gluts*) central e periféricamente em ratos resistentes à insulina

Patrícia Monteiro Seraphim

Faculdade de Ciências e Tecnologia de Presidente Prudente
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Processo 2004/10130-0
Vigência: 1/12/2004 a 31/8/2008

Um dos principais mecanismos geradores de resistência à insulina é a alteração do transporte de glicose por via da expressão gênica alterada do Glut4 (proteína transportadora de glicose sensível à ação da insulina) em tecidos musculares e adiposos. Em alguns casos, a alteração na expressão de Glut4 pode ser compensada com aumentos na expressão de Glut1 (isoforma transportadora de glicose no estado basal). Vários autores têm encontrado diferenças significativas nos conteúdos de mRNA e de proteína Glut4 em estados de resistência à insulina, sugerindo um mecanismo de regulação pós-transcricional do gene que é estado e tecido-específico. Agudamente, pode-se induzir um quadro de resistência insulínica por meio da imposição de jejum alimentar. Já foi demonstrado em ratos que o jejum de 48 horas está associado a uma rápida e progressiva redução na atividade de transporte de glicose insulino-estimulada em células adiposas, em decorrência de alterações tanto no número de transportadores de glicose como em sua atividade intrínseca. Assim, a primeira questão do projeto concentra-se em avaliar o controle pós-transcricional da expressão de Glut1 e de Glut4 em tecido muscular esquelético de ratos jejuados por 48 horas, constituindo a análise periférica da expressão de Gluts. Sabe-se que o cérebro requer constante transporte de glicose da circulação periférica para as células neuronais. Ele tem uma participação fundamental no monitoramento da glicemia por meio de neurônios glicosensíveis cerebrais, próximos a áreas do terceiro ventrículo e hipotálamo. Nesses neurônios, os transportadores de glicose (Gluts) devem ser importantes para permissão da passagem de glicose para áreas cerebrais envolvidas no controle de ingestão alimentar e, portanto, informando sobre estados glicêmicos e ajudando no manejo da homeostasia glicídica. O segundo objetivo do projeto consiste em avaliar a expressão de Glut1 e de Glut4 em áreas hipotalâmicas envolvidas no controle de ingestão alimentar: núcleo arqueado, área hipotalâmica lateral, área pré-fornicial adjacente ao fórnix, hipotálamo ventromedial de animais jejuados, para melhor compreensão da participação central dessas proteínas transportadoras de glicose na resistência à insulina. Assim, as técnicas utilizadas para os dois propósitos envolverão: 1) quantificação dos conteúdos de mRNA (RT-PCR) e de proteína (*Western blotting*) do Glut1 e do Glut4 em músculo esquelético solear; 2) avaliação da eficiência de tradução (ensaio *in vitro*) dos Gluts; 3) avaliação da estabilidade das moléculas de mRNA dos Gluts (ensaio com RNase H); 4) quantificação do conteúdo de PABP (*Western blotting*); 5) localização da proteína PABP no citoesqueleto da célula (análise por imunistoquímica); 6) avaliação da organização estrutural do citoesqueleto da célula (análise imunistoquímica da actina-F); 7) semi-quantificação do conteúdo de mRNA de Glut1 e de Glut4 (RT-PCR) em áreas encefálicas.

826

Caracterização da lesão muscular (apoptose ou necrose) no músculo de ratos frente ao exercício físico intenso e à resposta de defesa e reparo

Rozangela Verlengia

Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Metodista de Piracicaba (Unimep)

Processo 2004/06643-1

Vigência: 1/11/2004 a 31/12/2008

A apoptose é normalmente observada em células imaturas. Já a necrose tem sido associada ao trauma e à injúria celular. O exercício físico extenuante e/ou agudo promove danos às células. A apoptose tem sido observada após o exercício físico com a presença de DNA fragmento e alterações nos genes e proteínas pró e antiapoptóticos. Por outro lado, o processo de necrose também tem sido descrito estar presente no músculo após o exercício extenuante. Em resposta ao dano muscular, alguns mecanismos são desencadeados, entre eles o aumento na concentração das enzimas antioxidantes, nas enzimas de choque térmico e nas citocinas. Contudo, não é claro se o processo de apoptose ou necrose, quando presentes, ocorrem isoladamente ou se são processos que se alternam em resposta à lesão muscular e se esses processos são restritos aos mecanismos de reparo ou se fazem parte da patogênese do dano muscular. Assim, o presente estudo tem como objetivo investigar a presença de apoptose ou necrose após a lesão do músculo esquelético de rato e humanos sob os aspectos ultraestrutural (microscopia eletrônica) e molecular (proteínas e genes) após exercício extenuante, bem como a presença da resposta de defesa reparo desencadeada (enzimas antioxidantes e enzimas de choque térmico) e uma avaliação do perfil das citocinas correlacionando os seus níveis com a resposta à lesão – estimulando ou inibindo.

827

Efeito do treinamento físico na cardiomiopatia induzida por hiperatividade simpática em camundongos *knockout* para os receptores alfa 2a e alfa 2a e alfa 2c adrenérgicos

Patrícia Chakur Brum

Escola de Educação Física e Esporte

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2002/04588-8

Vigência: 1/2/2003 a 31/5/2007

O coração é muito sensível aos efeitos tóxicos das catecolaminas e o aumento crônico na atividade simpática parece estar envolvido na insuficiência cardíaca em humanos. Recentemente, em pós-doutorado realizado na Universidade de Stanford, CA, EUA, descrevemos que a