

303

BINDING DE NALOXONE EM MEMBRANAS DE CÓRTEX CEREBRAL DE RATOS. *Giovana Dantas, Carla Dalmaç.* (Departamento De Bioquímica, ICBS, UFRGS).

Dados anteriores obtidos em nosso laboratório sugerem que a exposição ao estresse crônico altere o sistema opióide endógeno em ratos. O objetivo do presente trabalho é a implantação da técnica de *binding* de naloxone (antagonista opióide) em membranas de córtex cerebral de ratos, e determinação das constantes de ligação utilizando esse tecido para posterior determinação dos efeitos do estresse crônico sobre esse parâmetro. Esta técnica de *binding* reflete a expressão de receptores, no caso, opióides, no tecido em análise. Foram utilizados ratos Wistar, machos, adultos. Os animais foram decapitados e o córtex cerebral foi retirado. A estrutura foi homogeneizada em tampão Tris-HCl 50 mM, pH 7,4 e centrifugada a 80.000 x g durante 30min, com a finalidade de separar as membranas. Todas essas operações foram realizadas a 4° C. Estas membranas foram então incubadas por 15 minutos com naloxone radioativo marcado com trítio em diversas concentrações. A ligação inespecífica foi obtida colocando-se naloxone não-radioativo na amostra, 10.000 vezes mais concentrado que o marcado. Após, a incubação, o material foi filtrado e a radioatividade das amostras foi contada em um cintilador. A concentração de proteína do córtex foi determinada através do método Lowry. A quantidade de proteína utilizada da foi 300 sigmag em 500 sigmal de sistema de incubação. Utilizando-se gráfico de Scatchard determinou-se o Kd (constante de dissociação) para o naloxone, que foi de 0,9 nM, e o Bmax (número máximo de sítios de ligação) que foi de 61 fmóis/mg proteína. Uma vez padronizada a técnica para a determinação dos efeitos do estresse crônico sobre esse parâmetro em córtex cerebral de ratos.