

RESUMOS DE DISSERTAÇÕES DE MESTRADO (M) E TESES DE DOUTORADO (D) APRESENTADAS NA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP DE JANEIRO A JUNHO DE 2004

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

EFEITO AGUDO E CRÔNICO DA DESNERVAÇÃO AUTÔNOMICA EXTRÍNSECA SOBRE A DINÂMICA CELULAR NO EPITÉLIO DO INTESTINO DELGADO DE RATOS WISTAR

Jesiel Mamedes Silva

Orientador: Prof. Dr. João José Lachat

Tese de Doutorado apresentada em 16/02//2004

A estrutura e a função da mucosa intestinal dependem do equilíbrio entre a proliferação, migração celular e apoptose. O epitélio intestinal apresenta uma organização estratigráfica complexa. Pelo menos quatro linhagens de células originam-se a partir das células tronco situadas na base das criptas, as quais diferenciam-se durante a migração ao longo do eixo cripta-vilosidade. Ao deixar as criptas, os enterócitos, as células caliciformes e as células enteroendócrinas perdem sua atividade mitótica e dirigem-se para a extremidade dos vilos onde entram em apoptose antes de serem eliminadas para a luz. Aqui foram estudados os efeitos da idade e da desnervação autonômica extrínseca sobre a dinâmica deste tecido em ratos Wistar adultos jovens. Para analisar o efeito da idade foram sacrificados três grupos de cinco animais com 40, 70 e 130 dias de idade com cerca de 144, 340 e 435 g respectivamente. Outros grupos também de cinco animais com 40 dias de idade, inicialmente foram submetidos à vagotomia troncular subdiafragmática, ou a esplancnicectomia, ou à dupla desnervação extrínseca, ou a laparotomia, e sacrificados depois de 6, 24, 48, 72 horas, 10, 30 e 90 dias da cirurgia. Quatro horas

antes do sacrifício, foi injetada na cavidade peritoneal de cada animal uma solução de colchicina. Em seguida, fragmentos do duodeno, jejuno proximal, jejuno distal e do íleo foram processados para inclusão em parafina e corados pelos métodos de HE e PAS. A seguir, avaliou-se o índice de mitoses, a densidade de células nas criptas e o índice de células caliciformes das vilosidades. A análise estatística dos dados demonstrou que a dinâmica do epitélio do intestino delgado variou em função da idade e depois das desnervações extrínsecas de maneira topográfica e temporal distintas para cada tipo de desnervação. Embora o efeito da simpatectomia sobre a proliferação celular tenha sido menor do que o da vagotomia, não houve efeito cumulativo, enquanto que o impacto sobre a densidade de células nas criptas provocado pela vagotomia e pela simpatectomia pode somar-se na dupla desnervação. No duodeno a influência das desnervações extrínseca tende a aumentar durante a fase crônica, ao passo que nos demais segmentos, os efeitos das desnervações sobre a atividade mitótica e a densidade celular, e a diferença entre as desnervações diminuem significativamente depois dos 90 dias da fase crônica. Por outro lado, a vagotomia pode reduzir o índice de células caliciformes tanto na fase aguda como crônica, enquanto que a simpatectomia tende a aumentá-lo durante a fase aguda e a reduzi-lo durante a fase crônica.

CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DAS MIOSINAS-V EM LEUCÓCITOS DE HUMANO

Thiago Oliveira Santos

Orientadora: Profa. Dra. Enilza Maria Espreafico

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/05/2004

A Síndrome de Griscelli é uma doença autossômica recessiva, rara, causada por mutações nos genes que codificam a miosina-Va (SG1), Rab-27a (SG2), ambos localizados no cromossomo 15q21 ou melano-

filina (SG3). Caracteriza-se por deficiência pigmentar (SG1, SG2 e SG3), imunológica (SG2) e neurológica (SG1 e SG2). Recentemente, obteve-se evidências que mutações no gene RAB27A acarretam deficiência na desgranulação e atividade citotóxica mediadas por células T e NK, respostas que mostram-se normais em células mutantes de MYO5A e MLPH. Esse fato é surpreendente, pois em células CTL mutantes para

Rab27a, os grânulos líticos se acumulam antes de atravessarem o córtex rico em actina, o que é necessário para que estes se ancorem à membrana plasmática na região da sinapse imunológica, o que não ocorre em células CTL de pacientes mutantes de MYO5A. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo estudar as funções celulares da miosina-Va nos eventos de polarização celular, tráfego e liberação de grânulos

líticos em linhagens de células do sistema imune humano, células Jurkat T CD4+. Tais estudos visaram determinar o padrão de expressão e localização subcelular da miosina-Va em situações de repouso e ativação celular, bem como avaliar a capacidade funcional de células geneticamente manipuladas, desse modo podendo elucidar uma possível importância funcional das miosinas da classe V na resposta imune.

EXTREMIDADES TELOMÉRICAS DE *LEISHMANIA MAJOR*: ESTUDOS SOBRE O LOCUS DAS FOSFOGLICERATO QUINASES E SEQÜENCIAMENTO PARCIAL DE EXTREMIDADE DO CROMOSSOMO 7

Aline de Azevedo

Orientadora: Profa. Dra. Angela Kaysel Cruz

Dissertação de Mestrado apresentada em 02/06/2004

Nosso objetivo central foi o estudo funcional de um transcrito presente em extremidade telomérica, e a escolha recaiu sobre os genes que codificam para as isoformas glicosômica (PGKC) e citosólica (PGKB) da fosfoglicerato quinase, presentes em uma das extremidades do cromossomo 20 de *Leishmania major*. Uma das razões para o estudo destas isoformas foi a existência de resultados preliminares que indicavam um possível efeito negativo da superexpressão da isoforma citosólica sobre a taxa de multiplicação de promastigotas (efeito bem caracterizado em *Trypanosoma brucei*).

Os fragmentos de DNA contendo os genes correspondentes a estas duas isoformas foram clonados em pX63Neo e transfectados em *L. major*, para sua superexpressão e nossos resultados não confirmaram o referido efeito negativo sobre a taxa de multiplicação do transfectante superexpressor da isoforma citosólica.

Por outro lado, os estudos destes dois genes nos revelaram algumas características interessantes, entre elas as diferenças marcantes no número de cópias do epissomo e nos níveis de seus transcritos, quando incrementos na concentração de droga de seleção foram utilizados. Análises de *Southern blot* mostraram que o número de cópias de epissomos é similar entre o superexpressor da PGKB e o transfectante

controle (vetor sem inserto) e muito superior ao número de cópias observado no transfectante que superexpressa a PGKC, quando nas concentrações máximas da droga. Disparidade similar foi observada nas análises por *northern blot* que mostraram que o transfectante superexpressando a isoforma glicosômica (PGKC) apresenta sempre níveis de transcrito inferiores (aproximadamente 4 vezes) aos níveis da isoforma citosólica (PGKB).

Análise da quantidade de proteínas por imunodeteção revelou que não há correlação entre o nível de transcrito e produto de tradução, sendo que a isoforma glicosômica apresentou-se em maior quantidade. No transfectante superexpressor de PGKC detectamos de 3 a 5 vezes mais proteína (isoforma glicosômica) do que no transfectante superexpressor de PGKB.

Nossos dados sugerem que há algum elemento presente na região 5' ou 3' UTR da PGKC que controla a replicação do epissomo interferindo no nível de transcrito correspondente. Nossos achados são relevantes para entender o controle da replicação e regulação da transcrição nesse organismo.

Paralelamente, um cosmídeo recombinante (clone 008B2) representando uma das extremidades do cromossomo 7 de *Leishmania major* foi seqüenciado parcialmente. No processo de seqüenciamento utilizamos o sistema *mariner* de transposição *in vitro* para facilitar a montagem do contig final que ainda assim foi dificultada pela presença de seqüências repetitivas.

ESTUDOS FUNCIONAIS E DE EXPRESSÃO DA MIOSINA-VA NA PROGRESSÃO TUMORAL EM MELANOMA

Daniel Maranhão Trindade

Orientadora: Profa. Dra. Enilza Maria Espreafico

Dissertação de Mestrado apresentada em 22/06/2004

A progressão tumoral no melanoma maligno inclui, de acordo com características clínicas e histopatológicas, cinco principais fases de crescimento:

(1) nevus comum congênito ou adquirido; (2) nevus de displásico com atipia estrutural e arquitetural; (3) melanoma primário em fase de crescimento radial (RGP), que restringe-se à epiderme; (4) melanoma primário de fase de crescimento vertical (VGP), quando as células começam a infiltrar a derme verticalmente e (5) o melanoma metastático (M). O estabelecimento de um melanoma maligno envolve a progressão através da RGP, da VGP e da metástase. Anoikis, que é considerada uma das barreiras à metástase, é um tipo específico de apoptose induzido pela perda de adesão celular. Em células saudáveis a miosina-Va, através de sua associação com a proteína cadeia leve de dineína 2 (DLC2), seqüestra uma proteína pró-apoptótica, Bmf. Sob perda de adesão celular, Bmf é liberada permitindo sua ligação à proteínas pró-sobrevivência da família Bcl-2, levando à anoikis. No presente estudo mostramos um aumento de níveis de mRNA e da

proteína miosina-Va em duas linhagens celulares metastáticas quando comparadas com suas linhagens parentais VGP e também em outras linhagens RGP e VGP. Procurando associar a expressão elevada de miosina-Va com as possíveis características celulares envolvidas na progressão tumoral, encontramos uma correlação positiva com a taxa de proliferação, resistência à anoikis, e a capacidade de aderir/desaderir facilmente do substrato. Construções plasmidiais da miosina-Va da região codificadora completa e de seu domínio globular da cauda em fusão com EGFP também foram obtidas. Para confirmar a relevância da correlação entre níveis de expressão da miosina-Va e os aspectos funcionais deste estudo, mostramos aqui análises de super expressão de diferentes domínios estruturais da miosina-Va buscando determinar sua habilidade de interferir com processos celulares, tais como o apoptose, proliferação celular e adesão.

CLÍNICA MÉDICA

ESTIMATIVA DE PESO E ALTURA CORPORAL ATRAVÉS DE MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS E BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA

Estela Iraci Rabito

Orientador: Prof^o Dr. Júlio Sérgio Marchini

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/02/2004

A avaliação nutricional e o acompanhamento do estado nutricional dos pacientes de uma instituição são fundamentais para o planejamento e avaliação do serviço nutricional oferecido. Dentre os métodos de avaliação, a antropometria é recomendada por ser fácil, rápida e segura para ser empregada. Dentre os dados mais comuns o peso e a altura costumam fundamentar a avaliação do estado nutricional, e fundamentam os cálculos da terapia nutricional e doses farmacológicas. Visto que, tais medidas são difíceis de serem realizadas em pacientes acamados, e que na literatura, as equações sugeridas para estimativa de altura e peso são baseadas em amostras de idosos. O objetivo deste trabalho foi de verificar a adequação destas fórmulas, e desenvolver equações apropriadas, para a popula-

ção hospitalizada local. A metodologia utilizada para elaboração das equações preditivas foram a antropometria, dobras cutâneas, circunferências, comprimentos; e bioimpedância. Considerando que as formas de estimativa de peso e altura sugeridas na literatura apresentaram diferença significativa das medidas nesta amostra; e visando facilitar a metodologia de estimativa de peso, foram desenvolvidas quatro equações para peso e duas para altura. As novas equações parecem ser apropriadas, sendo a mais simples delas, para estimativa de peso, a equação: $\text{Peso (kg)} = 0,8956 (\text{circunferência do braço, cm}) + 0,3858 (\text{circunferência abdominal, cm}) + 1,1180 (\text{circunferência da panturrilha, cm}) - 31,759$ ($r = 0,88$ e $p > 0,05$); e $\text{Altura (m)} = 83,8750 - 4,3810 (\text{masculino} = 2 \text{ e feminino} = 1) - 0,0872 (\text{idade, anos}) + 1,0840 (\text{meia envergadura, cm})$, ($r = 0,86$ e $p > 0,05$). Sugerimos que estas equações possam ser utilizadas para estimar peso e altura de pacientes acamados.

EFEITO DO TRATAMENTO DA DEFORMIDADE DENTOFACIAL NA FUNÇÃO MASTIGATÓRIA, ATIVIDADE ELETROMIOGRÁFICA E ESPESSURA DOS MÚSCULOS DA MASTIGAÇÃO

Luciana Vitaliano Voi Trawitzki

Orientador: Prof. Dr. Roberto Oliveira Dantas

Tese de Doutorado apresentada em 11/03/04

Indivíduos portadores de deformidades dentofaciais apresentam dificuldades mastigatórias e conseqüentes alterações nos músculos da mastigação. O tratamento, nesses casos, engloba a correção esquelética bucofacial, dentária e oromiofuncional, favorecendo as funções estomatognáticas, entre elas, a mastigação.

O propósito do presente estudo foi verificar a influência do tratamento interdisciplinar em casos de deformidades dentofaciais classe III, em relação à função mastigatória, atividade eletromiográfica (EMG) dos músculos temporal (T) e masseter (M), e à espessura do músculo M.

Participaram do estudo 15 pacientes com deformidades dentofaciais classe III, 11 mulheres, com idade média de 24,9 anos, e 4 homens, com idade média de 21,2 anos, os quais foram submetidos aos tratamentos ortodôntico, oromiofuncional e cirúrgico, formando os grupos P1 (antes da cirurgia) e P2 (6 a 9 meses após a cirurgia). Também participaram do estudo, formando o grupo controle (GC), 15 indivíduos sem alterações na morfologia facial ou na oclusão dentária, sem sinais ou sintomas de disfunção de articulação temporomandibular, entre eles, 11 mulheres (idade média de 24 anos), e 4 homens (idade média de 20,8 anos).

Os participantes responderam um questionário contendo questões referentes ao comportamento mastigatório, como a presença de dificuldades mastigatórias, e solicitação de uma nota para sua mastigação. Realizou-se a avaliação da mastigação, registrada em vídeo, nos grupos P1 e P2. Os exames de EMG dos músculos T e M, bilateralmente, nas situações de

mastigação e mordida (Mo), foram realizados nos grupos P1, P2 e GC, e analisadas duas medidas, que representam a amplitude da atividade EMG (intervalo de amplitude - IA e *Root mean square* - RMS). Realizou-se também o exame de ultra-sonografia (US) do músculo M, nas situações de repouso (R) e Mo, bilateralmente, nos 3 grupos.

A partir da análise estatística dos dados verificou-se que houve diferença nas respostas dos pacientes em relação à presença de dificuldades mastigatórias e quanto às notas dadas à mastigação, assim como foi observada uma diminuição do predomínio mastigatório após a correção cirúrgica. Houve diferença na atividade EMG, entre os lados de trabalho (τ) e balanceio (B), na mastigação para os 3 grupos, com variações nas 2 análises de EMG, aplicadas. Durante a Mo, na análise de RMS, verificaram-se valores maiores no lado direito, nos grupos GC e P1, com valores maiores para o lado esquerdo, no grupo P2, o que não ocorreu na análise do IA de EMG. Houve um aumento na atividade EMG após a cirurgia. Os grupos P1 e P2 apresentaram valores menores de atividade EMG, comparados ao GC. Nos 3 grupos, verificaram-se valores maiores de espessura do músculo M, durante a Mo, comparada ao R e não houve diferença, entre os lados. Houve um aumento na espessura do músculo M no grupo P2, porém os valores ainda foram menores que o GC. Houve correlação entre a espessura do M direito e a atividade EMG, no grupo P2.

Pode-se concluir que os pacientes apresentaram melhora da função mastigatória, apesar de não estar adequada em todos os pacientes. Houve um aumento da atividade EMG dos músculos T e M e da espessura do músculo M, após a correção cirúrgica da deformidade dentofacial, acompanhada de um tratamento interdisciplinar, porém os valores ainda foram menores que o GC.

MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DE CÉLULAS DA LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA INDUZIDA PELO ÁCIDO ALL-TRANSRETINÓICO E PELA TRICOSTATINA A

Hamilton Luiz Gimenes Teixeira

Orientador: Eduardo Magalhães Rego

Dissertação de Mestrado, apresentada em 19/04/2004

A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo distinto de leucemia mielóide aguda caracteri-

zada por sua associação invariável com translocações envolvendo o receptor a do ácido retinóico (*RAR α*) localizado no cromossomo 17. Como conseqüência destas translocações, o gene *RAR α* pode ser fusionado aos genes *PML*, *PLZF*, *NPM*, *NuMA* ou *STAT 5b* (referidos como genes X) localizados nos cromossomos

15, 11, 5, 11 e 17, respectivamente. Na vasta maioria dos casos de LPA, a oncoproteína PML-RAR α está envolvida, a qual atua como um repressor anormal da transcrição, através do recrutamento dos co-repressores nucleares (N-CoR) Sin3A e Sin3B e de histonas desacetilases (HDACs). O tratamento com o ácido all-*trans* retinóico (ATRA) é capaz de abolir a repressão aberrante na t(15;17)/PML-RAR α , levando à remissão da leucemia. Entretanto, um terço dos casos de LPA recairão, freqüentemente acompanhados pela resistência ao ATRA. Em tais casos, os inibidores das HDACs (HDACis), podem reverter a repressão aberrante da transcrição atuando diretamente nas HDACs e constituindo-se numa potencial alternativa terapêutica. Além do mais, é concebível que os HDACis apresentem efeitos sinérgicos com o ATRA. Todavia, os genes alvo do ATRA e da TSA não são conhecidos. Para determinar os efeitos celulares e transcripcionais dos HDACis e da sua associação com o ATRA, foram analisados o ciclo celular, apoptose e diferenciação granulocitária em células NB4 e em blastos leucêmicos da medula óssea de pacientes com LPA tratados *in vitro* com TSA, um potente HDACi, ATRA ou a associação ATRA + TSA. Além disso, também foi estudada a expressão diferencial de genes nas amostras tratadas *in vitro* com estas drogas através da metodologia de macroarrays. Para o ciclo celular, as células NB4 foram tratadas com ATRA 10⁻⁷M, TSA 0,16 μ M, a associação entre ambos nas mesmas doses ou veículo (Controle) por 3, 5, 12, 24, 48 e 72 horas, e a percentagem de células nas fases G0/G1, S e G2/M foram analisadas por citometria de fluxo nas células marcadas com Iodeto de Propídeo (PI). A

indução da apoptose pelos mesmos tratamentos foi avaliada pela marcação com Anexina-V e PI e quantificada em citômetro de fluxo. A diferenciação das células NB4 foi analisada pela expressão do antígeno CD11b nas amostras tratadas por 72 horas com as drogas nas mesmas concentrações acima. Para as análises da expressão diferencial de genes, nós tratamos *in vitro* células NB4 e blastos leucêmicos de 16 pacientes com LPA por 5 horas como acima e o RNA total foi extraído, marcado e hibridado com membranas contendo 111 genes conhecidos envolvidos na regulação do ciclo celular. Uma diminuição significativa na percentagem de células na fase S foi observada com 12 e 24 horas de cultura com os tratamentos com TSA e ATRA + TSA. Estes tratamentos também induziram a apoptose com 24 e 48 horas nestas células. Ao contrário, o tratamento com ATRA não induziu apoptose ou inibição do ciclo celular. Por outro lado, este agente induziu a diferenciação granulocitária nas células NB4 tratadas por 72 horas. As análises de macroarray demonstraram que os tratamentos modularam a expressão de relativamente poucos genes em ambas as células. Além do mais, um número restrito de genes alvo foi comum aos tratamentos com ATRA e TSA. Principalmente, o tratamento com ATRA induziu a expressão tanto de células NB4 como os blastos leucêmicos, enquanto o tratamento com TSA reprimiu a expressão em células NB4 e atuou como um indutor nas células primárias. Dentre os genes-alvo em comum ao ATRA e a TSA, foram detectados os genes *GADD153*, *MAPKK2*, *replication protein A1* e *jun-B* nas células primárias e o *ubiquitin C*, *beta actin* e *cyclin D2* nas células NB4.

