

RESUMOS DE DISSERTAÇÕES DE MESTRADO E TESES DE DOUTORADO APRESENTADAS NA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP DE JULHO A DEZEMBRO DE 2003 EM SUAS DIFERENTES ÁREAS DE CONCENTRAÇÃO

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

ESTRUTURA CLONAL E FATORES DE VIRULÊNCIA DE AMOSTRAS DE *ESCHERICHIA COLI* ENTEROPATOGÊNICA DE ORIGEM HUMANA, ISOLADAS NA REGIÃO DE RIBEIRÃO PRETO

André Pitondo da Silva

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Brocchi

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/07/2003

Escherichia coli Enteropatogênica (EPEC) é um dos principais agentes causadores de diarreia infantil nos países em desenvolvimento, causando infecções normalmente esporádicas. Eventualmente, EPEC têm sido associada a epidemias. Estas amostras patogênicas são responsáveis por alto nível de mortalidade em crianças menores de dois anos de idade. Neste trabalho foram analisadas 95 amostras de *Escherichia coli* pertencentes a sorogrupos característicos de EPEC, pertencentes à coleção do Laboratório de Genômica e Biologia Molecular Bacteriana da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (FMRP-USP). Através da técnica de Reação de Polimerase em Cadeia (PCR), 66% das amostras estudadas apresentaram o gene *eae* e foram negativas para sondas SLT, sendo assim confirmado o diagnóstico preliminar como *E. coli* EPEC, enquanto 34% das amostras não possuíam o referido gene, sendo assim classificadas como amostras não EPEC. As amostras *eae* positivas foram selecionadas e passaram a ser o alvo de nosso estudo. Ainda atra-

vés da técnica de PCR, foi possível detectar a presença do plasmídeo EAF em 38% das amostras e do gene *bfpA* em 57% das amostras. Cinco por cento das amostras demonstraram-se positivas para Intimina α , 46% para Intimina β e 35% para Intimina γ porém, 14,3% das amostras não amplificaram com nenhum dos iniciadores para intiminas pesquisados. Tais resultados foram confirmados pelo sequenciamento dos respectivos produtos de PCR. As amostras de EPEC apresentaram uma grande variabilidade em relação à sorogrupagem, sendo que a maioria dos sorogrupos encontrados (64% na totalidade) foram O55 e O119. A grande maioria das amostras (62%) apresentou-se multi-resistente aos antibióticos testados e com um perfil plasmidial heterogêneo. Não foram, porém, encontrados plasmídios relacionados a resistência a antimicrobianos, nas amostras bacterianas testadas. Utilizando culturas de células, foi verificado que a maioria das amostras (76%) aderiram a células HEP-2. Foi possível determinar um perfil de similaridade genética através da técnica de ERIC-PCR, onde os resultados demonstraram a separação dos grupos EPEC 1 e EPEC 2 em diferentes “clusters” e na técnica de ECP (eletroforese de campo pulsado), o resultado mostrou-se ainda mais eficiente na separação dos sorogrupos.

MAPEAMENTO DOS SUBDOMÍNIOS ESTRUTURAIS DA MIOSINA-VA REQUERIDOS NA FUNÇÃO DE TRANSPORTE DOS MELANOSSOMOS

Maria Fernanda Chociay

Orientadora: Profa. Dra. Enilza Maria Espreafico

Dissertação de Mestrado apresentada em 21/07/2003

Mutações nos genes da miosina-Va (*dilute*), Rab27a (*ashen*) ou da melanofilina (*leaden*) levam a um fenótipo de redução da pigmentação, idêntica en-

tre esses mutantes, devido à acumulação dos melanossomos na região perinuclear dos melanócitos, e conseqüente deficiência na transferência dos mesmos para os queratinócitos. Nós reportamos recentemente que a superexpressão da cauda da isoforma neuronal da miosina-Va (FT-N) induz a agregação dos melanossomos em melanócitos B16, tipo-selvagem para o

FARMACOCINÉTICA E ANÁLISE DA DISTRIBUIÇÃO TRANSPLACENTÁRIA DE LIDOCAÍNA E SEU METABÓLITO EM ASSISTÊNCIA ANESTÉSICA DE GESTANTES