GRAVIDADE DA DOENÇA HEPÁTICA E POPULAÇÃO DE CÉLULAS ESTRELADAS HEPÁTICAS EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA COM E SEM CO-INFECÇÃO PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA: PAPEL DAS CITOCINAS TNF- α E TGF- β 1

Maria do Carmo Morais Rodrigues Torres

Orientadora: Profa.Dra. Ana de Lourdes C. Martinelli
Tese de Doutorado apresentada em 11/05/2004

A co-infecção HCV/HIV está associada a maior gravidade da lesão hepática. Na produção da fibrose a população de células estreladas hepáticas (CEH) ativadas tem importante papel. A citocina TGF- β 1 constitui fator de ativação das CEH enquanto a TNF- α relaciona-se a necrose e inflamação hepática. Objetivos: 1- Avaliar pacientes com hepatite C crônica

com e sem co-infecção pelo HIV quanto: gravidade da doença hepática, progressão da fibrose, tempo de evolução para cirrose, TNF- α e TGF- β 1 no soro e fígado e população de CEH, 2- Avaliar a correlação entre a TNF- α e TGF- β 1 no soro e fígado com população CEH e scores de gravidade da doença hepática. 3 - Avaliar a correlação entre as CEH e: gravidade da doença hepática, progressão da fibrose e tempo de evolução para a cirrose. Métodos: Foram estudados 86 pacientes com hepatite C crônica, 43 co-infectados pelo HCV/HIV e 43 mono-infectados pelo HCV. Os

pacientes foram pareados quanto: sexo, idade na contaminação pelo HCV, duração da infecção HCV e ingestão alcoólica. Todos pacientes com HCV/HIV tinham $CD4 > 383 \text{ cel/mm}^3$. Foram determinados: score de necroinflamação (HAI), grau de fibrose e população de CEH [ativadas (α -SMA), não ativadas (GFAP) e proliferantes (α -SMA-PCNA e GFAP-PCNA)] e score de depósitos ferro no fígado em biopsias hepáticas, taxa de progressão da fibrose, tempo de evolução para cirrose e níveis de TGF- β 1 e TNF- α no soro e fígado. Resultados: Foram avaliados 37 homens e 6 mulheres em cada grupo com idade entre 25-59 anos. A distribuição dos genótipos, carga viral do HCV, assim como níveis de TNF- α no soro foram semelhantes nos dois grupos. O grupo HCV/HIV apresentou mediana maior que o grupo HCV para: scores de HAI (11 vs. 8,2; $p=0,02$) e de fibrose (2 vs. 1; $p=0,08$), população de CEH (α -SMA: 28 vs. 15, α -SMA-PCNA: 26,5 vs. 5, GFAP: 24 vs. 12, GFAP-PCNA: 22 vs. 4; $p < 0,0001$), TGF- β 1 no fígado (51,4 vs. 24,6pg/100mg proteína; $p=0,034$), TNF- α no fígado (151,5 vs. 79,9pg/100mg proteína; $p=0,003$) e taxa de progressão da fibrose (0,114 vs. 0,088 unidade-fibrose/ano;

$p=0,006$). O grupo HCV/HIV apresentou mediana menor de TGF- β 1 no soro (44,1 vs. 66,9pg/100mg proteína; $p=0,003$) e de tempo de evolução para cirrose (35 vs. 45 anos; $p=0,011$). Foi observada correlação positiva da população de CEH com: grau de fibrose ($p < 0,0001$), score de HAI ($p < 0,0001$), score de depósitos ferro no fígado ($p=0,046$) e taxa de progressão para fibrose ($p < 0,0001$); e correlação negativa da população de CEH com tempo de evolução para cirrose ($p < 0,0001$). Conclusões: A co-infecção HCV/HIV foi associada a maior gravidade da doença hepática, acelerando progressão da fibrose e reduzindo tempo de evolução para cirrose. Os níveis de TNF- α e TGF- β 1 no fígado e a população de CEH foram maiores na co-infecção HCV/HIV, com correlação positiva entre população de CEH e gravidade da doença hepática, taxa de progressão da fibrose e correlação negativa com tempo de evolução para cirrose. Os resultados reforçam que a co-infecção HCV/HIV modifica a história natural da hepatite C crônica conferindo maior gravidade à doença hepática com ativação das CEH e evidências sugerindo participação de TNF- α e TGF- β 1.

FARMACOLOGIA

MECANISMOS GLUTAMATÉRGICOS DO HIPOTÁLAMO LATERAL E CONTROLE DO SISTEMA CARDIOVASCULAR NO RATO

Gisela Pugliesi Pajolla

Orientador: Prof.Dr. Fernando M. de Aguiar Correa
Tese de Doutorado apresentada em 28/04/2004

O hipotálamo lateral (HL) é uma complexa região diencefálica que exerce importante participação no controle do sistema cardiovascular.

Os principais estudos da participação do HL na regulação do sistema cardiovascular foram realizados em animais anestesiados e evidenciaram resultados de estimulações elétrica ou química desta área. Os resultados de tais estudos indicaram que a estimulação do HL causou tanto respostas depressoras quanto respostas pressoras, dependendo do sítio hipotalâmico atingido.

Em estudos anteriores observamos que injeções de diferentes concentrações de L-glutamato no HL de

ratos não anestesiados causaram respostas hipotensoras ou bifásicas (hipotensora seguida de pressora) concentração-dependentes.

No presente trabalho iniciamos nossos estudos investigando os efeitos cardiovasculares da injeção de diferentes volumes (50, 100 ou 500 nL) de L-glutamato na concentração de 0,1 M (CE_{50}) no HL anterior (HLa), tuberal (HLt) ou posterior (HLp), de ratos não anestesiados ou anestesiados. Independente da região estimulada e do uso ou não de anestésico, a resposta hipotensora foi a predominante, sendo de magnitude similar nas três sub-regiões do HL (anterior, tuberal ou posterior), o que sugere ser o HL uma região predominantemente hipotensora. A bradicardia foi observada somente quando o HL de animais anestesiados foi estimulado e parece estar dissociada da resposta hipotensora, mostrando que diferentes mecanismos auto-

nômicos hipotalâmicos estariam controlando a pressão arterial e a frequência cardíaca. As respostas hipotensoras e bradicárdicas foram volume-dependentes, sugerindo uma ampla distribuição dos componentes neuroniais envolvidos na resposta ao longo da extensão do HL e que a resposta possa depender do número de neurônios atingidos.

A resposta hipotensora à injeção de L-glutamato no HL de ratos não anestesiados foi reduzida pelo pré-tratamento com antagonista glutamatérgico ionotrópico seletivo para receptor NMDA, o AP-7, sugerindo a participação destes receptores nesta resposta. Além disso, ao analisarmos a imunoreatividade para receptores NMDA no HL, observamos uma ampla distribuição destes receptores ao longo de todo o HL.

Ao compararmos as respostas cardiovasculares às injeções de L-glutamato, aplicadas uni ou bilateralmente no HL, observamos que após a injeção uni ou bilateral de L-glutamato ocorreram respostas hipotensoras semelhantes. Estes dados sugerem que a via neuronal hipotalâmica ativada pelo L-glutamato se projete bilateralmente de tal forma que a ativação de apenas um dos lados hipotalâmicos já seja suficiente para gerar resposta hipotensora máxima.

A injeção bilateral de antagonistas glutamatérgicos ionotrópicos, não seletivo (ácido quinurênico) ou seletivo (AP-7) para receptores NMDA, causou aumento ao longo do tempo na pressão arterial e na frequência cardíaca basal, indicando uma possível influência tônica dos receptores glutamatérgicos do HL sobre o sistema cardiovascular.

Para o estudo dos efeitos hemodinâmicos periféricos decorrentes da estimulação do HL com L-glutamato, avaliamos as alterações de fluxo sanguíneo e verificamos que a resposta hipotensora à injeção de L-glutamato no HL de ratos anestesiados foi decorrente de uma queda na resistência vascular periférica, principalmente associada ao trem-posterior.

O bloqueio do componente parassimpático cardíaco com metil brometo de homatropina (antagonista muscarínico) causou redução significativa na resposta de bradicardia à injeção de L-glutamato no HL de ratos anestesiados. O bloqueio simultâneo dos componentes parassimpático e simpático cardíacos, com metil brometo de homatropina e timolol (antagonista β 1 adrenérgico), determinou redução ainda maior na resposta de bradicardia à injeção de L-glutamato no HL de ratos anestesiados, sem modificação significativa na intensidade das quedas na pressão arterial e resistência vascular. Estes dados sugerem que a queda na pressão arterial independe de componente cardíaco, sendo essencialmente decorrente de queda na resistência periférica, bem como sugere que a resposta bradicárdica envolva tanto componentes parassimpáticos quanto simpáticos.

Finalmente, ao bloquearmos a substância cinzenta periaquedutal (PAG), com lidocaína, observamos uma redução significativa na resposta hipotensora à injeção de L-glutamato no HL de ratos não anestesiados, indicando o envolvimento desta região na via neuronal ativada após a injeção de L-glutamato no HL.

FISIOLOGIA

ANÁLISE DE FATORES HORMONAIS E FATORES MEDIADORES DA INFLAMAÇÃO EM MULHERES PORTADORAS DE ENDOMETRIOSE PÉLVICA

Andréa Pereira de Lima

Orientadora: Profa. Dra. Alzira A. M. Rosa e Silva
Tese de Doutorado apresentada em 20/02/2004

Objetivos: Este trabalho teve como objetivos a avaliação das concentrações de FSH, LH, estradiol, progesterona, cortisol, prolactina, CEA, histamina e óxido nítrico, no soro, no fluido peritoneal e no fluido folicular de mulheres com e sem endometriose pélvica.

Casística e Métodos: Foram selecionadas mulheres atendidas na Clínica Ginecológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo. Para a coleta do soro e do fluido peritoneal, foram selecionadas 49 mulheres submetidas à laparoscopia diagnóstica e/ou cirúrgica, sendo 21 mulheres normais e 28 mulheres inférteis com endometriose. Para a coleta de fluido folicular foram selecionadas 39 pacientes submetidas

à fertilização *in vitro*, sendo 18 mulheres inférteis sem endometriose e 21 mulheres inférteis com endometriose. A endometriose foi estadiada de acordo com a classificação da American Society for Reproductive Medicine (1996).

Resultados e conclusões: Mulheres inférteis com endometriose apresentaram concentração reduzida de gonadotrofinas, estradiol e progesterona no fluido peritoneal. Além disso, mulheres inférteis com endometriose apresentaram concentração reduzida de estradiol no folículo, o que indica que mulheres com endometriose podem ter esteroidogênese folicular prejudicada. As concentrações séricas de cortisol e prolactina foram significativamente maiores em mulheres inférteis com endometriose em relação a mulheres normais, o que constitui forte indício de uma

associação entre a endometriose e o estresse. Mulheres inférteis com endometriose leve e endometriose moderada-severa apresentaram concentração elevada de CEA no fluido folicular, em relação a mulheres inférteis sem a doença. Os altos índices de CEA no folículo de mulheres com endometriose podem ser, em parte, responsáveis pela esteroidogênese alterada destes folículos. Além disso, mulheres com endometriose apresentam concentração mais baixa de histamina no fluido peritoneal e no fluido folicular, o que pode causar distúrbios ovulatórios, problemas frequentemente associados à endometriose. Não observamos variação significativa da concentração de óxido nítrico no soro, no fluido peritoneal e no fluido folicular entre mulheres com endometriose e mulheres sem a doença.

O SÍTIO DA GLICINA NO RECEPTOR NMDA DE NEURÔNIOS DO NTS SUBPOSTREMAL

Vander Baptista

Orientador: Prof. Dr. Wamberto A. Varanda

Tese de Doutorado apresentada em 01/03/2004

O núcleo do trato solitário (NTS), localizado no bulbo dorso medial, é o local do primeiro contato sináptico de várias fibras aferentes viscerais, incluindo aquelas dos sistemas cardiovascular, respiratório, gustatório e gastrointestinal. O NTS subpostremal, região do NTS comissural que se estende do óbex até a ponta posterior da área postrema, tem importante participação na integração da informação aferente cardiopulmonar. Os receptores glutamatérgicos, NMDA (ácido - *N* - metil-*D* - aspártico) e não-NMDA, e GABAérgico, GABA_A (receptores do tipo A do ácido - γ - amino butírico) são os principais envolvidos na neurotransmissão no NTS, apesar de haver várias outras substâncias neurotransmissoras/moduladoras identificadas dentro do núcleo. O complexo canal-receptor NMDA necessita da ligação de dois agonistas, glutamato e glicina, para sua abertura. Enquanto o glutamato é considerado o agonista propriamente dito, a glicina, tida como co-agonista, parece ter um efeito modulatório, dependendo de sua concentração na fenda sináptica. Se a constante de dissociação da glicina do seu sítio no receptor NMDA for menor que a sua concentração na fenda sináptica, o sítio estará saturado e a modulação da neurotransmissão glutamatérgica NMDA pela glicina exógena, ou por aquela liberada

sinápticamente, não será possível. O nível de saturação do sítio da glicina varia nas diferentes regiões do SNC e depende fundamentalmente (1) da expressão dos transportadores de glicina (GLYT1/GLYT2) que podem manter a concentração deste aminoácido no microambiente da fenda sináptica NMDA em baixos níveis e (2) das subunidades que compõem o receptor NMDA. Neste trabalho nós investigamos a transmissão sináptica no NTS subpostremal e, particularmente, se o sítio da glicina nos receptores NMDA é ou não saturado de maneira que possamos inferir se a glicina pode atuar como um modulador da neurotransmissão NMDA. Empregamos a técnica de *patch clamp* em fatias transversais do tronco encefálico de ratos Wistar de 30-35 dias de vida. Os resultados obtidos mostram que: (1) as correntes pós-sinápticas espontâneas e evocadas por estimulação do trato solitário são resultado da ativação de receptores NMDA, não-NMDA e GABA_A, (2) os receptores NMDA e não-NMDA devem estar co-localizados, (3) os receptores NMDA são fracamente bloqueados pelo Mg²⁺ em voltagens próximas do potencial de repouso, sugerindo uma importante participação destes receptores na sinalização sináptica, (4) além do Cl⁻, outro íon, talvez o bicarbonato, permeia o complexo canal-receptor GABA_A e (5) o sítio da glicina no receptor NMDA não se encontra saturado, sugerindo que a glicina pode atuar como um modulador da neurotransmissão glutamatérgica, via receptores NMDA, no NTS subpostremal.

ACÇÃO DA AMIODARONA SOBRE OS REFLEXOS CARDIOVASCULARES EM NORMO E HIPERTENSÃO RENAL CRÔNICA MODELO 1-RIM 1-CLIQUE

Patrícia Fidélis de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Hélio Cesar Salgado

Dissertação de Mestrado apresentada em 02/03/2004

O ajuste da pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) é essencial para perfusão e integridade dos tecidos, e fatores que interferem nos mecanismos de controle destas importantes variáveis, especialmente quando apresentam importância clínica, merecem ser examinados. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da amiodarona (anti-arrítmico de classe III) sobre os reflexos cardiovasculares, a saber, o barorreflexo, reflexo Bezold-Jarisch e quimiorreflexo, em ratos Wistar normotensos e hipertensos renais crônicos 1-Rim 1-Clique (HR 1R1C). O quadro hipertensivo foi obtido aplicando-se um clipe de prata na artéria renal esquerda e removendo o rim direito. O protocolo experimental foi aplicado 30 dias após a cirurgia para desenvolvimento da hipertensão. Um dia antes dos experimentos, foram canuladas a artéria e veia para registro da PA e administração de drogas, respectivamente. O protocolo experimental consistiu de 15 a 20 minutos de registro basal da PA e FC seguido da administração endovenosa de amiodarona (50 mg/Kg) ou veículo. Após 20 minutos do início da infusão os reflexos cardiovasculares foram estimulados. Respostas reflexas da FC em função das variações da PA

foram obtidas administrando-se fenilefrina e nitroprusiato de sódio. A sensibilidade do barorreflexo foi avaliada por meio do índice do barorreflexo e da regressão linear. O reflexo Bezold-Jarisch foi estimulado pela administração de serotonina e avaliado pela magnitude das respostas de hipotensão e bradicardia. O quimiorreflexo foi estimulado pela administração de cianeto de potássio e avaliado em função da magnitude das respostas de hipertensão e bradicardia. A administração endovenosa de amiodarona promoveu hipotensão e bradicardia. Além disso, a amiodarona causou uma atenuação da sensibilidade do barorreflexo, reflexo Bezold-Jarisch e da resposta bradicárdica do quimiorreflexo em animais normotensos e HR 1R1C. A atenuação dos reflexos cardiovasculares pode ser atribuída ao efeito eletrofisiológico direto da amiodarona, tornando o nodo sinusal menos suscetível à ação autonômica e/ou efeito vagotônico. A bradicardia observada pode ser resultante do efeito da amiodarona sobre o nodo sinusal, efeito sobre o nodo átrio-ventricular, efeito simpatolítico e/ou um possível efeito vagotônico. A hipotensão por sua vez pode ser atribuída à vasodilatação periférica resultante de uma possível ação simpatolítica vascular, bloqueio de canais de Ca^{2+} , facilitação da liberação de óxido nítrico e venodilatação (redução da pré-carga). Em conclusão, o presente estudo demonstra uma atenuação dos reflexos cardiovasculares causada pela amiodarona.

PARTICIPAÇÃO DO DNA MITOCONDRIAL NA PRECOCIDADE SEXUAL DE BOVINOS

Marcos Fernando Oliveira e Costa

Orientadora: Profa. Dra. Alzira A. M. Rosa e Silva

Tese de Doutorado apresentada em 05/03/2004

As mitocôndrias têm função importante na oxidação fosforilativa que produz energia para as células, também é fundamental para a síntese de esteróides, o primeiro e limitante passo da esteroidogênese ocorre dentro da matriz mitocondrial. As mitocôndrias possuem material genético próprio (mtDNA) e transmitem-no por herança materna. Animais de duas linhagens maternas diferentes podem atingir a puberdade em períodos diferentes. Essa diferença pode ser entendida para as diversas variáveis estudadas, na avali-

ação dos eixos reprodutivo e de crescimento. Variações no mtDNA afetam indiretamente a puberdade, melhorando a taxa de crescimento e podem auxiliar ainda no metabolismo energético do eixo reprodutivo. O objetivo do presente trabalho foi observar como o mtDNA pode afetar a instalação da puberdade em bovinos. Bovinos machos da raça Nelore foram acompanhados dos 8 aos 18 meses de idade a cada duas semanas, para estimativas de peso corporal, perímetro escrotal, amostras de sangue para estimativas de testosterona e IGF-1 plasmáticos e coleta de sêmen para observação do aparecimento do primeiro espermatozóide. No início dos estudos os animais foram divididos em dois grupos de mtDNA diferentes, *taurus* e *indicus*, usando a técnica de PCR-RFLP,

usando a enzima de restrição *Hind III* para identificação de polimorfismos. Animais com mtDNA *indicus* atingiram a puberdade 40,2 dias antes que os animais com mtDNA *taurus*. Foram encontradas correlações positivas entre o peso corporal, perímetro escrotal, testosterona e IGF-1 plasmáticos. As variáveis estudadas aumentaram com a idade e a testosterona plasmática foi mais alta pela manhã do que ao meio dia. Não foram encontradas diferenças para os caracteres seminais. Acreditamos que a seleção de reprodutores passa necessariamente por uma avaliação criteriosa da performance reprodutiva dos animais. A indicação de que os animais portadores de mtDNA

indicus são precoces sexualmente em relação aos animais portadores de mtDNA *taurus* é um resultado importante, tanto do ponto de vista acadêmico-científico, quanto na área de aplicação. Nesse estudo, as associações entre o mtDNA e a puberdade dos animais sugere uma relação da herança materna com os eixos reprodutivo e do crescimento. O mtDNA *indicus* adiantou a instalação da puberdade, aumentou o peso corporal e o perímetro escrotal dos animais comparado ao mtDNA *taurus*. Esses resultados nos permitem propor que este polimorfismo no mtDNA seja um marcador de precocidade sexual para bovinos em condições tropicais.

FUNÇÃO CARDÍACA E MODULAÇÃO AUTÔNOMICA CARDIOVASCULAR EM RATOS COM DIABETE EXPERIMENTAL: EFEITO DO TRATAMENTO COM INSULINA

Giulianna da Rocha Borges

Orientador: Prof. Dr. Rubens Fazan Junior

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/03/2004

O diabetes melito é uma doença do sistema endócrino, causada por deficiência na secreção ou resistência à ação da insulina, com conseqüente hiperglicemia. Doenças cardiovasculares são frequentemente associadas ao diabetes. Infarto do miocárdio, doenças cerebrovasculares e outras vasculopatias obstrutivas têm uma incidência aumentada em pacientes diabéticos. Em grande parte, o risco cardiovascular aumentado no paciente diabético deve-se ao desenvolvimento de uma miocardiopatia própria da doença, chamada de miocardiopatia diabética. Essa miocardiopatia é caracterizada, principalmente, por uma deficiência funcional do miócito cardíaco, embora uma redução na quantidade de receptores beta-adrenérgicos na membrana dessas células também possa estar envolvida nessa miocardiopatia. Assim, os objetivos do presente estudo foram avaliar em ratos com diabetes experimental, tratados ou não com insulina: (1) níveis de pressão arterial e de frequência cardíaca, (2) índices de contratilidade miocárdicos (dP/dt), (3) resposta cardíaca à estimulação farmacológica de receptores beta-adrenérgicos com diferentes doses de dobutamina, (4) variabilidade da pressão arterial e dos índices de contratilidade miocárdica (dP/dt).

Ratos Wistar tiveram diabetes induzido por estreptozotocina (STZ), 15 dias antes dos experimentos. Metade desses animais foram tratados, com insu-

lina diariamente. Ratos controles receberam injeção de veículo.

Na véspera dos experimentos os animais foram implantados com cânulas na artéria e veia femoral, bem como no interior do ventrículo esquerdo (via carótida direita). Registros da PA, e pressão no VE foram realizados nos animais 24 h após os procedimentos cirúrgicos.

O diabetes levou a bradicardia, hipotensão e redução dos índices de contratilidade miocárdicos (dP/dt máxima e mínima), entretanto a insulino terapia preveniu essas alterações.

A estimulação farmacológica dos receptores beta-adrenérgicos elevou, de modo dose dependente, todos os parâmetros estudados (PA, FC, dP/dt). Apenas a resposta cronotrópica a dobutamina apresentou-se reduzida nos ratos diabéticos e o tratamento destes com insulina preveniu essa diferença.

A variabilidade de séries temporais basais, batimento a batimento, da PA e dP/dt foi estudada no domínio do tempo pelo cálculo da variância e no domínio da frequência por análise espectral autorregressiva. Os componentes oscilatórios encontrados no espectro dos parâmetros estudados foram quantificados em faixas de baixa (BF: 0,2-0,75 Hz) e alta (AF: 0,75-3,0 Hz) frequência. Os ratos diabéticos apresentaram uma tendência de redução na variância e na potência dos componentes de BF da PA e dP/dt máxima. Essa tendência foi parcialmente prevenida pela insulino terapia para a PA, mas não para a dP/dt máxima.

Concluindo, a redução dos índices de contratili-

dade miocárdicos, da PA e da FC, e também de suas respectivas variabilidades, sugerem que a função miocárdica está afetada no modelo de diabete estudado. Além disso, o tratamento com insulina nos ratos diabético, previne o desenvolvimento de tais alterações

cardiovasculares. A análise espectral mostrou que a dP/dt também apresenta oscilações em frequências semelhantes às da PA e FC. Estudos posteriores são necessários para melhor explorar o significado funcional das oscilações apresentadas pela dP/dt .