Ricardo de Carvalho Cavalli

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Duarte

Tese de Doutorado apresentada em 23/10/2003

Introdução: apesar de amplamente investigada tanto a anestesia quanto a analgesia obstétricas, persistem como desafios à ciência na busca de métodos seguros e eficazes que permitam utilizar estes procedimentos aliados à melhora dos resultados obstétricos e perinatais. No parto por via vaginal, o bloqueio perineal com lidocaína representa o procedimento analgésico mais freqüente em obstetrícia, fato que justifica o estudo farmacocinético desse fármaco nessas condições. O objetivo deste trabalho foi investigar a farmacocinética e a análise da transferência placentária da lidocaína e MEGX em parturientes cujas gestações foram resolvidas por via vaginal, com anestesia perineal

Casuística e métodos: foram avaliadas 14 gestantes no grupo com analgesia peridural durante o trabalho de parto (Grupo 1) e 9 gestantes no grupo sem analgesia (Grupo 2), com gestação a termo, consideradas normais clinicamente e laboratorialmente. Todas as gestantes receberam 20ml de cloridrato de lidocaína a 2% sem vasoconstrictor (400mg) por via loco-regional perineal no período expulsivo do trabalho de parto. Na seqüência foram coletadas amostras sanguíneas maternas nos tempos 0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 90, 120, 240, 360min e amostras de sangue do cordão umbilical para determinação das concentrações de lidocaína e monoetilglicinaxilidida (MEGX) por cromatografia. Determinadas as concentrações, foram

traçadas as curvas de concentração em função do tempo e análise farmacocinética bicompartimental para lidocaína (C_{max} , t_{max} , $t_{1/2 \alpha}$, $t_{1/2}$ de β , $AUC^{0-\infty}$, Cl/f , Vd/f) e monocompartimental para o MEGX (C_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$, $AUC^{0-\infty}$). Com base nas concentrações maternas e fetais no momento do nascimento foram determinadas as relações feto/materna destes fármacos.

Resultados: as concentrações máximas de lidocaína nos Grupos 1 e 2 foram de 3,1 e 3,6 μ g/ml nos tempos de mediana 20,0 e 15 min respectivamente. A análise dos parâmetros farmacocinéticos: $t_{1/2 \alpha}$ de 22,0 e 30,0 min, a $AUC^{0-\infty}$ 469 e 454 μ g.min/ml, e a $t_{1/2}$ de β 180 e 185 min nos Grupos 1 e 2, respectivamente, o Cl/f de 13,8 ml/min/Kg e o Vd/f de 3,0l/kg no Grupo 1. A relação feto materna nos Grupo 1 e 2 no momento do parto para lidocaína foi de 0,47 e 0,43 respectivamente, sendo que o tempo de latência entre a administração da droga e o parto no Grupo 1 foi de 12,5 min e no Grupo 2 de 8,0 min.

Conclusões: os parâmetros farmacocinéticos dos Grupos 1 e 2 não apresentaram diferença estatística, demonstrando que a analgesia durante o trabalho de parto não altera a disposição da lidocaína por via perineal. O estudo evidenciou transferência placentária da lidocaína e seu metabólito em razões de aproximadamente 50% para lidocaína. A administração da lidocaína por via loco-regional perineal apresentou t_{max} de 15 a 20min, significativamente inferior a administração deste fármaco por via epidural, revelando menor tempo entre a administração e a obtenção do efeito anestésico.

EXPRESSÃO DO P63 EM TUMORES EPITELIAIS DO OVÁRIO: UMA NOVA EVIDÊNCIA DA ORIGEM ALTERNATIVA DOS TUMORES MUCINOSOS

Omero Benedicto Poli Neto

Orientador Prof. Dr. Francisco José Cândido dos Reis

Tese de Doutorado apresentada em 31/10/2003

Introdução: O P63 está no cromossomo 3q27-29, uma região freqüentemente alterada em cânceres ovarianos, e seu produto está associado ao controle da proliferação e diferenciação celular.

Objetivos: Avaliar a expressão do p63 em tumores ovarianos epiteliais e verificar sua associação

com os tipos histológicos.

Métodos: Estudamos a expressão do p63 usando um anticorpo monoclonal (clone 4A4) que reconhece todas as isoformas da proteína p63. Foram incluídos 91 espécimes de cistadenomas ovarianos: 29 cistadenomas mucinosos, 62 cistadenomas serosos; e 29 espécimes de carcinomas ovarianos: 3 tumores borderline mucinosos, 3 tumores borderline serosos, 1 carcinoma mucinoso e 17 carcinomas serosos.