INFLUÊNCIA DO ÓXIDO NÍTRICO NA RECUPERAÇÃO PÓS-LESÃO DO NERVO CIÁTICO DE RATOS

Valéria Ferreira Garcez

Orientadora: Profa.Dra. Elaine A.Del Bel B.Guimarães
Dissertação de Mestrado apresentada em 20/04/2004

Estudos prévios mostraram que o óxido nítrico estaria envolvido na resposta do sistema nervoso à lesão de nervo periférico. Objetivo: O objetivo deste estudo foi investigar a participação do óxido nítrico na resposta funcional e histológica após lesão por compressão do nervo ciático em ratos. A recuperação foi acompanhada por meio da análise da Avaliação Funcional da Marcha (AFM) e calculada pelo Índice Funcional Ciático (SFI). Foram observadas mudanças morfológicas na Medula Espinhal e Gânglio da Raiz Dorsal (DRG) por meio da reação de hematoxilina-eosina e análise histoenzimológica da marcação para NADPH-diaforase. Método: Ratos Wistar anestesiados ($n=5-10$ /grupo) tiveram 1.5cm de segmento do nervo ciático direito exposto por uma incisão entre os músculos glúteo superficial e bíceps femoral e foram divididos em Grupo Controle: animais que tiveram o segmento de nervo colocado entre as superfícies do dispositivo de compressão (10 min.); e Grupo Compressão: animais submetidos à compressão do nervo ciático com 15Kgf durante 10 minutos. O Comporta-

mento foi avaliado por meio do SFI um dia antes e 1, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias depois de procedimento experimental. Cada grupo foi dividido em três subgrupos que receberam injeções i.p. de: 1) inibidor da sintase do óxido nítrico (NOS), N^w -nitro-L-arginine (L-NOARG), 4mg/Kg; 2) L-NOARG, 40mg/Kg; e 3) veículo (controle). As injeções eram aplicadas durante sete dias, uma vez um dia, começando no dia da lesão. Resultados: O SFI indicou recuperação completa no trigésimo dia. A compressão de nervo ciático seguida pela inibição da NOS não afetou a recuperação da função motora dos animais. Tanto a lesão por compressão de nervo ciático quanto a manipulação do nervo de animais controle (falso operado) induziram aumento na densidade de neurônios positivos para NADPH-d em neurônios da Medula Espinhal, quatro horas após o procedimento experimental. A compressão de nervo Ciático ou sua manipulação seguidas por inibição da NOS induziu redução na densidade de neurônios NADPH-d positivos, bilateralmente, na Medula Espinhal (corno dorsal e ventral) e DRG. Conclusões: Estes resultados sugerem participação do NO nos processos pós-lesão ou manipulação de nervo ciático em neurônios medulares e do GRD de ratos submetidos a inibição da NOS.

ESTUDO NEUROENATÔMICO DAS CONEXÕES DO NÚCLEO TUBERIS ANTERIOR DO HIPOTÁLAMO EM 01 PEIXE ELÉTRICO DE CAMPO FRACO, 'GYMNOTUS CARAPO COM A TÉCNICA DE AMINA DEXTRANA BIOTINILADA

Ana Catarina Casari Giassi

Orientadora: Profa. Dra. Anette Hoffmann
Dissertação de Mestrado apresentada em 20/05/2004

Os gimnotiformes formam um grupo relativamente pequeno de cerca de 85 espécies, habitantes das águas quentes da América do Sul e sul da Améri-

ca Central. Embora peixes elétricos de campo fraco sejam potencialmente hábeis em utilizar informações visuais, acústicas e táteis para orientação ou captura de presas, valem-se principalmente do sistema de orientação ativa, emitindo descargas do órgão elétrico e monitorando a retroalimentação dessas descargas por meio do sistema eletrosensorial. O sistema eletrosen-

sorial é utilizado tanto para eletrolocalização quanto para eletrocomunicação e a evolução desses mecanismos permitiu aos peixes elétricos de descarga fraca a atividade noturna em águas de pouca visibilidade, eliminando predadores visuais e possibilitando a exploração de fontes de alimentos pouco exploradas por outras ordens de peixes.

O sistema eletrosensorial provavelmente compartilha uma linhagem evolutiva comum com o sistema mecanosensorial da linha lateral e tem sido sugerido que estruturas eletrosensoriais evoluíram a partir da duplicação de áreas mecanosensoriais, mostrando a estreita relação entre esses dois sistemas.

O presente estudo fornece uma descrição e análise das conexões do núcleo hipotalâmico *anterior tuberis* de *Gymnotus carapo*, uma estrutura diencefálica supostamente envolvida no processamento de informações mecanosensoriais em teleostes. Para isso foram feitas deposições iontoforéticas unilaterais de dextrana de amina biotinizada (BDA: peso molecular: 3 KDa; Molecular Probe, USA) no *nucleus anterior tuberis*.

Os resultados obtidos sugerem que aferências mecanosensoriais da linha lateral para o *nucleus an-*

terior tuberis são espacialmente segregadas (terminam nos planos intermediários dessa estrutura) e derivam principalmente do toro semicircular ventral e em menor extensão do *nucleus praeeminetialis*. Também foram observadas conexões bidirecionais com estruturas eletrosensoriais (complexo centro-posterior/pré-marcapasso e subdivisão acústicolateral do núcleo eletrosensorial), além de aferências da subdivisão *beat* do núcleo eletrosensorial para o *nucleus anterior tuberis*. Além disso, informações olfatórias e multimodais convergem para o *nucleus anterior tuberis* por meio de projeções do telencéfalo ventral (sub-palial) e do complexo pré-glomerular, respectivamente. Aferências visuais adicionais chegam ao *nucleus anterior tuberis* por meio de projeções provenientes do *nucleus glomerulosus*.

Esses resultados sugerem a integração de sistemas sensoriais de diferentes modalidades com o sistema mecanosensorial. As conexões bidirecionais entre o *nucleus anterior tuberis* e as estruturas envolvidas no processamento de informações eletrosensoriais podem significar um substrato neuronal para a influência de aferências mecanorreptivas no controle motor da descarga do órgão elétrico desses animais.

CONTROLE DO EQUILÍBRIO ÁCIDO-BASE EM PIRAMBÓIA (*LEPIDOSIREN PARADOXA*), EXPOSTA A HIPERCARBIA CRÔNICA

Adriana Paula Sanchez Schiaveto

Orientador: Prof. Dr. Mogens Lesner Glass
Tese de Doutorado apresentada 21/05/2004

O peixe pulmonado, *Lepidosiren paradoxa*, possui pulmões bem desenvolvidos e brânquias reduzidas. Trabalhos realizados em nosso laboratório identificaram muitas semelhanças entre o controle respiratório dessa espécie e o de vertebrados terrestres. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo estudar qual o grau de controle do equilíbrio ácido-base desta espécie e como é realizado esse controle: através bicarbonato plasmático, como fazem os peixes teleostes, ou da ventilação pulmonar, como acontece nos tetrápodos.

Os experimentos envolveram um total de 24 animais que foram submetidos a canulação da aorta caudal para a retirada de amostras sanguíneas. A ventilação pulmonar foi medida através do método da pneumotacografia que permitia que o animal se movi-

mentasse livremente.

Os animais foram divididos em três grupos e submetidos aos seguintes protocolos experimentais: Protocolo 1: (peso=750±0,05g; média±SEM; n=6) hipercarbica aquática com 4% de CO₂ ou ~28 mmHg, mantendo-se o ambiente aéreo em normocarbica; Protocolo 2 (peso=518±0,03g; média±SEM; n=12) hipercarbica aquática com 7% de CO₂ ou ~48,5mmHg, também mantendo-se o ambiente aéreo em normocarbica e Protocolo 3 (peso=442±0,01g; média±SEM; n=6) hipercarbica aquática e aérea, simultaneamente, com 7% de CO₂. Todos os protocolos foram mantidos durante 48 horas.

Após a recuperação cirúrgica dos animais, amostras de sangue controle foram retiradas e analisadas.

As variáveis sanguíneas analisadas e seus respectivos valores em normocarbica foram: pH_a ~ 7.5; PaCO₂ ~ 17 mmHg; [HCO₃⁻]_{pl} ~ 22 mM. Após hipercarbica aquática de 4%, as mudanças no equilíbrio

ácido-base não foram significativas, mas a ventilação pulmonar aumentou aproximadamente 9 vezes após três horas de hiper carbia. A hiper carbia aquática de 7% promoveu mudanças significativas no equilíbrio ácido-base. PaCO_2 aumentou, já na primeira hora, para $37,4 \pm 3,1$ mmHg, enquanto o pH diminuiu para $7,21 \pm 0,02$. As respostas ventilatórias foram, novamente, bastante evidentes. A hiper carbia de 7% no ambiente aquático e aéreo, simultaneamente, provocou um impacto maior sobre o equilíbrio ácido-base. Nessa condição, a PaCO_2 aumentou consideravelmente, acima

do valor da PCO_2 da água, enquanto o pH diminuiu de $7,69 \pm 0,03$ (normocarbica) para $7,15 \pm 0,06$ após 48 h. Essas alterações foram acompanhadas por um aumento da ventilação pulmonar de aproximadamente 6,5 vezes após 3 horas.

Os resultados obtidos sugerem que não há modulação do equilíbrio ácido-base através do bicarbonato plasmático. Este padrão de resposta é bastante parecido com o das salamandras de respiração pulmonar e difere completamente daquele dos peixes teleosteos.

PARTICIPAÇÃO DE MIOFIBROBLASTOS MACRÓFAGOS TGF- β (TRANSFORMING GROWTH FACTOR-BETA), ENDOTELINA, ANGIOTENSINA II, FATOR NUCLEAR-KAPPA B E MAP QUINASE NA PROGRESSÃO DA LESÃO RENAL INDUZIDA PELO GLICEROL

Telma de Jesus Soares

Orientadora: Profa. Dra. Terezila Machado Coimbra
Tese de Doutorado apresentada em 28/05/2004

A injeção intramuscular de glicerol em ratos provoca necrose tubular aguda (NTA) que pode evoluir para fibrose túbulo-intersticial. O objetivo deste estudo foi avaliar a participação de miofibroblastos, macrófagos, fibronectina, TGF- β , endotelina, AII, NF- κ B e MAP quinases JNK e ERK na evolução da lesão renal induzida pelo glicerol.

Cento e dezesseis ratos Wistar foram tratados com uma injeção intramuscular de 8 ml/kg de glicerol a 50 % (4ml/kg em cada coxa) e 25 com glicerol + PDTC (um inibidor do NF- κ B). Os animais dos grupos controles receberam solução de NaCl 0,15 M (n=35) ou solução de NaCl 0,15 M + PDTC (n=10). O PDTC foi administrado intraperitonealmente, na dose de 50 mg/kg, 2 vezes ao dia, durante 20 dias. Esse tratamento foi iniciado dois dias antes da injeção de salina ou glicerol. Os animais foram anestesiados 5, 30 e 60 dias após as injeções de salina ou glicerol e submetidos à avaliação da função renal. Em seguida, os rins foram removidos para os estudos histológicos, imunohistoquímicos e imunoenzimáticos (ELISA).

Os resultados dos estudos histológicos e imunohistoquímicos foram avaliados por escores que refletem a extensão da área do córtex renal lesada ou marcada, respectivamente. Foi também determinado o número de células ED-1 (macrófagos) e AII positivas por área de $0,245 \text{ mm}^2$ de córtex renal. Os animais tratados com glicerol apresentaram aumentos

transitórios das concentrações plasmáticas de creatinina, da fração de excreção de sódio e potássio e da excreção urinária de albumina e quedas da TFG e da osmolalidade urinária, detectados 5 dias após a injeção ($p < 0,001$). Trinta dias após, esses parâmetros já haviam retornado aos valores próximos aos observados nos grupos controles. O tratamento com PDTC reduziu o aumento da creatinina plasmática e da fração de excreção de sódio e potássio observado no 5º dia após a injeção ($p < 0,05$). Os estudos histológicos demonstram alterações características de NTA nos animais sacrificados 5 dias após a injeção de glicerol e de nefropatia crônica (fibrose, dilatação e atrofia dos túbulos renais) nos animais sacrificados 30 e 60 dias após ($p < 0,001$). Nos animais tratados com glicerol e PDTC as lesões tardias foram mais discretas. Foi constatado também aumento do conteúdo de TGF- β nos lisados do córtex renal de ratos sacrificados 5 e 30 dias após injeção de glicerol ($p < 0,05$). Os resultados dos estudos de imunohistoquímica mostram aumento das expressões de α -SMA, fibronectina, ED-1, TGF- β , endotelina, AII, NF- κ B e MAP quinases (p-ERK e p-JNK) 5, 30 e 60 dias após a injeção de glicerol ($p < 0,05$). O tratamento com PDTC reduziu o número de células ED-1 positivas e as alterações das expressões de NF- κ B e do p-JNK nos animais tratados com glicerol ($p < 0,05$).

Concluindo, os resultados mostram que a NTA induzida pelo glicerol pode progredir para fibrose intersticial e sugerem que os miofibroblastos, macrófagos, AII, TGF- β , endotelina, NF- κ B e MAP quinases (p-JNK e p-ERK) devem contribuir para esse processo.

EFEITO DO ESTRADIOL NO METABOLISMO DE PROTEÍNAS EM MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATAS

Maria Ida Bonini Ravanelli

Orientadora: Profa. Dra. Isis do Carmo Kettelhutt
Dissertação de Mestrado apresentada em 23/06/2004

Tendo em vista que pouco se conhece sobre as ações dos esteróides ovarianos no metabolismo de proteínas de músculos esqueléticos de ratas, o presente trabalho teve como objetivo investigar os efeitos do estradiol, um dos mais potentes hormônios ovarianos, nos processos de degradação e síntese de proteínas em músculos esqueléticos de ratas. Para isso, utilizamos ratas em duas faixas de idade: pré-púberes e adultas, ovariectomizadas, tratadas ou não com benzoato ou cipionato de estradiol na dose (1µg/100g de peso corporal). Neste trabalho foram utilizadas técnicas distintas e adequadas para cada faixa de idade do animal. O metabolismo de proteínas em animais jovens foi investigado pelo uso de técnicas *in vitro* (músculos incubados) que possibilitaram o estudo do tratamento com o hormônio na atividade proteolítica total e de cada uma das vias envolvidas na degradação de proteínas. Já em ratas adultas foi utilizada a técnica da microdiálise, que possibilitou o estudo *in vivo* e *in situ* dos efeitos decorrentes da ovariectomia e da terapia hormonal. Os resultados mostraram que a ovariectomia e o tratamento com benzoato de estradiol por 6 dias não alteraram o peso corporal e a ingestão alimentar dos animais jovens. Especificamente

no metabolismo de proteínas, não houve alteração da proteólise total, assim como não houve alteração em nenhuma das vias proteolíticas investigadas: lisossomal, dependente de cálcio, dependente de ATP-Ub-proteasoma e residual. No entanto, o estradiol aumentou em 10% a velocidade de incorporação de tirosina marcada em músculos *soleus*, rico em fibras oxidativas do tipo I, mas não em músculos EDL, ricos em fibras glicolítica dos tipo II.

Em ratas adultas ovariectomizadas o tratamento com cipionato de estradiol promoveu uma redução importante no ganho de peso corporal das ratas a partir do 12º dia de tratamento, sem alterar, no entanto, a quantidade de alimento ingerido. Além disso, animais tratados por 7 e 14 dias com estradiol apresentaram uma diminuição de 21% na concentração plasmática de tirosina, uma redução de 26% da concentração do mesmo aminoácido no interstício do músculo *tibialis anterior*, além de uma redução de 28% no índice que estima a proteólise local (calculado pela subtração da concentração plasmática da concentração intersticial de tirosina). De acordo com esses dados, podemos sugerir que o estradiol exerce um efeito estimulatório no metabolismo de proteínas de músculos esqueléticos, que pode ocorrer através de um aumento da síntese ou de uma redução na degradação das proteínas, certamente contribuindo em parte, para manutenção da massa muscular em ratas jovens e adultas.

RESPOSTAS AUTONÔMICAS E RESPIRATÓRIAS À MICROINJEÇÃO DE ATP NO NTS INTERMEDIÁRIO E NO NTS CAUDAL EM RATOS ACORDADOS E NA PREPARAÇÃO CORAÇÃO-TRONCO CEREBRAL ISOLADOS

Vagner Roberto Antunes

Orientador: Prof. Dr. Benedito H. Machado
Tese de Doutorado apresentada em 28/06/2004

No presente estudo avaliamos a participação da vasopressina na resposta pressora decorrente da ativação dos quimiorreceptores periféricos com KCN, bem como as respostas autonômicas e ventilatórias decorrentes da microinjeção de ATP no NTS intermediário ou caudal de ratos não-anestesiados. Além disso, estudamos as alterações na atividade do nervo frênico, na atividade do nervo simpático e na frequência cardíaca decorrentes da ativação do quimiorreflexo e da microinjeção de ATP no NTS intermediário e caudal na preparação CTCL.

Os resultados mostraram que a prévia injeção

intravenosa de antagonista dos receptores V_1 da vasopressina não promoveu nenhuma alteração nas respostas pressora e bradicárdica à ativação do quimiorreflexo em ratos não-anestesiados, sugerindo que a vasopressina não participa diretamente da resposta pressora promovida pela ativação desse reflexo. Avaliamos também a participação dos componentes autonômicos (simpático e parassimpático) sobre as respostas cardiovasculares (aumento na pressão arterial e bradicardia) promovidas pela microinjeção de ATP no NTS intermediário de ratos não-anestesiados. Os resultados desse protocolo nos mostraram que essas respostas cardiovasculares são processadas de maneira independente, pois a prévia injeção de prazosin (antagonista alfa₁-adrenérgico) aboliu a resposta pressora sem afetar a bradicardia e, a prévia injeção

de metil-atropina (antagonista dos receptores colinérgicos muscarínicos) bloqueou a bradicardia sem afetar a resposta pressora.

Tendo em vista que as respostas cardiovasculares à microinjeção de ATP no NTS intermediário apresentaram um padrão semelhantes às obtidas quando da ativação do quimiorreflexo (aumento na pressão arterial e bradicardia) em ratos não-anestesiados, um outro objetivo do presente trabalho foi avaliar e comparar os padrões das respostas ventilatórias frente a essas duas situações. Os resultados mostraram que as respostas respiratórias não foram semelhantes, pois a ativação do quimiorreflexo promoveu taquipnéia e a microinjeção de ATP no NTS intermediário resultou em apnéia.

Avaliamos também os efeitos da microinjeção de ATP no NTS comissural caudal sobre a pressão arterial, frequência cardíaca e ventilação comparando-as com as respostas promovidas pela ativação do quimiorreflexo, uma vez que, vários trabalhos na literatura evidenciaram que as aferências dos quimiorreceptores periféricos se projetam principalmente para a região comissural caudal do NTS. Os resultados mostraram que a microinjeção de ATP no NTS comissural caudal promoveu um padrão de respostas cardiovasculares e respiratórias muito semelhantes à ativação dos quimiorreceptores, ou seja, aumento na pressão arterial, queda de menor magnitude na frequência cardíaca e taquipnéia. Esses resultados sugerem que o ATP atuando em neurônios, principalmente na região comissural caudal do NTS, desempenha um importante papel sobre as alterações cardiovasculares e respiratórias, no entanto, não podemos afirmar se essa purina está realmente envolvida na neurotransmissão dos ajustes cardiorespiratórios das vias do quimiorreflexo.

Nos experimentos conduzidos na preparação CTCL, nós observamos que a estimulação dos quimiorreceptores periféricos com KCN promoveu um au-

mento significativo na atividade dos nervos frênico e simpático torácico e uma intensa bradicardia. Um outro aspecto abordado no presente trabalho foi o efeito da microinjeção de doses crescentes de ATP (1, 5, 25, 100 e 500 mM) no NTS intermediário e comissural caudal sobre a atividade dos nervos frênico e simpático e sobre a frequência cardíaca na preparação CTCL. Os nossos resultados evidenciaram que a microinjeção de ATP no NTS intermediário promoveu uma redução na atividade do nervo frênico e na frequência cardíaca, que seguiu um perfil dose-dependente. Em relação à atividade simpática verificamos que a dose de 5 até a dose de 500 mM de ATP microinjetada no NTS intermediário promoveu diminuição na atividade do nervo simpático, porém não seguiu um padrão dose-dependente. Em relação aos efeitos da microinjeção de doses crescentes de ATP no NTS comissural caudal nossos resultados evidenciaram que houve um aumento na atividade do nervo frênico seguindo um perfil dose-dependente. As alterações sobre a frequência cardíaca resultaram em bradicardia, a qual foi de pequena magnitude e não seguiu um padrão dose-dependente. Já os efeitos sobre a atividade simpática nós observamos que a microinjeção de ATP no NTS comissural caudal não promoveu alterações significativas sobre essa variável. Nossos dados, na preparação CTCL, nos permitem sugerir que esse modelo experimental é adequado para estudarmos a neurotransmissão, no NTS, dos ajustes autonômicos e ventilatórios decorrentes da ativação do quimiorreflexo. Em relação aos efeitos do ATP, nós sugerimos que o ATP atuando em neurônios da região intermediária do NTS poderia estar envolvido principalmente no processamento dos ajustes cardiorespiratórios da via do barorreflexo. Por outro lado, o efeito do ATP sobre neurônios da região comissural caudal do NTS poderia estar envolvido principalmente com o processamento dos ajustes ventilatórios nas vias do quimiorreflexo, porém não necessariamente com a resposta simpato-excitatória desse reflexo.

GENÉTICA

PESQUISA DE MUTAÇÕES NO GENE CDKN2A EM PACIENTES COM CRITÉRIOS CLÍNICOS DE MELANOMA HEREDITÁRIO

Jair Huber

Orientadora: Profa.Dra. Éster Silveira Ramos
Dissertação de Mestrado apresentada em 28/01/04

A incidência do melanoma, tumor maligno que se origina dos melanócitos, vem crescendo em todo o mundo. História familiar positiva da doença tem sido

relatada em 8 a 14% dos pacientes afetados. Muitos estudos sugeriram o envolvimento da região 9p21, onde se encontra o gene CDKN2A, no surgimento dessa neoplasia. Este é um gene supressor tumoral clássico e a inativação dos dois alelos tem sido detectadas em linhagens celulares tumorais de famílias com melanoma hereditário e esporádico. Mutações em linhagens germinativas do gene CDKN2A têm sido identificadas em aproximadamente 20% das famílias com melanoma familiar. Utilizando técnicas de biologia molecular como Reação em Cadeia da Polimerase

(PCR), Polimorfismo de Conformação de Fita Simples (SSCP) e seqüenciamento, este projeto estudou 22 pacientes com critérios clínicos de melanoma hereditário e encontrou uma mutação (P48T) em um paciente numa família de três afetados. Em 13 casos foi identificado pelo menos um dos três polimorfismos: 500 C>G (31,9%), 540 C>T (27,3%) e A148T (4,5%). Os resultados demonstram a importância da pesquisa de mutações no gene CDKN2A principalmente em famílias com dois ou mais membros afetados pela doença.

DIAGNÓSTICO GENÉTICO PRÉ-IMPLANTACIONAL DE ANEUPLOIDIAS CROMOSSÔMICA

Juliana Fabrícia Cuzzi

Orientadora: Profa.Dra. Lucia Regina Martelli
Dissertação de Mestrado apresentada em 12/02/04

A proposta deste trabalho foi estabelecer o Diagnóstico Pré – Implantacional das aneuploidias dos cromossomos X, Y, 13, 18 e 21 por meio da técnica de hibridação *in situ* fluorescente (FISH) em embriões criopreservados. Para a realização desse estudo foram utilizados 32 blastômeros removidos por biópsia de 22 embriões humanos criopreservados e posteriormente descongelados. Os diagnósticos realizados em 10 núcleos, obtidos a partir de 8 embriões que retomaram o processo de divisão celular após 24 horas de

cultivo, foram comparados às análises feitas em 22 núcleos biopsiados de 14 embriões que cessaram o desenvolvimento após descongelamento. A quantidade de núcleos aneuploides dentre os embriões que retomaram a divisão celular e os que interromperam o processo de clivagem foram 1 e 10 respectivamente. Esses valores foram comparados pelo teste estatístico de χ^2 . Os resultados demonstraram alta taxa de aneuploidias nos núcleos analisados, porém sem diferença significativa entre os grupos ($\alpha=0,05$). Esses dados estão de acordo com a literatura e confirmam a alta incidência de aneuploidias cromossômicas em embriões pré-implantação independentemente da retomada do processo mitótico após o descongelamento.

ANÁLISE CITOGENÉTICA E DETECÇÃO DE MUTAÇÕES NO GENE TP53 EM TUMORES E PROCESSOS PRÉ-NEOPLÁSICOS DA MAMA HUMANA

Leandra Linhares Lacerda

Orientadora: Profa.Dra. Cacilda Casartelli
Dissertação de Mestrado apresentada em 04/03/04

Geralmente lesões iniciais na mama humana possuem uma proliferação limitada; entretanto, às vezes, podem representar patologias pré-cancerígenas. O câncer de mama é a doença que mais afeta as mulheres no Brasil. Devido ao diagnóstico precoce e ao resultado de um tratamento mais ativo contra a difusão sistêmica, houve a melhoria do prognóstico de pacientes com câncer de mama. O desenvolvimento de um modelo genético de múltiplos passos para câncer mamário é muito importante, pois pode revelar a relação entre alterações cromossômicas e moleculares e

as condições do tecido. Foi demonstrado que a detecção de mutações em TP53 é um fator de prognóstico em pacientes com câncer de mama. O gene TP53 humano está localizado no braço curto do cromossomo 17, na banda 13, possui um tamanho de 20kb e 11 éxons. A proteína p53 selvagem é um fator de transcrição multifuncional envolvido no controle do ciclo celular, na manutenção do DNA e integridade do genoma, reparo após o dano do DNA e apoptose.

Análises de bandamento cromossômico e do estado mutacional do gene TP53 (com as técnicas de PCR-SSCP e seqüenciamento gênico) em pacientes com lesões proliferativas mamárias foram realizadas. Foram encontradas alterações em vários cromossomos, sendo a monossomia do cromossomo 8 e a trissomia do cromossomo 22 as alterações mais freqüentes.

tes nos casos benignos. Nos carcinomas, observamos as monossomias dos cromossomos X, 6 e 22 como mais freqüentes. Não foi detectada nenhuma anormalidade nos cromossomos 1, 9 e 11. A análise das seqüências dos nucleotídeos através do método de di-

deoxinucleotídeo revelou a substituição de T → C no intron 6 na posição 13989. Estes resultados, juntamente com os resultados da literatura, foram usados para analisar um modelo de múltiplos passos para a tumorigênese do câncer mamário.

ESTUDO DE UM TRANSPORTADOR ABC, EXPRESSO NOS ÓRGÃOS REPRODUTIVOS DE NICOTIANA TABACUM, ATRAVÉS DE PLANTAS TRANSGÊNICAS

Cláudia Tomiko Otsu

Orientadora: Profa. Dra. Maria Helena Souza Goldman
Tese de Doutorado apresentada em 09/03/2004

O pistilo é um órgão estrutural e bioquimicamente complexo que produz o gametófito feminino e discrimina entre os diferentes tipos de grãos de pólen recebidos. Portanto, exerce um papel decisivo na determinação do genótipo do futuro embrião e planta. O gene NtSAT1, isolado em nosso laboratório, codifica uma proteína da família de transportadores ABC e se expressa predominantemente em estigmas e estiletos de *Nicotiana tabacum*. Neste trabalho foi seqüenciada uma região de 2,6kb acima do início de tradução do gene NtSAT1 e uma região de 0,9kb abaixo da região codificadora da mesma. Esta região de 2,6kb foi clonada em um vetor de expressão em plantas, na mesma fase de leitura de tradução, com a região codificadora do gene GUS (clone pCO24), e transferida para plantas de *Nicotiana tabacum*, via transformação por *Agrobacterium tumefaciens*. Além disso, foram obtidas plantas transgênicas, transformadas com genes quiméricos, contendo a região codificadora do gene NtSAT1 nas orientações sense (clone pCO30) ou antisense (pCO31), sob o controle do promotor 35S.

Uma análise computacional da região de 2,6kb do promotor do gene NtSAT1 foi feita através dos programas TRANSFAC e PLACE para identificar possíveis elementos cis-regulatórios. Nesta análise, um sítio de ligação para Agamous foi identificado e poderia explicar o padrão de expressão observado no gene NtSAT1, de expressão em pistilos e estames.

Plantas transgênicas primárias, transformadas com a construção pCO24, foram obtidas e a atividade de GUS foi analisada através dos métodos fluorimétrico e histoquímico. Na análise fluorimétrica, a atividade de GUS foi detectada na antera e pouca ou nenhuma expressão foi observada em estigmas e estiletos. Na análise histoquímica a atividade de GUS foi detectada no estômio e nos feixes vasculares das anteras, mas

nenhuma expressão foi observada no estigma e estilete das plantas transgênicas. Além disso, a atividade de GUS foi detectada em outros tecidos vegetativos como caule, ovário e sépala de algumas plantas. Estes resultados indicam que o fragmento de 2,6kb da seqüência 5' a montante do gene NtSAT1, não apresenta a combinação de elementos cis-regulatórios necessários e suficientes para direcionar a expressão do gene neste órgão. Entretanto, a mesma região de 2,6kb possui os elementos cis-regulatórios necessários e suficientes para direcionar a expressão nas anteras. A análise de Southern blot realizada com DNA genômico das plantas da geração T-1, digerido com a enzima EcoRI, e hibridado com a sonda preparada a partir do promotor do gene NtSAT1, indica que estas plantas possuem uma cópia do transgene inserido no seu genoma. Este resultado sugere que a variação nos níveis de expressão de GUS, detectada nas anteras de diferentes plantas desta geração, foi devido ao efeito de posição do transgene no genoma destas plantas.

A análise de expressão do gene NtSAT1 nas plantas transgênicas, transformadas com a construção pCO30 (região codificadora do gene NtSAT1, na orientação sense, sob o controle do promotor 35S), foi feita por "dot blot". Nesta análise, RNA total extraído de estigmas e estiletos do estágio 10 de desenvolvimento, de cada uma das plantas transgênicas, foi hibridado com a sonda de cDNA do gene NtSAT1. A análise indica que nenhuma planta apresentou super-expressão do gene NtSAT1. Entretanto, duas plantas mostraram níveis de expressão deste gene reduzida. Na análise de "dot blot" das plantas transgênicas, transformadas com a construção pCO31 (região codificadora do gene NtSAT1, na orientação antisense, sob o controle do promotor 35S), o RNA total foi hibridado com a sonda da região 5' UTR do gene NtSAT1. O resultado indica que duas plantas apresentam níveis de expressão reduzida do gene NtSAT1. Entretanto, nenhuma alteração fenotípica foi observada nas plantas que apresentaram expressão reduzida do gene

NtSAT1 e todas as plantas produziram frutos e sementes normais. Estes resultados sugerem que os níveis de redução da expressão do gene NtSAT1 não

foram suficientes para abolir a função deste gene ou ainda que outros genes poderiam suprir a função exercida pelo mesmo.

ESTUDO CITOGÊNÉTICO MOLECULAR DO CROMOSSOMO 17 EM PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE LISENCEFALIA

Ana Carolina Laus

Orientadora: Profa.Dra. Lucia Regina Martelli

Dissertação de Mestrado apresentada em 12/03/04

A Lisencefalia clássica ou tipo I (LIS) é uma malformação que se caracteriza por agiria e paquigiria cortical em regiões do córtex cerebral, causada por um defeito de migração neuronal durante o desenvolvimento embrionário. Pode se apresentar de duas formas: Síndrome de Miller-Dieker (MDS) e Sequência de Lisencefalia Isolada (ILS). A MDS inclui, além da lisencefalia, anomalias craniofaciais e outras malformações congênitas associadas, sendo que quase 100% dos pacientes possuem deleção do gene LIS1, mapeado em 17p13.3. Já a ILS apresenta apenas a malformação cortical e pode estar associada com alterações (deleção de todo gene ou deleção/mutação intragênica) no gene LIS1 ou no gene DCX, mapeado em Xq22.3-q23, que codificam proteínas associadas ao movimento neuronal. Além da etiologia genética, a lisencefalia pode ser causada por fatores ambientais, como infecções intrauterinas, radiações ionizantes ou uso de substâncias tóxicas durante a gravidez, como álcool e cocaína. O presente trabalho teve por objetivo a análise citogenética molecular do braço curto do cromossomo 17 em dez pacientes com diagnóstico de lisencefalia para estudo da correlação genótipo-fenótipo e aconselhamento ge-

nético adequado para suas famílias. Foram realizadas análises citogenética convencional e molecular de pacientes que apresentavam diagnóstico de lisencefalia confirmado por Ressonância Magnética do Crânio. A análise citogenética avaliou alterações cromossômicas numéricas e estruturais a partir de bandamento GTG, enquanto que a técnica de FISH avaliou, através das sondas específicas MDS/ILS e telomérica 17p, possíveis deleções nas regiões 13.3 e telomérica do braço curto do cromossomo 17. Em nenhum dos 10 pacientes foram encontradas alterações cromossômicas numéricas ou estruturais, assim como deleções do gene LIS1 ou rearranjos na região telomérica 17p. O protocolo de investigação permitiu a exclusão do diagnóstico da síndrome de Miller-Dieker em todos os pacientes avaliados, assim como a hipótese diagnóstica de lisencefalia ligada ao cromossomo X em uma família, modificando os riscos de recorrência da doença. Considerando que a lisencefalia é resultante de mecanismos genéticos e bioquímicos complexos e que a avaliação realizada neste estudo se limitou às regiões 17p13.3 e do telômero, sugerimos que a malformação cortical dos pacientes que compõem nossa amostra estaria relacionada a outros fatores, como mutações intragênicas no gene LIS1 não detectadas pela técnica de FISH, alterações no gene DCX, alterações nos genes que codificam as subunidades PFAH1B2 e PFAH1B3 ou ainda causas exógenas.

AVALIAÇÃO CITOGÊNÉTICA SOMÁTICA EM CRIANÇAS COM ANOMALIAS CONGÊNITAS SUBMETIDAS À NECROPSIAS

Vanessa Silva Bitar

Orientador: Prof. Dr. João Monteiro de Pina Neto

Tese de Doutorado apresentada em 26/03/2004

As anomalias congênitas podem interferir seriamente com a viabilidade e o bem estar de um indivíduo. Sua ocorrência em recém nascidos é estimada

entre 2 a 3% constituindo um fator importante de mortalidade perinatal e infantil. Uma das principais causas das malformações congênitas em recém nascidos são as alterações cromossômicas, portanto, a presença de uma síndrome malformativa ou dismórfica é uma das principais indicações para a realização de um estudo citogenético. Neste trabalho as malformações congênitas foram encontradas em 39,7% das necropsias

pediátricas realizadas no HC-FMRP-USP. Destes 288 casos (39,7%) com anomalias congênitas 199 foram indicados ao exame citogenético, obtendo-se o resultado citogenético em 184 casos, através da casuística selecionada e estudo genético-clínico concomitante. Os tecidos utilizados na investigação citogenética foram: sangue, pele, fáscia do músculo reto abdominal e tendão, com a finalidade de avaliar os diferentes tecidos disponíveis quanto à adequação para estudos cromossômicos em necropsias pediátricas. As aberrações cromossômicas foram encontradas em 5,6% dos casos em relação ao total de necropsias pediátricas; em 14,2% dos casos em relação ao total de casos

com anomalias congênitas: em 20,6% dos casos submetidos à avaliação citogenética e em 22,3% dos casos cariotipados. Entre os 41 casos de anomalias cromossômicas encontrados, 33 eram de aberrações numéricas e 8 de aberrações estruturais. O tecido com melhor crescimento celular foi o sangue que apresentou a menor taxa de contaminação. A probabilidade de obtenção do cariótipo foi maior quando utilizado três tecidos. Conclui-se que a metodologia para o estudo citogenético de necropsias pediátricas é adequada para a detecção das aneuploidias e aberrações cromossômicas estruturais, mas não para as aneuploidias dos cromossomos sexuais.

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA EXPRESSÃO DE GENES REGULADORES DA RECOMBINAÇÃO V(D)J DE RECEPTORES DE CÉLULAS T

Renato Souza Cardoso

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Aleixo S. Passos Junior
Tese de Doutorado apresentada em 02/04/2004

A análise funcional do desenvolvimento de células T tornou-se possível após a padronização do método de timo fetal *in vitro* (FTOC) na qual a estrutura tridimensional do timo, que é muito importante para a sua maturação, é mantida. Uma vez que a radiação ionizante afeta o desenvolvimento das células T, o objetivo deste estudo foi avaliar se a radiação modula a recombinação V(D)J VB8.1-BDJ2.1 no modelo FTOC e buscar genes candidatos a estarem envolvidos nesse processo.

O timo fetal de Balb-c 13-15 pc foi cultivado por dois dias (d=2), mimetizando os dias 15-17 do desenvolvimento *in vivo*. O timo dos fetos 15pc foi cultivado também por 5 dias (d=5), imitando o 20º dia de desenvolvimento *in vivo*. Imediatamente após o estabelecimento da cultura os FTOCs foram irradiados com 4 Gy de raios gama. A morte celular foi analisada ao microscópio de epi-fluorescência para avaliar a viabilidade do FTOC. As frequências de células apoptóticas e necróticas não mostraram alterações significativas.

Um método semi-quantitativo baseado em PCR foi desenvolvido para se detectar e quantificar a recombinação entre VB8.1-BDJ2.1. A expressão diferencial de mRNA foi avaliada usando microarrays de cDNA em membranas de nylon, contendo um total de 9.216 seqüências gênicas. Verificou-se que a radiação ionizante não influenciou a emergência da recombina-

ção V(D)J, mas foi capaz de aumentar a quantidade de segmento recombinado de DNA em 5dFTOC15pc.

A análise de padrões de expressão gênica por microarray mostrou que dentre as 9216 seqüências testadas foi possível detectar a presença de genes diferencialmente expressos para comparações pareadas entre os diferentes dias de desenvolvimento ou a resposta à radiação. Foi demonstrado que genes de diversas classes foram reprimidos nos estágios de desenvolvimento posteriores à emergência de recombinação V(D)J. Dentre estes podemos citar os que atuam em vias de sinalização (**SOCs3**, **Ppp2r2a** e **Ppp2r5e**), transcrição (**Tcf20** e **Tcfe2a**) e controle de ciclo celular (**Rbbp4** e **DUSP2**).

Foi também demonstrado que a radiação ionizante modulou a expressão de muitos genes. Os genes que tiveram a expressão aumentada em resposta à radiação são participantes de vários processos, tais como: apoptose (**NFkb1**), diferenciação (**Socs 3**), transcrição (**Irf3**), controle de ciclo celular (**Myc**, **RAD9**, **CDC16**, **IGFbp4** e **IGFbp7**) e metabolismo de DNA/RNA (**Hist 1hic**, **FancG**, **Dao1**, **Sfr7 Pot1**, **Chd4**, **Topo2a**, **Eif3s3** e **Sfr1**). A radiação levou à repressão de genes de controle de ciclo celular (**CDKkap1**, **Psmd8** e **Rela**), transcrição (**Miz1**, **Strap**, **Papola**, **Srfs1** e **Pot1**) e transdução de sinal (**Pak4**, **PDK2**, **Eifebp2** e **Iggap1**).

A análise de agrupamento hierárquico foi capaz de detectar a presença de seis conjuntos de genes que foram agrupados segundo os perfis de expressão gênica. Os grupos 1 e 2 apontam genes (**ADNP**, **pten** e **stat4**) reprimidos em FTOCs que mimetizam o timo

controle no 20º dia de desenvolvimento e os que mimetizam o timo irradiado no 17º dia de desenvolvimento.

Os grupos 3 e 4 de co-expressão apontam genes com expressão aumentada em culturas irradiadas que simulam o 16º e 17º dia de desenvolvimento em comparação com culturas controles. Dentre outros genes que estão presentes destacam-se no grupo 3: **nfyc**, **anxa1**, **jak3**, **lck**, **il11ra2**, **il7r**; e no grupo 4: **Tera**, **rpl27a**, **rbbp7**, **fgfr1**, **sox4** e **Artemis**

O grupo 5 aglomerou genes que apresentaram alta expressão em culturas irradiadas que simulavam o timo em seu 15º dia de desenvolvimento. Neste agrupamento destacam-se os genes: **syk**, **rad51ap1**, **pold1**, **igfbp7**, **axl** e **birc5**.

No grupo 6 foi detectada a co-expressão de diversos genes efetores da recombinação V(D)J (**XRCC4**, **RAG2**, **DNA PK-cs**) com genes que atuam neste processo, mas que ainda não têm uma função atribuída dentro da cascata molecular (**WRN**, **II-7**) e genes que já foram identificados como candidatos a atuarem no mecanismo de controle do rearranjo

(**II2rb**, **II2LR1 II6**). Em adição, também foram incluídos neste grupo genes que não haviam sido relacionados previamente ao processo de recombinação V(D)J. Destes genes destacam-se **Satb1** e **LR1** que apresentam potencial de atuarem no controle da acessibilidade do gene à maquinaria de recombinação e o gene **cross link repair 1b** (homólogo de **Ártemis**) cujo potencial reside em abrir as estruturas de DNA em forma de grampo que são formadas durante o processo de recombinação.

Concluindo, a evolução do mecanismo de recombinação V(D)J ocorre no sistema FTDC de forma similar ao desenvolvimento do timo *in vivo*. Apesar de a radiação não induzir alterações na emergência dos rearranjos, esta induziu um aumento significativo na recombinação VB8.1-BDJ2.1 V(D)J em 5dFTDC15pc. A análise de expressão gênica por microarrays demonstrou a co-expressão de vários genes envolvidos no mecanismo de recombinação V(D)J e possibilitou a identificação de novos genes candidatos a atuarem neste processo.

GENE TSPY: SEXAGEM E EXPRESSÃO GÊNICA EM BOVINOS

Daniela Cristina Lemos

Orientador: Prof. Dr. Raysildo Barbosa Lôbo
Tese de Doutorado apresentada em 15/04/2004

O TSPY (*Testis-Specific Protein, Y-encoded*), gene cromossomo Y-específico, apresenta-se na forma de múltiplas cópias e está relacionado à espermatogênese. No presente estudo, 100 amostras de sangue bovino de animais pertencentes ao PMGRN (Programa de Melhoramento Genético da Raça Nelore) (50 machos e 50 fêmeas) foram estudados através de PCR. Todos os machos e nenhuma fêmea foram considerados TSPY-positivos. Em um segundo estudo, foi analisado sangue periférico de 25 novilhas prenhes,

através de PCR convencional. A presença de seqüência do gene TSPY foi comparada com o sexo fenotípico. De 12 novilhas prenhes de fetos machos, nove (75%) foram TSPY-positivas (três em cada trimestre). Todas as 13 (100%) fêmeas prenhes de fetos femininos foram TSPY-negativas. Em um terceiro estudo, foi observada a expressão do gene TSPY em embriões bovinos produzidos *in vitro* (2-8 células, 16-32 células e mórulas-blastocistos) através da técnica de RT-PCR. Os resultados mostram, pela primeira vez na literatura, que seqüências do gene TSPY podem ser utilizadas na sexagem de bovinos, inclusive dos fetos através de sangue materno, e a sua expressão pode ser detectada em períodos tão precoces quanto em embriões de 2-8 células.