Resultados: 85,7% dos cistadenomas e 50,0%

dos tumores borderline apresentaram expressão do p63. Entretanto, uma minoria (8,7%) de carcinomas p63-positivos foi identificada ($p < 0,0001$). Todos os 3 tumores borderline p63-positivos eram tumores mucinosos. O espécime de carcinoma mucinoso foi p63-positivo e o outro carcinoma p63-positivo foi um carcinoma seroso pouco diferenciado estágio IV. Oito cistadenomas mucinosos (27,6%) e somente 5 cistadenomas serosos (8,1%) foram p63-negativos ($p = 0,02$).

Conclusão: Estes resultados mostram que cistadenomas ovarianos são mais frequentemente p63-positivos que tumores borderline e carcinomas ovarianos. Todavia, mais cistadenomas mucinosos p63-negativos foram identificados que cistadenomas serosos. Além do mais, tumores mucinosos borderline e invasores foram p63 positivos em contraste aos serosos borderline e invasores, sugerindo que a expressão do p63 pode sofrer influência tanto da natureza quanto do tipo histológico da lesão.

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA E STATUS ANTIOXIDANTE NOS FLUIDOS FOLICULARES E SORO DE PACIENTES COM ENDOMETRIOSE

Carla Campos Petean

Orientador: Prof. Dr. Rui Alberto Ferriani

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/12/2003

Objetivo: Avaliar o potencial de peroxidação lipídica (PL) e status antioxidante no fluido folicular e soro de pacientes inférteis, com ou sem endometriose, submetidas à indução da ovulação para a realização de procedimentos de Reprodução Assistida.

Casuística e métodos: Foram selecionadas prospectiva e consecutivamente pacientes inférteis com idade entre 20 e 38 anos, distribuídas em grupo A (17 pacientes com endometriose pélvica) e grupo B (19 pacientes com laqueadura prévia ou fator masculino). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as medianas das idades das pacientes nos dois grupos. Foram coletadas amostras de sangue em: D1 (início do uso de gonadotrofinas), D2 (dia da realização do hCG) e D3 (dia da captação oocitária). Em D3 também foram coletados e armazenados os fluidos foliculares, livres de contaminação sanguínea. A PL foi avaliada por meio de quantificação do malondialdeído (MDA), por espectrofotometria, e o status antioxidante por meio da mensuração da vitamina E, pelo método de HPLC.

Resultados: Em D1, não se observou diferença estatisticamente significativa entre a PL nos grupos A e B ($p=0,2$). Contudo, os níveis de vitamina E foram significativamente maiores no grupo controle ($p=0,007$). Os níveis de PL foram significativamente maiores no grupo A, durante D2, quando comparados ao controle ($p=0,009$), sendo que os níveis de vitamina E permaneceram significativamente maiores no grupo contro-

le ($p=0,04$). Em D3, não se observou diferença estatisticamente significativa entre a PL nos grupos A e B ($p=0,84$), assim como não houve diferença significativa nos níveis de vitamina E entre os dois grupos ($p=0,92$). Não houve diferença estatisticamente significativa nas dosagens de MDA e vitamina E, no soro, dentro de cada grupo, avaliadas em D1, D2 e D3. Não se detectou diferença estatisticamente significativa nos níveis de MDA ($p=0,08$) e vitamina E ($p=0,19$) no fluido folicular das pacientes de ambos os grupos. Entretanto, em D3, dentro dos grupos A e B, observou-se que os valores de MDA e vitamina E foram significativamente maiores no soro, quando comparados aos valores obtidos no fluido folicular.

Conclusão: Antes do início da hiperestimulação ovariana controlada, os valores de MDA não apresentaram diferença significativa entre as pacientes com endometriose e sem esta patologia. Os valores de vitamina E apresentaram-se significativamente mais elevados nas pacientes sem endometriose. Durante a administração das gonadotrofinas, no dia da administração do hCG, o grupo de pacientes com endometriose apresentou valores de MDA mais elevados quando comparado ao controle, sendo que os valores de vitamina E mantiveram-se mais elevados neste último grupo. No dia de captação oocitária, observou-se que tanto os valores de MDA, quanto os de vitamina E, permaneceram semelhantes em ambos os grupos. Não observamos diferença significativa, tanto nos níveis séricos de MDA, como de vitamina E, ao longo do processo de HOC, dentro de cada grupo estudado. Detectou-se que os valores de MDA e vitamina E foram significativamente maiores no soro quando comparado ao fluido folicular em ambos os grupos estudados.