RESPOSTA CELULARES AO ESTRESSE GENOTÓXICO INDUZIDO PELA RADIAÇÃO IONIZANTE E PELO QUIMIOTERÁPICO TEMOZOLOMIDA EM LINHAGEM ASTROCÍTICA U343 MG-A

Carmen Lucia Bassi

Orientadora: Profa. Dra. Elza Tiemi Sakamoto Hojo
Tese de Doutorado apresentada em 23/04/2004

Os agentes químicos ou físicos usados nas terapias anticâncer ativam vias de sinalização celular que conduzem ao bloqueio ou retardo no ciclo celular, ati-

vação de mecanismos de reparo do DNA e apoptose. Tais mecanismos não são bem elucidados nos diferentes tipos celulares, quer sejam células normais, transformadas ou tumorais.

Neste trabalho, foram avaliadas as respostas celulares apresentadas pela linhagem astrocítica U343 MG-a em resposta a diferentes doses de radiação ionizante (0,5, 1 e 2 Gy) e duas concentrações de temozolomida (5 e 10 μ M), um agente antitumoral utilizado no tratamento dos gliomas. Para a avaliação dessas respostas (em ambas as situações experimentais) foram utilizados vários parâmetros: eficiência de clonagem, cinética do ciclo celular, apoptose, indução de aberrações cromossômicas (esta última, somente para temozolomida) e estudos de expressão gênica em larga escala por cDNA *microarrays*.

A irradiação das células com os raios- γ (0,25 a 2 Gy) reduziu significativamente a capacidade proliferativa das células U343 MG-a, conforme os resultados obtidos pelos ensaios de eficiência clonogênica. As células responderam ao dano induzido pelas doses de 1 e 2 Gy (níveis moderados de exposição) com um bloqueio na fase G2 do ciclo celular, que iniciou no tempo de 6 h após o tratamento e do qual as células se recuperaram gradativamente nas horas seguintes. Para essas mesmas doses, não houve aumento significativo de células apoptóticas. Os dados de expressão gênica em larga escala, obtidos 6 h após o tratamento com 1 Gy, mostraram a expressão diferencial de genes envolvidos com a via Rho/p38MAPK (**HSPB1**, **HSPB2**, **HSPA9B**, **SPRY2**, **PIPK5**, **AKAP13**, **RUVBL2**, **TP53**) a qual pode ser correlacionada com inibição de

apoptose, controle do ciclo celular e reparo do DNA. Foram diferencialmente expressos dois genes envolvidos com o *checkpoint* em G2 (**CHES1**, **BRCA1**), bem como genes participantes nos mecanismos de reparo do DNA, tais como **BRCA1**, **H2AX**, **FANCG**, **RAD52**, **NBS1**, **ERCC4** e **RUVBL2**, indicando que a célula ativou preferencialmente mecanismos relacionados à sobrevivência celular em resposta ao dano moderado produzido pela dose de 1 Gy de radiação-g.

Quanto aos experimentos realizados com a temozolomida, verificou-se que a droga causou uma redução significativa na eficiência clonogênica da linhagem U343 MG-a. Nas mesmas condições em resposta ao tratamento com a TMZ, houve um aumento de cerca de duas vezes nas freqüências de aberrações cromossômicas em culturas colhidas no tempo de 48 h após o tratamento com 10 μ M da droga. Neste mesmo período, as células U343 MG-a apresentaram um bloqueio na fase S do qual foram liberadas 72 horas após o tratamento. Não houve indução de apoptose até 72 h após o tratamento. Entre os genes induzidos em resposta ao tratamento com 10 μ M estão alguns relacionados com a via MAPK/JNK/c-jun (**BLZF1**, **MAPK8IP**, **MAP3K10** e **MAP3K6**), uma das vias MAPK ativadas em resposta ao estresse genotóxico. Genes controlando o ciclo celular também foram diferencialmente expressos, tais como **ATM**, **CCNG2**, **FRAP1**, **HPB1**, **HPN** e **NIRF**. Além disso, alguns genes envolvidos no reparo do DNA foram ativados (**LIG-3**, **FEN-1** e **RECQL4**), indicando que as lesões produzidas pela droga podem ser susceptíveis à maquinaria de reparação do DNA.

POLIMORFISMOS GENÉTICOS EM INDIVÍDUOS INFECTADOS POR HIV-1

Mônica Waléria Pinto de Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Aguinaldo Luiz Simões

Tese de Doutorado apresentada em 30/04/2004

Desde a descoberta da AIDS, a comunidade científica vem se dedicando a desvendar os motivos pelos quais os indivíduos respondem diferentemente à infecção pelo HIV-1. Nos últimos anos, uma atenção especial tem sido dada às moléculas responsáveis pela variabilidade da resposta imune do hospedeiro e pela entrada do vírus nas células alvo. Em decorrência, várias associações já foram realizadas tanto com alelos

do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) e de seus Antígenos Leucocitários Humanos (HLA), como, também, com alelos de locos, que expressam co-receptores e ligantes destes co-receptores, envolvidos no processo de infecção do HIV-1. Neste trabalho, foram analisados os locos CCR5, SDF1 e seis microssatélites. Um destes microssatélites, HUMCD4, está localizado no interior do gene CD4, o qual expressa um receptor de superfície celular, que age em conjunto com os co-receptores CCR5 e CXCR4, permitindo a entrada do HIV-1 nos macrófagos e nas células T, respectivamente. Os outros cinco microssatélites

lites são STRs do gene TNF, localizados entre as regiões de HLA classe III e classe I, tão intimamente ligados que são herdados como haplótipos. SDF1 é o único ligante natural do co-receptor CXCR4. Os locos SDF1 e CCR5 possuem formas variantes (SDF1-3'A e ccr5D32, respectivamente) cujo papel, na resistência e progressão para o HIV-1/AIDS, tem sido bastante investigado na literatura. Estes oito locos, bem como os haplótipos estimados para o loco TNF, foram analisados em 360 indivíduos, que foram subdivididos em três grupos: negativos x positivos, negativos de alto risco x baixo risco e afro-descendentes x euro-descendentes, a fim de investigar o envolvimento destes marcadores na condição sorológica para o HIV-1, no grau de exposição ao vírus e na etnia dos indivíduos. Para tanto, as frequências alélicas e haplotípicas, bem como a distribuição das frequências gênicas, genotípicas e haplotípicas, foram comparadas em cada um dos grupos de análise. Nenhum indivíduo homocigoto para D32 foi observado e nenhuma diferença significativa foi encontrada nas comparações realizadas. A frequência de D32, observada nos indivíduos afro-descendentes (2,9%) e euro-descendentes (9,2%), foi compatível com o grau de mistura da amostra, o que reforça os dados de miscigenação da população brasileira, além de ressaltar D32, como excelente marcador europeu. Uma maior frequência da variante 3'A do gene SDF1 foi observada nos indivíduos mais expostos ao HIV-1 (20,8%) quando compara-

dos com os indivíduos menos expostos (13,5%), o que pode significar uma maior resistência em contrair o vírus. Entretanto, a distribuição das frequências gênica e genotípica deste loco foram estatisticamente similares em todos os grupos analisados, inclusive entre os afro e euro-descendentes, o que corrobora a hipótese de que esta mutação deve ter ocorrido antes mesmo do surgimento do homem moderno. As diferenças observadas no loco HUMCD4 foram significativas apenas no grupo de indivíduos afro e euro-descendentes, acentuando a utilidade deste marcador em estudos populacionais e de quantificação de mistura étnica. Em relação aos microssatélites do loco TNF, o único que apresentou diferenças significativas, na distribuição das frequências gênica e genotípica, foi o loco TNFb no grupo dos indivíduos de alto e baixo risco em contrair o vírus. Ademais, apenas as frequências do alelo b7 foram significativamente diferentes entre os indivíduos deste grupo, com frequência de 5,3% nos indivíduos de baixo risco e de 0,6% nos indivíduos de alto risco. Além disto, o alelo b7 também esteve presente nos haplótipos, que diferiram significativamente, mesmo após a correção de Yates, como mais frequentes nos indivíduos positivos (5/7/1/3/3) comparados com os negativos e nos negativos de baixo risco (5/7/1/4/3) comparados com os de alto risco, o que nos possibilita concluir que a presença deste alelo deve estar associada a uma maior suscetibilidade em contrair o HIV-1, e, seguramente, merece ser melhor investigado.

CORRELAÇÃO ENTRE A EXPRESSÃO PROTÉICA DAS METALOPROTEINASES (GELATINASE A E B) E DOS GENES INIBIDORES DE METALOPROTEINASES (TIMP 1 E 2) EM NEOPLASIAS DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL

Luciana Marques da Silva

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Tone

Tese de Doutorado apresentada em 05/05/2004

O tumor do Sistema Nervoso Central (SNC) é a terceira causa mais freqüente de morte relacionada ao câncer em adultos e a segunda mais comum em crianças. O processo de invasão e disseminação deste tumor envolve alterações na expressão dos genes de proteinases que degradam as barreiras da matriz aos arredores do tumor, dentre os quais os das metaloproteinases (MMPs) e os seus inibidores específicos, os inibidores teciduais de metaloproteinases

(TIMPs). A super-expressão das MMPs nas células tumorais colaboram com sua capacidade invasiva e a expressão aumentada dos TIMPs reduz este processo. O objetivo deste trabalho foi analisar a expressão protéica por Western Blotting, da MMP-9, MMP-2, TIMP-1 e TIMP-2 e a expressão gênica dos TIMP-1 e TIMP-2 através da técnica de RT-PCR em tumores do SNC. As MMPs e os TIMPs foram expressas em tumores do SNC e a sua frequência de expressão nem sempre estava correlacionada com a faixa etária, grau de malignidade ou com o tipo celular. Foram analisadas quanto a faixa etária, grau de malignidade e tipo celular 43 amostras do SNC. A expressão protéica

das MMPs e os TIMPs foram expressos em grande parte dos tumores, sendo a MMP-9 identificada com maior frequência (60,4%) quando comparada com a MMP-2 (41,8%). Da mesma forma, foi verificado para os inibidores, sendo maior para o TIMP-1 (65,1%), do que para o TIMP-2 (51,1%). Em relação a faixa etária, verificou-se que a expressão da MMP-9 ocorreu com maior frequência entre os tumores de adultos (64,3%), quando comparada com os pediátricos (53,3%), assim como com a MMP-2, onde a expressão dos pediátricos foi de 20% e dos adultos de 50%, sendo esta diferença, estatisticamente significativa. Observamos uma maior frequência entre os pareamentos (MMP-9/TIMP-1, MMP-2/TIMP-2, MMP-9/TIMP-2 e MMP-2/TIMP-1) nos tumores de baixo grau, em relação aos tumores de alto grau de malignidade, podendo sugerir

uma associação com o desenvolvimento tumoral. A análise de expressão dos genes TIMP-1 e TIMP-2 na ausência de sua expressão protéica, sugere que nos tumores de baixo grau de malignidade a alteração mais freqüente foi em nível traducional e no alto grau transcricional. Analisando quanto aos tipos celulares de tumores, observamos uma maior frequência do pareamento da MMP-9/TIMP-1 do que da MMP-2/TIMP-2, sendo que estas frequências foram maiores nos schwannomas e menores nos meduloblastomas. Os resultados obtidos sugerem que a expressão das MMPs e TIMPs nos tumores de SNC apresentam frequência variada dependendo do grau de malignidade, tipo celular e faixa etária, sendo necessário mais estudos para a compreensão dos significados destes achados.

EFICIÊNCIA ECONÔMICA DA RAÇA NELORE: CRITÉRIOS, RESPOSTAS ESPERADAS À SELEÇÃO E VALORES GENÉTICOS AGREGADOS ECONÔMICOS

João Cláudio do Carmo Paneto

Orientador: Prof. Dr. Raysildo Barbosa Lôbo

Tese de Doutorado apresentada em 07/05/2004

Parâmetros genéticos de algumas características, em rebanhos de seleção da raça nelore, foram estudados em dois arquivos. No primeiro arquivo, foram analisados os ganhos de peso nos períodos entre 120 e 240, 240 e 365, 365 e 450, e 450 e 550 dias, juntamente com os ganhos de perímetro escrotal nos períodos entre 365 e 450, e 450 e 550 dias. O ganho de peso pré-desmame apresentou herdabilidade de boa magnitude, podendo ser sugerido como critério de seleção. O ganho de peso pós-desmame sofreu muita influência do ambiente, não sendo um bom critério de seleção. A correlação genética entre os ganhos de peso e perímetro escrotal foi de magnitude baixa, porém positiva. No segundo arquivo, foi analisada a probabilidade de permanência no rebanho, sendo neste caso incluídas as estimativas de resposta esperada à seleção, com o objetivo de permitir que fosse estimado um ponderador econômico para que a probabilidade de permanência pudesse ser utilizada na seleção simultânea para múltiplas características em um valor genético agregado econômico. A herdabilidade estimada para probabilidade de permanência foi estimada em aproximadamente 0,15, e a resposta à seleção

foi variável entre 0,19 e 0,37% ao ano, sendo concluído que a seleção genotípica de machos para habilidade de permanência pode melhorar consideravelmente o ganho genético da população. Com este mesmo enfoque, em um estudo separado, foram estimados ponderadores econômicos para as características peso adulto, peso aos 450 dias, probabilidade de permanência e probabilidade de prenhez aos 14 meses. Foram ainda verificadas as sensibilidades dos ponderadores a variações nos níveis produtivos iniciais e condições de manejo e de mercado. A característica peso aos 450 dias apresentou o maior peso econômico. No entanto, somando-se os pesos econômicos das características ligadas à reprodução, que eram probabilidade de permanência e probabilidade de prenhez aos 14 meses, se observa que elas representam aproximadamente 60% de importância econômica relativa. Os ponderadores econômicos foram sensíveis principalmente ao nível inicial de probabilidade de permanência e à taxa de reposição de fêmeas. Abordando o aspecto econômico da valorização dos animais geneticamente superiores, foram analisados os efeitos dos valores das DEPs informadas em leilões sobre os preços de venda dos animais, chegando-se à conclusão que os resultados das avaliações genéticas, se informados nos catálogos de vendas de bovinos de seleção em leilões, podem influenciar nos preços dos animais.

ESTUDO DA METILAÇÃO EM NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Patrícia Santos Pereira Lima

Orientador: Prof. Dr. Wilson Araújo da Silva Júnior
Dissertação de Mestrado apresentada em 24/06/2004

Alterações no padrão normal de metilação do DNA têm sido caracterizadas como um importante mecanismo na gênese de neoplasias. Esta modificação do DNA é denominada de epigenética uma vez que altera o padrão de expressão das células sem alterar a sequência do DNA. No câncer, as alterações epigenéticas observadas consistem na hipermetilação das ilhas CpG nos promotores dos genes acompanhada de uma hipometilação global dos dinucleotídeos CpG dispersos pelo genoma. Este evento mostra geralmente ser câncer-específico, ou seja, alguns genes que são metilados em um tipo de câncer, não o são na maioria dos outros tipos. O objetivo deste projeto foi avaliar os pacientes com leucemia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto quanto à ocorrência de alteração no padrão de metilação do DNA assim como verificar a relação deste mecanismo com a expressão de alguns genes identificados como hipoexpressos através do *SAGE*. Também foi avaliado a contribuição da metila-

ção para o fenótipo alterado da leucemia promielocítica aguda, que possui a proteína de fusão oncogênica *PML/RAR α* , através da construção de uma biblioteca subtrativa após o tratamento com o agente demetilante 5-Aza-deoxicidina. Analisando o padrão de metilação dos genes *KIF*, *PRDX* e *SREBF*, os quais apresentam ilhas CpG na região 5', e estão hipoexpressos em leucemia, não foi observado metilação destes genes embora o padrão de metilação nas amostras analisadas estivesse alterado como verificado pela metilação do gene *p15*. Das 31 amostras de leucemia analisadas, 64,50% apresentavam metilação para o *p15* e 35,50% não estavam metiladas. Quatorze genes foram subtraídos de uma biblioteca de cDNA de células *NB4* não tratadas com 5-Aza-deoxicidina a partir de uma biblioteca de cDNA de células tratadas. Entre os genes subtraídos aqueles que parecem ter tido a expressão alterada após o tratamento foram os genes *EF-1 α* , *TPT1* e *RPLPO*. Outras proteínas ribossomais e de "choque térmico" aparentemente também tiveram a sua expressão controlada após o tratamento o que poderá indicar uma recuperação das células ao tratamento com o 5-Aza-deoxicidina.

ANÁLISE DA ESTRUTURA E VARIABILIDADE GENÉTICA DOS REBANHOS DO PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DA RAÇA NELORE

Pedro Alejandro Vozzi

Orientador: Prof. Dr. Raysildo Barbosa Lôbo
Dissertação de Mestrado apresentada em 25/06/2004

Descreveu-se a variabilidade genética de animais da raça Nelore pertencentes ao Programa de Melhoramento Genético da Raça Nelore (PMGRN). Os parâmetros baseados na probabilidade de origem do gene representados pelo número efetivo de fundadores (N_f), ancestrais (N_a) e genomas remanescentes (N_g) foram utilizados para descrever a evolução da variabilidade genética entre os anos 1984 e 2002. A estrutura de linhagens nas matrizes ativas do PMGRN, nos touros com sêmen disponível nas centrais de inseminação e nas variedades padrão e mocho da raça Nelore foi determinada pela identificação dos touros com maior contribuição marginal em cada população estudada, além de avaliar a variabilidade genética presente em cada população estudada. A diversidade ge-

nética e a análise de parentesco nos touros jovens selecionados da Reprodução Programada (RP) foram determinadas, também pelos parâmetros baseados na probabilidade de origem do gene. O Número efetivo de fundadores (N_f), ancestrais (N_a) e genomas remanescentes (N_g) encontrados para o ano 2002 foi de 108; 69 e 45 respectivamente, o que indica a intensa participação de poucos reprodutores na reprodução, predomínio da inseminação artificial sobre a monta natural na raça, ausência na subdivisão da população e perda de genes por deriva genética detectado pelo N_g . O número de animais aparentados aumentou acentuadamente dentro do rebanho e entre os principais reprodutores da raça. A variabilidade genética nos touros presentes nas centrais de inseminação não foi representativa da diversidade genética encontrada nas matrizes ativas do PMGRN o que poderia indicar futuras perdas de variabilidade genética na raça. A estrutura de linhagens foi semelhante nos touros pre-

sentes nas centrais e nas matrizes ativas do PMGRN, com predominância na participação da linhagem Karvadi nas duas amostras. A variabilidade genética e a estrutura de linhagens determinadas pela análise de *pedigree* presente na variedade padrão e mocho foi semelhante e de baixa magnitude. Os valores de N_r , N_a e N_g achados nos touros da RP foram também baixos, além de se constatar um aumento no parentesco entre os touros jovens testados e entre seus prin-

cipais ancestrais. A variabilidade genética detectada pelos parâmetros baseados na probabilidade de origem do gene nas diferentes amostras estudadas indica que a perda de genes por seleção e deriva genética é significativa com o transcorrer dos anos e que a diversidade genética na raça Nelore deve ser cuidadosamente monitorada para evitar comprometer futuros progressos genéticos em características de importância econômica.

GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

ESTUDO DA RESERVA FOLICULAR OVARIANA AVALIADA ATRAVÉS DAS MEDIDAS DO FSH E INIBINA SÉRICA E TESTES DE ESTIMULAÇÃO COM CITRATO DE CLOMIFENO E AGONISTA DO GnRH. ANÁLISE ATRAVÉS DA “RECEIVER OPERATOR CHARACTERISTIC CURVE” (CURVA ROC)

Juliana G. M. Rosan

Orientador: Prof. Dr. Marcos Felipe Silva de Sá

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/03/2004

Uma das grandes preocupações das Técnicas de Reprodução Assistida é identificar pacientes com boa reserva folicular ovariana, antes de serem submetidas a este procedimento. Classicamente, são utilizados como marcadores da reserva ovariana a idade e dosagem dos níveis séricos do FSH. Outros testes funcionais como o estímulo com Citrato de Clomifeno, Agonistas de GnRH e dosagens dos níveis séricos de Inibina B tem sido introduzidos mais recentemente para aprimorar esta conduta. Entretanto todos esses métodos carecem de boa associação da sensibilidade e especificidade.

No presente trabalho procuramos estudar a idade e o FSH sérico em estudo retrospectivo e em uma segunda etapa do estudo, prospectivo, avaliamos trinta pacientes que foram submetidas à técnica de Reprodução Assistida, nas quais foram realizados os testes funcionais citados acima.

Neste trabalho utilizamos o método estatístico Receiver Operator Characteristic (Curva ROC), como forma de analisar os níveis de corte dos parâmetros analisados, procurando identificar o melhor valor que pudesse selecionar pacientes com boa reserva ovariana,

considerando neste ponto de corte a melhor especificidade, sensibilidade e acurácia.

No estudo consideramos como boa reserva ovariana quando a paciente apresentava em resposta à hiperestimulação com gonadotrofinas 5 folículos maiores ou iguais a 14 mm e que destes 2 apresentassem tamanho maiores que 17 mm.

Estudo retrospectivo – Parte I

Das 459 pacientes deste estudo as quais foram submetidas à Reprodução Assistida, observamos que o nível de corte de 5,7 mUI/ml para FSH apresentou melhor sensibilidade (68,2%), especificidade (84,5%) e acurácia (82,9%).

Quanto à idade, o nível de corte foi de 33 anos apresentando sensibilidade (65,0%), especificidade de (62,0%) e acurácia de (67,5%).

Estudo Prospectivo – Parte II

Para o teste do Citrato de Clomifeno, encontramos como melhor parâmetro de avaliação a somatória dos valores de FSH do dia 2 do ciclo e do dia 10 do ciclo (após tratamento com 100mg /dia de Citrato de Clomifeno do 5º ao 9º dia do ciclo). O valor de corte que melhor concilia boa sensibilidade (100%), especificidade de (66,7%) e acurácia de (81,5%) foi de 10,5 mUI/ml.

Para o teste do GnRH encontramos como melhor parâmetro de avaliação a diferença dos valores do estradiol do dia 3 e 2 do ciclo menstrual. O valor de corte que melhor concilia boa sensibilidade (77,8%), especificidade (85,7%) e acurácia (76,2%) foi de 26,8 pg/ml.

Para a Inibina B não encontramos diferença estatisticamente significativa entre os valores das pacientes inférteis quando comparados com pacientes climatéricas. O valor médio dos níveis de inibina B

das pacientes inférteis foi de 25 pg/ml e nas pacientes climatéricas este valor foi de 13,5 pg/ml.

Nossos resultados sugerem que os testes funcionais com estímulo do Citrato de Clomifeno e agonista do GnRH não são superiores em relação à avaliação com dosagem única com FSH basal.

Os dados também sugerem que o nível de corte ideal do FSH deveria ser reduzido ao máximo com o intuito de aumentar o rigor na seleção das pacientes pré-tratamento à Reprodução Assistida.

PAPEL DA LEPTINA NA ESTEROIDOGÊNESE OVARIANA ESTIMULADA PELO IGF-I E FSH EM MULHERES SUBMETIDAS A TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

Arlene de Oliveira Fernandes

Orientador: Prof. Dr. Marcos Dias de Moura

Dissertação de Mestrado apresentada 19/04/2004

A leptina é um hormônio secretado preferencialmente pelos adipócitos com ação sobre a regulação do apetite por meio da interação com receptores hipotalâmicos. Estudos recentes têm demonstrado um papel da leptina na reprodução. O RNAm do receptor de leptina é expresso no ovário, sugerindo um efeito direto neste órgão. A literatura ainda é contraditória no que diz respeito ao papel da leptina na produção de estradiol. Há um consenso, entretanto no que diz respeito à produção de progesterona, não havendo qualquer efeito da leptina neste contexto, o que induz a pensar que este hormônio exerceria seu papel sobre a

aromatase P450. O presente estudo examina o papel da leptina na esteroidogênese ovariana em células da granulosa luteinizadas *in vitro*.

Materiais e métodos: As células da granulosa foram obtidas de folículos pré-ovulatórios de 12 mulheres submetidas a fertilização *in vitro*. Estas células foram cultivadas durante 48 h na presença ou não de FSH (50 ng/ml), IGF-I (50 ng/ml), FSH + IGF-I e leptina (50 ng/ml). Adicionou-se leptina (50 ng/ml) às diferentes condições de cultivo celular. Avaliou-se a esteroidogênese das células da granulosa por meio das dosagens de estradiol e progesterona nos fluidos de cultivo.

Resultados: O presente estudo não observou qualquer ação da leptina sobre a esteroidogênese estimulada *in vitro* pelo FSH, IGF-I ou pela associação de ambos.

DESENVOLVIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL DE ENDOMETRIOSE EM COELHAS

Julio César Rosa e Silva

Orientador: Prof. Dr. Antônio Alberto Nogueira

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/05/2004

Introdução: a endometriose se caracteriza pela presença de tecido endometrial em atividade fora da cavidade uterina. Várias são as teorias que tentam explicar a sua etiopatogenia, porém nenhuma delas isoladamente é satisfatória. Em humanos, a heterogeneidade das lesões, dos sinais e sintomas associados a endometriose e os aspectos éticos dificultam o desenvolvimento de metodologias científicas para melhor

compreendermos a sua etiologia e fisiopatologia, por isso, técnicas com modelos experimentais em animais têm sido desenvolvidas.

Objetivos: desenvolvimento de um modelo experimental de endometriose em coelhas, de modo que possibilite caracterizar a progressão e a evolução temporal da doença, com sua avaliação macroscópica em dois tempos diferentes: 4 e 8 semanas após o implante da lesão, utilizando-se a laparoscopia para obtenção das imagens e análise histológica posterior.

Material e Métodos: foram utilizadas 30 coelhas Nova Zelândia adultas nas quais a endometriose foi induzida por meio da fixação de um frag-

mento de corno uterino de 5,0 x 5,0 mm no peritônio da parede pélvica. Os animais foram submetidos à laparoscopia diagnóstica, com o objetivo de verificar a viabilidade e documentar o aspecto visual endoscópico das lesões, sendo sacrificados 15 deles após quatro semanas (Grupo I) e 15 após oito semanas (Grupo II) da indução. Os implantes foram medidos em seu maior diâmetro e retirados, sendo posteriormente fixados e processados para análise morfológica. Os grupos foram comparados quanto à presença de lesão visibilizada à laparoscopia, seu maior diâmetro, presença de aderências e histologia da mesma.

Resultados: a presença de lesão visibilizada à laparoscopia após 4 semanas foi de 100%, sendo 64% císticas e 80% após 8 semanas, sendo 66% císticas. As aderências estavam presente em 80% das coelhas

após 8 semanas (sendo 13% nos implantes) e em 71 % das coelhas após 4 semanas (ausentes nos implantes). O maior diâmetro das lesões após 8 semanas de implante foi maior que após 4 semanas ($p < 0,0001$). A análise histológica mostrou 100% de tecido endometrial (glândula e estroma) em atividade nos 2 grupos.

Conclusão: a utilização desse modelo experimental de endometriose em coelhas mostrou ser possível reproduzir a doença nesse animal, sendo viável e de fácil execução. Permitiu documentar as características e a progressão dos implantes através da laparoscopia, verificando-se seu crescimento e desenvolvimento histopatológico, sendo observado que as lesões após oito semanas são maiores que após 4 semanas, mas com mesmo aspecto histológico.

O IMUNOFENÓTIPO LEUCOCITÁRIO NO CÂNCER DE MAMA E SUA ASSOCIAÇÃO COM INDICADORES PROGNÓSTICOS

Alexandre Henrique Macchetti

Orientador: Prof. Dr. Heitor Ricardo Cosiski Marana
Dissertação de Mestrado apresentada em 18/05/2004

Objetivos: analisar a composição do infiltrado leucocitário do câncer de mama utilizando a imunofenotipagem das subpopulações, e correlacionar esta composição com os indicadores prognósticos: tamanho e grau histológico tumoral e acometimento nodal axilar por metástase.

Pacientes e Métodos: **35 pacientes do Ambulatório de Mastologia** do HC-FMRP-USP com tumoração mamária palpável tiveram amostra tumoral submetida a digestão por solução enzimática para extração dos leucócitos intratumorais, e a seguir o imunofenótipo por citometria de fluxo (CD_3 , CD_4 , CD_8 , CD_{19} , CD_{14} e $CD_{16/56}$). Os resultados foram correlacionados com indicadores prognósticos clínico-patológicos avaliados na rotina do ambulatório.

Resultados: as células predominantes detectadas no citômetro de fluxo foram as células T e macrófagos. Baixos percentuais de linfócitos B e células Natural Killer foram observados em todos os tumores. Não houve correlação entre o grau histológico do tumor e os subtipos de leucócitos intratumorais. A infiltração por linfócitos T esteve diretamente correlacionada com o tamanho tumoral e envolvimento nodal em tumores menores que 5 cm, outras subpopulações não apresentaram qualquer correlação. Não houve correlação da razão $CD4/CD8 > 1$ com acometimento nodal. O percentual de linfócitos T foi maior do que o de macrófagos em tumores menores que 5 cm e com acometimento axilar.

Conclusões: embora considerável diversidade de infiltrados leucocitários tenha sido observada, encontramos a associação do infiltrado leucocitário com um percentual de linfócitos T maior nos tumores em estadio inicial menores que 5 cm.

EFEITO DO USO DE ANTI-RETROVIRAIS SOBRE O METABOLISMO GLICÍDICO DE GESTANTES PORTADORAS DO HIV-1 E PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E BIOQUÍMICOS DO NEONATO

Patrícia El Beitune

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Duarte
Tese de Doutorado apresentada em 03/06/2004

Para estudar o efeito dos anti-retrovirais em gestantes portadoras do HIV-1 sobre o metabolismo glicídico materno e parâmetros antropométricos e

bioquímicos do neonato, realizou-se estudo prospectivo, avaliando 57 gestantes divididas em três grupos. O Grupo AZT foi composto de 20 gestantes infectadas pelo HIV-1 que preenchiam os requisitos para uso profilático do AZT ($CD4 > 500$ células/ml). O Grupo TT foi composto de outras 25 gestantes com indicação clínica e/ou laboratorial para receberem terapia anti-retroviral tríplice (AZT+3TC+NFV). O Grupo Controle foi constituído de 12 gestantes consideradas normais do ponto de vista clínico e laboratorial. As amostras sanguíneas para dosagens plasmáticas de glicemia em jejum, insulina sérica em jejum, área sob a curva das glicemias e insulinas após o teste oral de tolerância à glicose com 75g (TOTG-75g) foram obtidas em quatro períodos durante a gravidez, em intervalos equidistantes de tempo. O prognóstico perinatal levou em consideração as taxas de prematuridade, peso ao nascimento, restrição de crescimento intra-uterino, óbito fetal e mortalidade neonatal. Adicionalmente, avaliou-se com o sangue do cordão umbilical do recém-nascido (RN) a gasometria da artéria umbilical, a insulina, os valores da hemoglobina, transaminases hepáticas e amilase. A análise estatística foi realizada utilizando-se testes não-paramétricos do qui-quadrado, Mann-Whitney, Friedman e Kruskal-Wallis com o

teste *post-hoc* de Dunn, considerando $p < 0,05$ como nível de significância. Observou-se homogeneidade entre os dados demográficos e antropométricos de realce e, excluídas gestantes com história pessoal e familiar de diabetes mellitus, houve associação entre uso de inibidores da protease com o desenvolvimento de intolerância à glicose durante a gestação, no período entre 33-38 semanas. Os valores da mediana da área sob a curva das dosagens das glicemias, durante 120 minutos, foi 11 685 mg/dl-2h para o grupo controle, 13 477 mg/dl-2h para o grupo AZT e 13 650 mg/dl-2h para o grupo TT ($p = 0,049$). As gestantes portadoras do HIV-1 em uso de anti-retrovirais, durante a gestação, apresentaram diferença significativa da área sob a curva da insulina e dos níveis séricos de insulina neonatal ao nascimento em relação ao grupo controle. Houve redução dos níveis de hemoglobina ao nascimento de RN do grupo TT ($p < 0,05$). Não houve diferença entre os grupos em relação à duração da gestação, índices de Apgar, classificação antropométrica neonatal, transaminases hepáticas, bilirrubinas, amilase, plaquetas e contagem de linfócitos absolutos do RN. Não houve nenhum caso de transmissão vertical do HIV-1.

O SISTEMA INTRA-UTERINO LIBERADOR DE LEVONORGESTREL REDUZ OS NÍVEIS DE CA-125 EM PACIENTES PORTADORAS DE ENDOMETRIOSE

Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva

Orientador: Prof. Dr. Rui Alberto Ferriani

Tese de Doutorado apresentada em 25/06/04

Introdução: As opções atuais de tratamento para algia pélvica relacionada com a endometriose disponíveis no mercado estão relacionadas a elevado custo e reações adversas que limitam o tempo de tratamento. Recentemente tem sido proposto o uso do Sistema Intra-uterino de levonorgestrel (SIU-LNG) no tratamento de pacientes com endometriose. Este estudo propõe a verificação da eficácia deste método após um seguimento de 6 meses.

Sujeitos e Métodos: Foram estudadas 44 pacientes com endometriose confirmada por laparoscopia e com persistência da dor após o procedimento cirúrgico, seguidas no ambulatório de dor pélvica do HC-FMRP, randomizadas em 2 grupos de tratamento: grupo SIU-LNG com 21 pacientes submetidas à

colocação do SIU-LNG e grupo GnRHa 23 pacientes tratadas com acetato de leuprolide por um período de 6 meses. Os grupos eram homogêneos quanto à idade, escore de dor prévio ao tratamento e estágio da endometriose, predominando estádios III e IV (ASRM). As pacientes foram avaliadas quanto ao escore de dor, marcadores tumorais (CA-125 e CA 19-9) e marcadores de atividade inflamatória (SAA e PCR) no início do estudo e após 6 meses de seguimento. Para estatística foram utilizados os testes t de student para as variáveis com distribuição normal e teste de Mann-Whitney para as variáveis sem distribuição Gaussiana ou variáveis não contínuas, considerando-se significância estatística $p < 0,05$.

Resultados: Os valores de CA-125, CA19-9, SAA e PCR foram semelhantes estatisticamente em ambos os grupos na avaliação pré-tratamento, sendo que o CA-125 mostrava-se elevado, enquanto os demais marcadores apresentavam-se normais. Houve

melhora significativa no quadro algico da paciente com redução significativa no escore de dor de 8 para 1 no grupo SIU-LNG ($p < 0,0001$) e de 7 para 0 no grupo GnRHa ($p < 0,0001$). Também houve redução nos valores de CA-125 em ambos os grupos de tratamento, de $22,91 \pm 21,21$ U/ml para $12,07 \pm 11,34$ U/ml no grupo SIU-LNG e de $30,62 \pm 33,81$ U/ml ($p = 0,0369$) para $7,49 \pm 4,85$ U/ml no grupo GnRHa ($p = 0,0002$). O CA

19-9 e os marcadores inflamatórios não sofreram redução em seis meses de seguimento, em ambos os grupos.

Conclusão: Após seis meses de tratamento tanto o análogo do GnRH quanto o SIU-LNG melhoram o quadro de dor causado pela endometriose e reduzem os valores séricos de CA-125, num seguimento de 6 meses.

IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA

TRANSFERÊNCIA DE IMUNIDADE ADOTIVA COMO ESTRATÉGIA DE IMUNIZAÇÃO PARA O VÍRUS DENGUE 2

Maria Teresa Prudente de Aquino

Orientador: Prof. Dr. Benedito A. Lopes da Fonseca
Dissertação de Mestrado apresentada em 16/02/2004

A febre da dengue é a mais importante doença viral transmitida por artrópodes de significância para a saúde pública, pois acomete a cada ano, centenas de milhares de indivíduos nos países em desenvolvimento, principalmente nos países das regiões tropicais, onde as condições do meio ambiente favorecem a proliferação do *Aedes aegypti*, principal mosquito vetor. A doença é causada pelo vírus Dengue, um vírus envelopado, de RNA senso positivo, e que mede cerca de 50nm de diâmetro. A febre de Dengue, apresenta-se com um amplo espectro de sintomas, indo desde uma doença febril aguda até uma forma mais grave com liberação de plasma e fenômenos hemorrágicos, que é a dengue hemorrágica. A dengue hemorrágica, em sua forma mais severa, pode levar à síndrome de choque por dengue e esta por sua vez, é fatal se não tratada a tempo, pois leva os pacientes ao choque devido à intensa efusão de plasma. Vários estudos estão sendo realizados para a obtenção de eficientes estratégias de imunização, que possibilitem o desenvolvimento de uma resposta imune eficaz e duradoura para estas infecções virais. A vacinação é considerada a mais eficiente estratégia contra as infecções por dengue. A vacina precisa ser tetravalente, pois precisa desenvolver uma eficiente resposta protetora contra os quatro sorotipos de dengue, evitando assim, a formação de imunocomplexos com anticor-

pos intensificadores que aumentam a infecção viral. Em nosso laboratório, além do desenvolvimento de vacinas de DNA para os quatro sorotipos da dengue, desenvolveu-se um estudo para analisar a transferência de imunidade adotiva, como mais uma estratégia de imunização para as infecções pelo vírus Dengue 2. A transferência adotiva consiste em um mecanismo através do qual é feita a transferência de células do sistema imune, como linfócitos, de um doador imune para um receptor singênico (geneticamente idêntico) não imune para um determinado antígeno. Assim, foram transferidas células esplênicas de camundongos BALB/c isogênicos, estimuladas *in vitro* pelo vírus Dengue 2 inativado, ou não estimuladas por antígeno viral. Foi observado através dos ensaios de proliferação celular de linfócitos que não ocorreu a detecção de proliferação antígeno-específica. Por outro lado, houve uma elevada sobrevivência ao desafio intracerebral com uma dose letal de vírus Dengue 2 selvagem, naqueles camundongos receptores de células esplênicas estimuladas *in vitro* e adotivamente transferidas. Esta sobrevivência foi de 100% e maior até que a do controle positivo, (dos camundongos imunizados com o vírus Dengue 2 selvagem), que ficou em torno de 70%. Os grupos de camundongos não imunizados (controle negativo), e dos camundongos receptores de células esplênicas não estimuladas com antígeno viral, sucumbiram a encefalite letal. Nos mesmos grupos de camundongos receptores de células esplênicas estimuladas *in vitro* e adotivamente transferidas, foi detectado elevados títulos de anticorpos neutralizantes após o desafio, em torno de 1:160

para redução de 50% das placas e 1:40 para a redução de 90% das placas. Não foi detectada a presença de anticorpos neutralizantes no grupo controle negativo após o desafio, porém, no grupo de camundongos receptores de células esplênicas não estimuladas com antígeno viral, também foi detectada a presença de anticorpos neutralizantes após o desafio, embora não

tenham sido protegidos contra a encefalite letal. Dessa forma, a transferência de imunidade adotiva mostrou ser uma promissora estratégia de imunização contra as infecções pelo vírus Dengue 2 *New Guinea C*, capaz de desenvolver uma resposta imune humoral protetora contra encefalite letal em camundongos BALB/c isogênicos.

PAPEL DE LEUCOTRIENOS NA INDUÇÃO DE TOLERÂNCIA ORAL

Fabiani Gai Frantz

Orientadora: Profa.Dra. Lucia Helena Faccioli

Dissertação de Mestrado apresentada em 16/04/2004

Mediadores lipídicos gerados a partir do metabolismo do ácido araquidônico são coletivamente denominados eicosanóides. A via da cicloxigenase catalisa uma reação que converte o ácido araquidônico em prostaglandinas (PG) e tromboxanos, enquanto a via da 5-lipoxigenase dá origem ao leucotrieno- B_4 (LTB_4) e aos cisteinil-leucotrienos (LTC_4 , LTD_4 , LTE_4). Pouco se sabe sobre a participação de eicosanóides no fenômeno da tolerância periférica. A tolerância oral é um estado de baixa resposta periférica induzida pela administração oral de um antígeno, seguida pela imunização com o mesmo antígeno. A redução na resposta imune celular e humoral observada na tolerância oral é principalmente devida à diminuição na resposta de células T antígeno-específicas. Diversos mecanismos são propostos para explicar esta redução da resposta de células T, como: deleção clonal,

anergia clonal, expansão de células T reguladoras que produzem citocinas imunossupressoras e, finalmente, desvio imunológico que é caracterizado pela polarização da resposta T_H2 para uma resposta do tipo T_H1 . Neste trabalho, estudamos o papel de leucotrienos na indução de tolerância oral à ovoalbumina (OVA). Para tanto, utilizamos o composto MK 886, que inibe a síntese de leucotrienos via inibição da proteína de ativação da 5-lipoxigenase (FLAP). Nós demonstramos que a inibição da produção de leucotrienos, pelo MK 886, durante o período de gavagem, imunização e desafio com OVA não impede o estabelecimento de tolerância oral, fato este comprovado pela inibição da proliferação celular e da produção de anticorpos totais. No entanto, demonstramos que o tratamento com MK 886 induziu nos animais tolerantes um desvio imunológico da resposta T_H2 para o padrão T_H1 , como indicado pelo aumento da produção de IgG2a e IFN- γ . Dessa forma, podemos sugerir que leucotrienos são importantes mediadores envolvidos na regulação dos mecanismos de tolerância oral.

EFEITO DO EXTRATO DE GLÂNDULA SALIVAR DO VETOR *LUTZOMYIA LONGIPALPIS* SOBRE A MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA E A LIBERAÇÃO DE MEDIADORES NO MODELO DE IMUNIZAÇÃO COM OVA

Marta Chagas Monteiro

Orientador: Prof. Dr. Fernando de Queiroz Cunha

Tese de Doutorado apresentada em 22/04/2004

Nos últimos anos, a saliva de insetos hematófagos tem sido avaliada quanto a sua composição e atividade biológica, destacando-se as propriedades imunomodulatória, vasodilatadora, anti-plaquetária e anticoagulante. Vários estudos demonstraram que a saliva dos vetores *Lutzomyia* e *Phlebotomus* é im-

portante tanto para transmissão quanto para o estabelecimento da infecção por *Leishmania*. A saliva do vetor na pele do hospedeiro vertebrado, inibe a produção de óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e a apresentação de antígeno por macrófagos infectados. Além disso, inibe a indução da resposta Th1, acentuando a resposta Th2, com elevada produção de IL-4 e IL-10 no foco da infecção.

Neste trabalho avaliamos se o extrato de glândulas salivares (EGS) do vetor *Lutzomyia longipalpis* seria capaz de inibir a resposta Th1 predominante no

modelo de imunização subcutânea com ovoalbumina (OVA). Para isto, administramos por via intravenosa o EGS de *Lutzomyia longipalpis* em animais imunizados com OVA e após 48 horas realizamos o desafio antigênico. A partir disto, fomos verificar o efeito do EGS sobre a migração leucocitária e a liberação de mediadores induzidos por OVA.

Nossos dados demonstraram que o pré-tratamento com o EGS, na 4ª hora, inibiu o recrutamento de neutrófilos induzido por OVA, mas não alterou a migração de neutrófilos induzida por LPS em animais controles e imunizados com OVA. Na 48ª hora, observou-se que o EGS inibiu a migração de linfócitos TCD4⁺ e CD8⁺, mas potencializou o influxo de eosinófilos induzido por OVA. Além disso, o EGS inibiu a proliferação de esplenócitos de animais imunizados tratados ou não com o EGS, em resposta a Con A ou OVA. Quanto aos mediadores envolvidos na mi-

gração de neutrófilos induzida por OVA, o EGS inibiu a liberação de TNF- α , IL-1 β e LTB₄, e potencializou a produção de IL-10 e IL-4. Além disso, o pré-tratamento com o EGS inibiu a migração de neutrófilos induzida por LTB₄, assim como, a incubação do EGS com este mediador, inibiu totalmente sua ação quimiotática sobre neutrófilos *in vitro* e *in vivo*. Além disso, células peritoneais obtidas de animais imunizados tratados com o EGS liberaram LTB₄, MIP-1 α e TNF- α , mas não produziram IL-10 e IL-4 quando estimuladas com OVA *in vitro*. Em ensaios de transferência, observamos que a administração de células peritoneais, obtidas de animais imunizados tratados com o EGS, ou o sobrenadante das culturas estimuladas *in vitro* com OVA induziram a migração de neutrófilos quando inoculados na cavidade peritoneal de animais controles, mas não na cavidade peritoneal de animais tratados com EGS.

NEUROLOGIA

ENOLASE NEURÔNIO-ESPECÍFICA EM PACIENTES COM NEUROCISTICERCOSE

José Eduardo de Paula Lima

Orientador: Prof. Dr. João Pereira Leite

Tese de Doutorado apresentada em 02/04/2004

A enolase neurônio-específica (NSE) é uma enzima glicolítica encontrada quase exclusivamente no citoplasma de neurônios e células neuroendócrinas. Os níveis de NSE têm sido utilizados para se estimar a intensidade da lesão neuronal assim como a evolução clínica dos pacientes acometidos por vários distúrbios neurológicos como acidente vascular encefálico, traumatismo crânio-encefálico, encefalopatia hipóxico-isquêmica, encefalites, metástases e *status epilepticus*. A neurocisticercose (NCC) é a mais frequente doença parasitária do sistema nervoso central humano. O cisticercose pode permanecer viável no sistema nervoso central por vários anos. Nesta fase, o parasita modula a resposta inflamatória do hospedeiro e raramente causa sintomas. O surgimento de sintomas geralmente ocorre quando o cisticercose entra em uma fase degenerativa associada à inflamação peri-

cística, mas também depende do número, tamanho e localização dos cistos. Especula-se que pacientes com NCC com cistos em degeneração poderiam apresentar evidência de dano neuronal provocado pela reação inflamatória associada a eles. Este estudo teve o objetivo de investigar a NSE no líquido (LCR) e no soro de pacientes com NCC, comparando pacientes com cistos em degeneração àqueles com cistos viáveis; e avaliar se os níveis de NSE se expressam diferentemente conforme a gravidade da disfunção neurológica. Cinquenta e um indivíduos foram divididos em quatro grupos: pacientes com neurocisticercose (NCC, n=25); pacientes com distúrbios encefálicos distintos que apresentavam alteração da consciência (ENC, n=7); pacientes com meningite (n=11) e um grupo controle (n=8). No grupo NCC, 14 pacientes apresentavam cistos em degeneração (D), oito apresentavam cistos viáveis (V) e três apresentavam cistos inativos. Todos eles apresentavam cinco ou menos cistos, com exceção de um caso, com 30 cistos. Dosagem de albumina foi também realizada nas amostras de LCR e soro e o quociente de albumina (Qalb)

foi utilizado para se estimar a permeabilidade da barreira hemato-encefálica. A pontuação na escala de coma de Glasgow (GCS) foi determinada no momento da punção líquórica e a pontuação na escala de evolução de Glasgow (GOS) foi determinada no momento da alta ou do óbito. Comparações entre os subgrupos de NCC V e D e controles não demonstram diferenças significativas dos níveis de NSE no LCR (LNSE), de NSE no soro (SNSE) e Qalb. O grupo ENC apresentou níveis significativamente mais elevados de LNSE ($p=0,01$) e Qalb ($p=0,005$), mas não de SNSE ($p=0,14$), do que os grupos MEN, NCC e controle (Kruskal-Wallis). Pacientes com piores pontuações na GOS apresentaram níveis mais elevados

de LNSE ($p=0,035$) do que pacientes com evoluções mais favoráveis. Os achados sugerem que a resposta inflamatória associada a um número relativamente pequeno de cisticercos em degeneração não provoca dano neuronal significativo. Além disso, a dosagem de NSE no soro não foi suficientemente sensível para detectar lesão neuronal, mas a NSE líquórica parece ser um bom parâmetro para se estimar dano neuronal em grupos de pacientes com quadros neurológicos mais graves assim como evoluções clínicas desfavoráveis. Entretanto, deve-se ter cautela ao se estimar em cada paciente individualmente a gravidade do distúrbio neurológico e evolução clínica adversa utilizando-se exclusivamente a LNSE como parâmetro.

ENVOLVIMENTO DE RECEPTORES OPIÓIDES E SEROTONINÉRGICOS NOS PROCESSOS ANTINOCICEPTIVOS INDUZIDOS POR SUBSTÂNCIA DOCE

Elce Cristina Côrtes Rebouças

Orientador: Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/04/2004

Introdução: A antinocicepção induzida por substâncias doces tem sido largamente estudada. Contudo, a investigação dos neurotransmissores envolvidos nesse processo antinociceptivo ainda está pouco clara, e é de interesse na clínica médica compreender melhor o envolvimento desses neurotransmissores no sistema neural que controla este tipo de antinocicepção.

Objetivos: O objetivo deste estudo é investigar o envolvimento dos sistemas opióide e serotoninérgico na antinocicepção induzida por substância doce.

Métodos: O presente trabalho foi realizado em modelo animal (*Rattus norvegicus*, *Rodentia*, *Muridae*), com o propósito de investigar se a ingestão crônica de solução de sacarose é seguida de antinocicepção. A latência de retirada de cauda após a aplicação de estímulo nocivo térmico foi medida antes e após esse tratamento no teste de retirada de cauda. Como não houve diferenças estatisticamente significantes

entre os valores de linha basal dos diferentes grupos estudados no presente trabalho, os dados foram normalizados em um índice de analgesia. O envolvimento de opióides endógenos e de serotonina neste processo antinociceptivo foi pesquisado com fármacos antagonistas específicos e não-específicos dos receptores opióides e serotoninérgicos.

Resultados: Nossos achados apontam para o fato de que o efeito analgésico da ingestão de substância doce depende da concentração da solução de sacarose e do tempo de consumo da mesma. O pré-tratamento com naltrexona e metisergida antagonizou a antinocicepção induzida por substância doce (após 14 dias de ingestão crônica de sacarose). Esses efeitos foram corroborados pela administração periférica, por via intraperitoneal, de naloxonazina e cetanserina.

Conclusões: Os resultados sugerem o envolvimento de opióides endógenos e serotonina no processo antinociceptivo induzido pela ingestão crônica de substâncias doces. Receptores opióides μ_1 , serotoninérgicos 5-HT₂, e noradrenérgicos α_1 , parecem estar envolvidos na mediação desse fenômeno antinociceptivo.

ESTUDO CLÍNICO E ELETROFISIOLÓGICO DE UMA POPULAÇÃO COM A DELEÇÃO 17P11.2 – P12: NEUROPATIA HEREDITÁRIA COM SUSCETIBILIDADE À PRESSÃO

Raquel Campos Pereira

Orientador: Prof. Dr. Wilson Marques Jr

Dissertação de Mestrado apresentada em 22/04/2004

A neuropatia hereditária com sensibilidade á pressão (NHSP) é uma enfermidade de distribuição mundial, cuja incidência é provavelmente subestima-

da. A ausência de trabalho nacional com confirmação diagnóstica através de teste genético a respeito desta doença, segundo o melhor de nosso conhecimento, motivou a realização deste estudo. Apresentamos as características clínicas e eletrofisiológicas de uma população de 25 pacientes. Os achados revelam grande variabilidade de padrões de manifestações clínicas, predominando o fenótipo de mononeuropatia aguda/subaguda, indolor precedida por eventos desencadeadores (traumas, atividades físicas, mochila). As alterações eletrofisiológicas mostram um padrão de polineuropatia sensitivo-motora desmielinizante assimétrica, mais grave nos segmentos de compressão fisiológica. As alterações são multifocais e mais significati-

vas nos nervos ulnares, medianos e peroneiros, constituindo padrão único entre as neuropatias hereditárias, mas que pode estar presente em neuropatias adquiridas, tal como neuropatia hansênica. A eletroneuromiografia é o exame de escolha e de baixo custo para triagem de pacientes e familiares para este grupo de doenças.

Concluimos que a NHSP é doença é provavelmente pouco reconhecida devido a presença de manifestações atípicas e do número de portadores oligo ou assintomáticos. Nos países de desenvolvimento a hanseniase deve ser lembrada como diagnóstico diferencial de NHSP.

EXPRESSÃO DA PROTEÍNA FOS EM ESTRUTURAS DE CÉREBRO DE CAMUNDONGOS APÓS CATALEPSIA INDUZIDA POR L-NOARG, HALOPERIDOL E FENTANIL

Andressa Pollo Barion Cavalcanti

Orientadora: Prof.Dra. Elaine A. Del Bel B. Guimarães
Dissertação de Mestrado apresentada em 23/04/2004

Objetivos: O objetivo do estudo foi investigar a influência do Óxido Nítrico (NO) sobre atividade motora mediada no sistema nervoso central. Analisamos a ativação funcional de estruturas do circuito nigroestriatal por meio da expressão da proteína Fos após indução de catalepsia por L-NOARG, haloperidol e fentanil. A presença de neurônios NOS positivos foi analisada por meio da histoquímica da atividade NADPH-diaforase.

Métodos: Camundongos Suíços albinos machos (25-30 g), do Biotério Central do Campus de Ribeirão Preto, USP receberam aplicação i.p. de: L-NOARG (40mg/Kg) ou salina (0,9%); haloperidol (2mg/Kg) ou salina; fentanil (0,5mg/Kg) ou salina. A catalepsia foi medida uma hora após a aplicação. Um quarto grupo recebeu L-NOARG ou salina, 2 vezes ao dia, por 4 dias, sendo catalepsia avaliada também após a última aplicação. Os animais foram sacrificados duas horas após a aplicação da droga para imunocitoquímica da proteína Fos e histoquímica para NADPH-d. Para análise dos resultados foi utilizado teste “t” independente, $p < 0,05$.

Resultados: Os animais apresentaram catalepsia com L-NOARG, haloperidol e fentanil. Haloperidol induziu aumento na densidade de neurônios Fos-

positivos no estriado medial (contr. 40 ± 12 ; Hal 250 ± 20) e lateral (contr. 7 ± 3 ; Hal. $152 \pm 18,3$); no núcleo acumbens “core” (contr. 26 ± 6 ; Hal. 88 ± 11) e “shell” (contr. 39 ± 10 ; Hal. 92 ± 14); fentanil induziu aumento no estriado medial (contr. $16 \pm 4,5$; Fent. 67 ± 17) e lateral (contr. $1,6 \pm 0,7$; Fent. $5,1 \pm 0,8$); L-NOARG agudo induziu redução na região “core” do núcleo acumbens (contr. $18 \pm 4,5$; L-NOARG $7 \pm 1,5$). O L-NOARG sub-crônico induziu tolerância à catalepsia, sem modificação na densidade de neurônios Fos-positivos. Houve predominância da proteína Fos- e neurônios NADPH-d-positivos na matriz estriatal, após todos os tratamentos. A densidade de neurônios NADPH-d positivos na região “shell” do núcleo acumbens de animais tratados com L-NOARG apresentou diminuição (contr. $16 \pm 0,8$; L-NOARG 13 ± 1); o tratamento sub-crônico mostrou diminuição na “pars” compacta da substância negra (contr. e $7,1 \pm 0,9$; L-NOARG $2,4 \pm 0,8$). Haloperidol induziu maior densidade de neurônios NADPH-d no núcleo tegmental pedúnculo pontino (contr. $29 \pm 1,8$; Hal $33 \pm 0,7$); fentanil não induziu alterações. Neurônios duplamente marcados, após tratamento agudo ou sub-crônico com L-NOARG não mostraram diferenças; haloperidol induziu aumento no globo pálido ventral e, o fentanil, na região “core” do núcleo acumbens.

Conclusão: Os resultados deste estudo, com relação a neurônios NADPH-d positivos da via nigroestriatal, corroboram as evidências da participação do sistema NO na modulação da função motora e mos-

tram a provável influência do sistema NO na catalepsia induzida pelo Haloperidol e Fentanil. A partir da hipótese que a expressão da proteína Fos indicaria áreas de ativação funcional, os resultados sugerem

que a catalepsia por inibidores da NOS ocorreria por mecanismo distinto ao menos parcialmente da catalepsia induzida pelo haloperidol ou da catatonia induzida pelo fentanil.

LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO POPULACIONAL DE CEFALÉIA NA CIDADE DE RIBEIRÃO PRETO

Luciana Campaner Fernandes

Orientador: Prof. Dr. José Geraldo Speciali

Dissertação de Mestrado apresentada em 26/06/2004

Foi realizado um estudo epidemiológico de base populacional sobre a prevalência de cefaléia na população urbana da cidade de Ribeirão Preto. A amostra total foi composta por 1230 pessoas, com idade entre 15 e 65 anos, sendo 632 (51,38%) do sexo feminino e 598 (48,62%) do sexo masculino. A amostra foi aleatoriamente selecionada entre os moradores da cidade utilizando-se uma tabela de números aleatórios. O número de entrevistados em cada sub-setor da cidade foi distribuído proporcionalmente à população de cada um deles segundo dados da Secretaria Municipal de Planejamento e as entrevistas foram feitas por telefone. Foram levantados dados sociodemográficos da população (idade, sexo, estado civil, grau de instrução, atividade profissional e renda) e as características da cefaléia (tempo de instalação, início da cefaléia e evento específico, tempo de duração da crise, período do dia de instalação da dor, tipo de dor, interferência nas ati-

vidades diárias, agravamento pela atividade física habitual, atitude na hora da crise, sintomas associados, fatores desencadeantes, presença de aura e sintomas premonitórios, conhecimento do nome da cefaléia, antecedentes familiares, influência na qualidade de vida e procura de atendimento). Da amostra total, encontramos 552 indivíduos com cefaléia, representando uma prevalência de 44,9%, sendo 69,4% mulheres e 30,6% homens. Foram seguidos os critérios da Sociedade Internacional de Cefaléia e os diagnósticos mais prevalentes foram: Cefaléia do Tipo Tensional Episódica (36,2%), Migrânea sem Aura (31,9%), Migrânea com Aura Típica (7,6%) e Migrânea com Aura Basilar (3,6%). Também foi investigada a relação entre prática de exercício físico e houve associação significativa entre a praticar exercício físico e ter cefaléia. Os resultados foram tabulados e analisados através do programa Epi Info 6.4 e do teste de quiquadrado. Sugerimos a criação de um questionário padronizado específico para levantamento epidemiológico de cefaléia para melhor comparação dos dados entre estudos semelhantes.

FREQÜÊNCIA DAS SUB-SÍNDROMES E ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS DOS PAROXISMOS EPILEPTIFORMES EM PACIENTES COM EPILEPSIA BENIGNA DA INFÂNCIA

João Américo Domingos

Orientadora: Profa.Dra. Regina Maria F. Fernandes

Dissertação de Mestrado 12/05/2004

O objetivo deste trabalho foi determinar a frequência das sub-síndromes clínicas nas Epilepsias Benignas da Infância (EBI) e avaliar as características morfológicas e comportamentais dos paroxismos epileptiformes em eletrencefalogramas (EEG) laudados com as seguintes correlações clínicas: -Consistente com EBI (impressão diagnóstica sugerida no pedido do exame); -Sugestivo de Traço Genético para EBI (impressão diagnóstica diferente de epilepsia); -

Achados passíveis de ocorrer em EBI (dados eletrográficos compatíveis sem definição da síndrome no pedido do exame). A finalidade deste estudo era de se procurar uma identidade para as descargas benignas (EBI e Traço Genético de EBI), permitindo diferenciá-las das descargas observadas em Epilepsias Focais Sintomáticas (EFS).

Foram revisados dados clínicos e eletrencefalográficos de 145 crianças com 173 EEG, realizados na Seção de Neurofisiologia Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (HC-RP), no período de 1993 a 1994. À partir daí, as crianças foram classificadas em 4 grupos: EBI

(n=80), Traço Genético de EBI (n=38), Evolução Atípica de EBI (n=2), EFS (n=25).

No grupo EBI, foram encontradas 65 crianças (81,3%) com EBI-Centro-Temporal, 9 (11,3%) com EBI-Occipital tipo Panayiotopoulos, 4 (5%) com EBI-Occipital tipo Gastaut, 1 (1,2%) com EBI com Sintomas Afetivos e 1 (1,2%) com EBI do lactente. Por ser um estudo retrospectivo, não foi possível uma avaliação da real frequência das sub-síndromes mais raras nesta população, sendo necessário um estudo prospectivo clínico e eletrencefalográfico de médio a longo prazos.

Os grupos EBI, Traço Genético e EFS foram comparados quanto às características morfológicas e comportamentais dos paroxismos (presença ou ausência de: dupla espícula, onda lenta, ativação pelo sono, agrupamento, pseudoalentejamento, bissincronia e

dipolo tangencial), não havendo diferença significativa entre eles para qualquer variável estudada.

Quanto ao dipolo tangencial, foi encontrada uma incidência neste estudo de 3,7% no grupo de EFS, 15,4% no grupo de Traço Genético para EBI e 13% no grupo EBI, porém, neste último grupo, foram observados campos diferentes da distribuição tipicamente descrita no contexto de EBI.

Na prática clínica, além da avaliação das características morfológicas e comportamentais dos paroxismos epileptiformes sugestivos de focos funcionais (EBI e Traço Genético), informações clínicas pormenorizadas, bom exame neurológico e exames de neuroimagem são necessários para determinar o real significado destas descargas, quanto à possibilidade de lesão cerebral e ao prognóstico da síndrome epiléptica.

PATOLOGIA EXPERIMENTAL

EFETOS DA DESNERVAÇÃO INTRÍNSECA DO CÓLON NA FORMAÇÃO DE FOCOS DE CRIPTAS ABERRANTES E NA PROLIFERAÇÃO CELULAR EPITELIAL DA MUCOSA EM RATOS TRATADOS PELA DIMETILHIDRAZINA

Sérgio Renato Macedo Chicote

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/03/2004

O câncer de cólon é a segunda causa de óbitos por neoplasias malignas em muitos países. Essa forma de câncer pode ser reproduzida em modelos experimentais, utilizando o cancerígeno dimetilhidrazina (DMH), que possui alto grau de especificidade para o cólon de roedores. Os Focos de Criptas Aberrantes (FCAs) representam lesões pré-neoplásicas e são encontrados na mucosa do cólon humano, mais frequentemente em pacientes portadores de polipose familiar do cólon, e em cólons de animais de experimentação tratados com DMH. A marcação imunoistoquímica do antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) é utilizada para estudos de lesões pré-neoplásicas do cólon pelo aumento da proliferação celular na mucosa colônica. Sabendo-se que a associação entre câncer

de cólon e megacólon é muito rara, o objetivo deste trabalho foi de verificar a incidência de FCAs e a proliferação celular pelo método do PCNA no cólon de ratos tratados com DMH e com megacólon induzido pelo cloreto de benzalcônio (CB - 0,3%).

A desnervação do cólon experimental foi realizada por laparotomia aplicando solução tópica de cloreto de benzalcônio a 3%. Foram utilizados 30 ratos, divididos em 3 grupos: DC (DMH em ratos normais); DCB (DMH em ratos com megacólon) e C (ratos normais – controle). Após sacrifício dos animais foi realizado um “screening” da mucosa do cólon com quantificação dos FCAs e contagem das células das criptas marcadas pelo método imunoistoquímico para PCNA.

Nos grupos DC e DCB houve aparecimento de FCAs na mucosa colônica, com menor frequência neste último grupo ($3,47 \pm 1,52$; $1,37 \pm 1,46$, respectivamente, $z = 2,3434$, $p < 0,0096$ – teste estatístico Mann

Whitney). Observou-se que a proliferação celular epitelial da mucosa, identificada pela marcação do PCNA, foi maior no grupo DC em relação aos demais e no grupo DCB em relação ao C (índice de células marcadas positivamente (ICMP) = $0,1205 \pm 0,0286$ no grupo DCB; ICMP = $0,2162 \pm 0,0160$ no grupo DC

e ICMP = $0,0731 \pm 0,0215$ no grupo C; $X^2 = 845,11$ e $p < 0,0001$, teste estatístico Qui quadrado). Estes resultados sugerem que o megacólon apresenta proteção contra o desenvolvimento do câncer de cólon e que esta proteção ocorre ainda nas etapas precoces da transformação neoplásica da mucosa colônica.

PEDIATRIA

EXPRESSÃO DE UMA PROTEÍNA REGULADORA DO SISTEMA COMPLEMENTO (CD59) E SUA RELAÇÃO COM ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS PRESENTES EM TECIDO MUSCULAR DE PACIENTES PORTADORES DE DERMATOMIOSITE JUVENIL

Flávia Gomes Pileggi Gonçalves

Orientadora: Profa.Dra. Virginia Paes Leme Ferriani
Tese de Doutorado apresentada em 30/04/2004

Estudos anteriores demonstraram que uma microvasculopatia mediada pelo sistema complemento deve ser um evento imunopatogênico primário na dermatomiosite, sobretudo na sua forma juvenil. O sistema complemento é controlado por várias proteínas, tanto solúveis quanto aderidas às membranas. CD59 é uma proteína de membrana inibidora da ativação do sistema complemento, que atua impedindo a formação do complexo de ataque à membrana em células autólogas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão de CD59 e C5b-9 (complexo de ataque à membrana) em tecido muscular esquelético de pacientes com dermatomiosite juvenil e estudar possíveis associações entre a presença destas proteínas e características clínicas e histológicas de cada paciente. Realizou-se análise imunohistoquímica com anticorpo monoclonal contra CD59 (YTH53.1) e contra o complexo de ataque à membrana (clone E11) em todos os casos. Utilizou-se um marcador de tecido endotelial (*Ulex europaeus agglutinin I*) para evidenciar os capilares intramusculares, auxiliando, assim, o estudo da expressão de CD59 nestas estruturas. A expressão de CD59 em vasos endomisiais e perimisiais foi semelhante aos controles normais. Em capilares observou-

se uma importante diminuição na expressão desta proteína, sendo que em 32 de 38 casos avaliados, observou-se ausência de CD59 em pelo menos metade dos capilares presentes nos cortes. Nas fibras musculares observou-se diminuição na expressão de CD59 em 16 de 43 casos avaliados, onde se observou pelo menos metade das fibras presentes nos cortes com marcação parcial ou ausência de marcação, ao invés de uma marcação uniforme em todo o sarcolema, como nos controles normais. Observou-se associação entre diminuição da expressão de CD59 em capilares com o tempo maior decorrido entre o início da doença e a data de realização da biópsia. Além disso, observou-se também correlação negativa significativa entre a expressão de CD59 em capilares intramusculares e características morfológicas típicas da fase aguda da dermatomiosite, incluindo o grau depleção capilar. A diminuição da expressão de CD59 em fibras associou-se com maior grau de depleção capilar e com maior intensidade de infiltrado inflamatório perivascular. Não se observou associação entre expressão de CD59 e de MAC, tanto em fibras quanto em capilares, embora em alguns pacientes, observou-se presença de MAC sobre as mesmas estruturas que apresentaram diminuição de CD59 (tanto em capilares quanto em fibras). Tais resultados sugerem que a diminuição da expressão de CD59 deva fazer parte da fisiopatologia da doença, principalmente em sua fase aguda.

SAÚDE NA COMUNIDADE

ESTUDO EXPLORATÓRIO SOBRE AS CASAS DE APOIO PARA PORTADORES DE HIV/AIDS EM RIBEIRÃO PRETO-SP

Marisley Vilas Bôas Soares

Orientadora: Profa. Dra. Aldaísa Cassanho Forster
Dissertação de Mestrado apresentada em 21/01/2004

O estudo objetivou refletir sobre as condições das Casas de Apoio para portadores de HIV/aids em Ribeirão Preto-SP/Brasil (duas para adultos e uma para crianças) através da avaliação da estrutura e conhecimento das características administrativas e práticas da assistência bio-psico-social. Foram utilizados: questionário avaliativo sobre estrutura e funcionamento; roteiro semi-estruturado sobre as coordenações e suas funções; observação e diário de campo. Tratam-se de

organizações regidas por entidades assistencialista e humanitárias, adequadas às normas e exigências do Ministério da Saúde e Vigilância Sanitária, mantidas principalmente por doações da sociedade civil. Coordenações e recursos humanos são formadas predominantemente por mulheres. As coordenadoras nararam o enfrentamento do preconceito e convivência com cobranças de diferentes níveis. Observou-se dificuldade em realizar a inclusão social dos moradores. Foram obtidos algumas reflexões sobre essas organizações, contextualizadas nos aspectos sociais pertinentes à epidemiologia da aids.

A RECUSA À DESOSPITALIZAÇÃO ENTRE PACIENTES INTERNOS DE HOSPITAL PSIQUIÁTRICO

Vanessa Machado

Orientadora: Profa. Dra. Amábile R. Xavier Manço
Dissertação de Mestrado apresentada em 28/01/2004

A conduta terapêutica em relação ao paciente psiquiátrico que prescrevia o asilamento sofreu alterações ao longo do tempo. Após a Segunda Guerra Mundial, em consequência de uma série de fatores sociais e econômicos, a desospitalização aparece como elemento da assistência psiquiátrica, desencadeando um processo de construção de uma nova política de saúde mental. Apesar de nacionalmente haver uma proposta de desospitalização, observa-se atualmente um número significativo de pessoas que permanecem internadas em hospitais psiquiátricos por tempo indeterminado. Na região de Ribeirão Preto, no Hospital Santa Tereza, nota-se uma situação particular: alguns pacientes internados recusam-se a desospitalização. O presente trabalho objetivou estudar os fatores envolvidos na recusa da desospitalização a partir do relato de pacientes internos em um hospital psiquiátrico com o diagnóstico de esquizofrenia e capacidade verbal preservada, investigando como os mesmos se posicionam em relação a sua hospitalização e desospitalização. Estu-

dou-se aqueles que realmente confirmavam a recusa à desospitalização e, dentre esses, segundo escolha aleatória, foi aplicada uma entrevista semi-estruturada. Foi desenvolvida uma análise qualitativa, tendo como referência a análise de conteúdo temática. Após leitura exaustiva das entrevistas, chegou-se a oito unidades temáticas e os respectivos achados: O porquê da internação, os pacientes relataram ter “adoecido”, descrevendo vozes e profunda tristeza; Causalidade, houve associação entre perda de pessoas queridas e bens materiais, assim como evento espiritual e o advento dos sintomas psiquiátricos; Atribuição do destino ao outro, o outro como responsável pelo seu enlouquecimento e pela sua internação, selando, assim, seu destino; As mazelas sociais, características pessoais que não correspondem aos padrões sociais, como rompimento com família, trabalho e razão; Família, ausência da instituição familiar ou de vínculos familiares; Proteção hospitalar, proporcionando a sensação de segurança material como abrigo e assistência médica e a garantia de não contato com o outro, ameaçador e diferente; Identidade, possibilidade de exercer um trabalho limitado às suas capacidade físicas, estar cumprindo pena e estar se submetendo a um tratamento

de saúde física; Motivo alegado como recusa, surgindo variados relatos que se estendem desde a sensação de liberdade ainda que internado até os longos anos de internação, fazendo com que o modo de vida asilar fosse incorporado fortemente pelos pacientes. A partir da análise dos dados se conclui que aspectos subjetivos dos pacientes, como o alheamento e o “sujeitamento”, são reforçados pelo funcionamento

institucional, combinando-se de forma a perpetuar o isolamento na vida desses pacientes. Esses achados mostram-se importantes na medida em que podem contribuir com futuras elaborações de políticas públicas em saúde mental, além de trazer aspectos da dinâmica subjetiva que devem ser considerados no planejamento de tratamentos mais adequados à especificidade da população.

A VIDA COTIDIANA DE MULHERES COM OBESIDADE: A PERCEPÇÃO DA SAÚDE E DO FUNCIONAMENTO OCUPACIONAL

Luciene Vaccaro de Moraes

Orientador; Prof. Dr. Laércio Joel Franco

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/02/2004

As causas e conseqüências da obesidade têm sido amplamente discutidas, por ser um grave problema de saúde pública, sendo responsável por vários graus de incapacidades na vida cotidiana, tratamentos de custo elevado e com pouco sucesso a longo prazo e por estar associada a altas taxas de morbidade e de mortalidade. Esta pesquisa objetiva investigar a influência da obesidade na percepção da saúde e do desempenho ocupacional de mulheres. A população estudada foi composta por 45 mulheres, com idade variando entre 18 a 60 anos e escolaridade entre a 4ª e 8ª série do ensino fundamental, estratificadas em três grupos de mesmo tamanho: o grupo A, por mulheres com obesidade grau I ou leve (IMC: 30 – 34,9 kg/m²), o grupo B por mulheres com obesidade grau III ou mórbida (IMC: ≥ 40 kg/m²) e o grupo C por mulheres não obesas (IMC: 20-24,9 kg/m²). As mulheres dos grupos A e C se originaram do Núcleo de Saúde da Família 1 e as do grupo B, do Ambulatório de Distúrbio da Conduta Alimentar do Hospital das Clínicas, ambos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Os dados foram coletados no período de 04 de fevereiro a 24 de julho de 2003, através da auto-aplicação de três questionários: um estruturado para caracterização de dados só-

cio-demográficos, outro foi a versão em português do instrumento de avaliação de qualidade de vida da Organização Mundial da Saúde (WHOQOL-100) e o terceiro foi o denominado Auto Avaliação do Funcionamento Ocupacional (SAOF). Os instrumentos utilizados, o WHOQOL e o SAOF, mostraram-se úteis e apropriados para a investigação da influência da obesidade na percepção da saúde e do desempenho ocupacional de mulheres. Os resultados indicaram que mesmo as mulheres com obesidade leve já apresentam dificuldades no trabalho, insatisfação com sua aparência, problemas nas relações sociais, dificuldades na realização e participação nas atividades da vida cotidiana. Em se tratando de mulheres com obesidade mórbida, a ausência ou desorganização nas atividades que sustentam o cotidiano, mostraram-se fortemente acentuadas, caracterizando-as como excluídas das atividades sociais. Este fato pode ser atribuído às limitações físicas, emocionais e nas relações pessoais, observadas neste estudo e ressaltadas na literatura. Considerando que o fazer do sujeito sustenta a construção de seu cotidiano, pode-se pensar que a assistência em terapia ocupacional, pode contribuir para o resgate das capacidades e habilidades perdidas com o ganho de peso ou não desenvolvidas ao longo da vida, para a aquisição de uma postura ativa, criativa e independente, para a ampliação das relações sociais e para a possibilidade de vivenciar outras satisfações além da comida.

REPRESENTAÇÕES SOBRE O CUIDADO E A QUALIDADE DE VIDA DO CUIDADOR DE IDOSOS DEPENDENTES NO PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DE UBERABA - MG

Helia de Moraes

Orientadora: Profa.Dra. Amábil R. Xavier Manço

Dissertação de Mestrado apresentada em 16/02/2004

O envelhecimento populacional é um fenômeno que atinge todo o mundo sendo motivo de grandes preocupações no âmbito social, político e da saúde.

No Brasil, o aumento de idosos na população impacta diretamente a família, observando-se um crescimento do número de pessoas idosas dependentes que são cuidadas pelos membros de sua família. A família é considerada o mais efetivo sistema de apoio, caracteriza-se por ser um importante elemento terapêutico na intervenção com idosos. Entretanto, ainda mostra-se com uma baixa capacidade adaptativa em relação às necessidades da velhice. Para uma ação efetiva junto ao idoso dependente, torna-se essencial e indispensável uma atenção ao cuidador, visto que, a maioria dos problemas diagnosticados do idoso estão ligados a problemáticas psicossociais relacionadas ao funcionamento e à organização familiar. Com base na abordagem teórica das representações sociais, o trabalho buscou conhecer e compreender o quanto a relação família/idoso estressa e onera o desempenho do cuidador informal, caracterizando o mesmo, através de alguns dados demográficos, da sua qualidade de vida e das suas representações sobre o cuidado. O método de pesquisa utilizado foi a entrevista semi-estruturada e a escala de avaliação da qualidade de vida WHOQOL. Os sujeitos foram selecionados numa área de cobertura completa do Programa de Saúde da Família de Uberaba – M.G, na periferia do município, onde estão atuantes 3 equipes. Participaram do estudo 8 cuidadores. Todos os entrevistados eram do

sexo feminino, 50% tinha idade entre 51-60 anos e todos com baixa escolaridade, além disso, o grau de parentesco era de esposas (38%) e filhas (62%). Na avaliação das questões gerais da WHOQOL-bref, 50% das cuidadoras caracterizaram com *ruim* sua qualidade de vida. Nos demais domínios foi predominante uma insatisfação quanto ao apoio social, as queixas ligadas às condições lazer e de moradia, além de uma insatisfação com os serviços de saúde. Neste estudo, encontramos um cuidador capaz de realizar as tarefas relacionadas ao cuidado instrumental do idoso com auto-suficiência, no entanto, com prejuízos na sua rotina diária, uma vez que fica a maior parte do tempo centrado no “cuidar do outro”. Sobre os aspectos psicossociais observa-se a representação do cuidado como tarefa feminina, além de uma naturalização da relação de dependência entre cuidador e idoso, sendo que em muitas vezes o cuidador fica inerte diante dessa condição e com importantes prejuízos no campo relacional e social. O estudo possibilitou-nos ver o cuidador de uma forma mais clara e consistente. Ainda que o Programa de Saúde da Família proponha um atendimento integral e preventivo no âmbito da saúde, este trabalho, também nos mostrou uma deficiência na visão da família como sistema de apoio nas ações de saúde. Encontramos, portanto, um cuidador desamparado e necessitado de auxílio técnico e apoio social.

HEPATITE B ENTRE AS GESTANTES ATENDIDAS PELO PROGRAMA DO PRÉ-NATAL DA SECRETARIA MUNICIPAL DA SAÚDE DA PREFEITURA MUNICIPAL DE RIBEIRÃO PRETO: PREVALÊNCIA DE MARCADORES E CUIDADOS PRESTADOS AOS RECÉM-NASCIDOS

Eduardo Brás Perim

Orientador. Prof. Dr. Afonso Dinis Costa Passos.

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/02/2004

Estima-se que aproximadamente 400 milhões de indivíduos sejam portadores crônicos do vírus da hepatite B no mundo. Quando incide em adultos, a doença apresenta elevada proporção de evolução para a cura, ao passo que na ocorrência de transmissão vertical, o risco de cronificação chega a 90%, aumentando muito a possibilidade de graves conseqüências para a criança, entre as quais cirrose e hepatocarcinoma primário.

A possibilidade de triagem para a identificação das gestantes portadoras do vírus da hepatite B e a conseqüente adoção de medidas profiláticas – imunização ativa e passiva – permite a prevenção segura da transmissão vertical.

Em 1999, o Programa do Pré-Natal da Secretaria Municipal da Saúde de Ribeirão Preto introduziu em sua rotina o *screening* para o HBsAg, com a finalidade de identificar as gestantes portadoras do vírus. Este trabalho objetiva estudar alguns aspectos referentes à hepatite B entre as gestantes atendidas pela Rede Municipal de Saúde, bem como realizar uma avaliação sistematizada do Programa do Pré-Natal.

Para este trabalho foram criados dois grupos

de gestantes. O primeiro formado pelas pacientes com primeira avaliação sorológica do Pré-Natal para aquela gestação, realizada no período de 01 de novembro de 2001 a 31 de outubro de 2002, com a finalidade de estimar a prevalência do HBsAg e também verificar a proporção de recém-nascidos, filhos de mães portadoras deste marcador, que receberam os cuidados preconizados para tal situação. Já o segundo grupo foi formado pelas pacientes, na mesma condição, avaliadas no período de 01 de julho de 2002 a 30 de junho de 2003, com a finalidade de também estimar a prevalência do HBsAg, bem como a proporção de portadoras do HBeAg e anti-HBe. Os valores de prevalência do HBsAg encontrados foram os seguintes: para o primeiro grupo 0,5 (IC_{95%}: 0,3 – 0,7) e, 0,4

(IC_{95%}: 0,2 – 0,6) para o segundo. Verificou-se que em 25,0% dos 24 partos realizados no município não foram realizados os procedimentos de profilaxia preconizados como ideais, no que diz respeito à rapidez da solicitação de vacina e imunoglobulina. Isso foi devido, parcialmente, a deficiências na qualidade de registro das informações em diferentes instâncias. As proporções de portadoras do HBeAg e anti-HBe foram respectivamente 5,9% (IC_{95%}: 0 – 17,1) e 90,5% (IC_{95%}: 77,9 – 100).

Este trabalho procura apresentar informações que sirvam de base para reflexões a respeito do fluxo de procedimentos do Programa do Pré-Natal, visando elevar sua efetividade e superar os obstáculos encontrados.

GRAVIDEZ NA ADOLESCÊNCIA: CONHECIMENTO E USO DE MÉTODOS ANTICONCEPCIONAIS ENTRE ADOLESCENTES DE BAIXA RENDA

Nara Figueiredo Gera

Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth Meloni Vieira

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/02/2004

O presente trabalho teve o objetivo de analisar o conhecimento e o uso de métodos anticoncepcionais e identificar fatores relacionados ao seu uso entre adolescentes grávidas atendidas no pré-natal da Mater - Fundação Sinhá Junqueira, Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. Trata-se de um estudo transversal entre adolescentes de 10 e 19 anos, cuja amostra foi composta por 100 adolescentes que procuraram a referida instituição para fazer o pré-natal no período de 10 de fevereiro a 22 de maio de 2003. Trata-se de população de baixa renda com baixa escolaridade, sendo que a grande maioria não estava estudando (35% destas devido à gravidez e suas implicações) e 53% moravam com seus parceiros sem vínculo oficial. A coleta de dados foi realizada através de entrevistas com apoio de um questionário estruturado desenvolvido pela própria pesquisadora. Os resultados da pesquisa mostram que a maioria das gravidezes não foi planejada (77%) e 83% referiram não estarem usando qualquer método anticoncepcional quando engravidaram. O motivo mais freqüente para esta situação foi o desejo de engravidar (29%), seguido do pensamento mágico que a gravidez não fosse acontecer com elas (13%) e descuido (12%). As razões apontadas pelas adolescentes

para terem ficado grávidas foram a expectativa de mudanças na vida (20%) e o pensamento mágico (20%). O conhecimento sobre o número de tipos de métodos anticoncepcionais entre as adolescentes foi considerado “regular” para 43% delas, “alto” para 36% e “baixo” para 21%. O conhecimento sobre contracepção foi tido como “regular” para 45%, “alto” para 39% e “baixo” para 16%. O conhecimento geral aferido pela somatória dos dois anteriores foi considerado “alto” para 45% das entrevistadas. Dentre as adolescentes que usaram métodos (17%), a camisinha (35%) e a pílula (29%) foram os mais citados. Grande parte das adolescentes obtinha informações sobre métodos na escola (58%), seguido de amigos (43%) e televisão (38%). Mais da metade do total da amostra (58%) teve, em relação ao uso de métodos anticoncepcionais, atitude “liberal”, seguido de atitude “neutra” (24%) e atitude “conservadora” (18%). 45% não conversavam sobre mudanças corporais, 33% não falavam sobre anticoncepcionais e 49% não tinham diálogo sobre sexo. Observou-se que conhecimento não garante o uso de métodos anticoncepcionais e que as adolescentes não possuem espaço satisfatório para discussões sobre sexualidade. Portanto, outros fatores podem estar associados ao não uso de métodos anticoncepcionais como foram apontados neste estudo. Nesse sentido tais aspectos devem ser considerados pelas políticas e serviços de saúde pública.

A REFORMA DA ASSISTÊNCIA PSIQUIÁTRICA NO BRASIL - REPERCUSSÕES EM UM HOSPITAL PSIQUIÁTRICO NO PERÍODO 1990-2000

Sylas Scussel Junior

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Aldaísa Cassanho Forster
Dissertação de Mestrado apresentada em 18/02/2004

A reforma da assistência psiquiátrica no Brasil pode ter seu início localizado historicamente, em fins da década de 1970. Porém, é a partir de 1990, com o estabelecimento legal do Sistema Único de Saúde nacional, que transformações na assistência psiquiátrica são implementadas. De 1988 a 2000, o autor passou pela experiência clínica e administrativa em um hospital psiquiátrico de médio porte, não público e não lucrativo, único local de internação psiquiátrica de um município pólo regional no interior do Brasil central. Com o objetivo de estudar as repercussões locais de tais transformações, o autor realizou um estudo das internações psiquiátricas neste hospital, nos anos de 1994 e 2000, comparando seus resultados com os propósitos expressos nos documentos oficiais analisados

referentes às políticas de saúde mental. Foram analisadas 1584 internações referentes a 1240 pacientes, para o ano de 1994, e 1321 internações relacionadas a 1138 pacientes, para o ano de 2000. Os dados foram coletados do cartão do paciente utilizado pela seção de registro de internações do hospital, de onde foram extraídas as seguintes variáveis: sexo, idade, cor, estado civil, categoria de pagamento, procedência, diagnóstico, data da internação e data da alta. Dos dados obtidos foram calculados a duração da internação e o número de internações por paciente. Os dados foram analisados pelo programa EPI-INFO 2002. Os resultados encontrados foram: redução do número de internações e do número de pacientes internados, redução do número de internações por paciente e redução na duração da internação, o que coincide com o resultado esperado pelas políticas de desospitalização. A análise da demanda por internações psiquiátricas no hospital indica a necessidade de planejamento regional da assistência psiquiátrica.

SENTIMENTOS, PENSAMENTOS E COMPORTAMENTOS DE MULHERES PORTADORAS DE DIABETES TIPO 2

Denise Siqueira Péres

Orientador: Prof. Dr. Laércio Joel Franco
Dissertação de Mestrado apresentada em 19/02/2004

Nesta investigação busca-se conhecer os sentimentos, pensamentos e comportamentos adotados por mulheres portadoras de diabetes mellitus tipo 2. O presente trabalho justifica-se pela necessidade de identificar as dimensões do pensar, sentir e agir relacionadas ao diabetes para oferecer subsídios para a adoção de estratégias de intervenção mais eficazes, humanizadas e mais próximas à realidade e necessidades dos pacientes. Trata-se de um estudo descritivo exploratório e o referencial teórico adotado foi a teoria das representações sociais, que valoriza uma concepção do conhecimento cotidiano. Os participantes foram selecionados em uma Unidade Básica de Saúde (UBS - Vila Mariana) do município de Ribeirão

Preto, interior do estado de São Paulo. Foi utilizada a entrevista semi-estruturada para a coleta dos dados, que foram analisados de forma qualitativa através de análise de conteúdo temática. Após uma análise cuidadosa dos dados, estes foram organizados em 11 unidades temáticas: sentimentos e reações emocionais, alimentação, medicação, exercício físico, práticas populares, representação de saúde, etiologia do diabetes, fatores que elevam a glicemia, gravidade, sintomas de hiperglicemia, informações sobre diabetes. Concluindo, os dados mostraram que o viver com diabetes envolve aspectos psicológicos, sociais, culturais, biológicos e econômicos e estes precisam ser compreendidos pelos profissionais da saúde. É preciso levar em consideração as experiências, o saber popular e as reais necessidades da pessoa diabética no momento de se planejar uma intervenção. Os dados permitem reflexões sobre a necessidade da construção de novas formas de olhar e praticar as ações de saúde.

CAPACIDADE FUNCIONAL DOS PORTADORES DE HEMIPLEGIA POR SEQÜELA DE ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL: RELAÇÃO COM ASSISTÊNCIA À SAÚDE E PARTICIPAÇÃO DA FAMÍLIA

Luciana dos Santos Sguilla

Orientador: Prof. Dr. Amaury Lelis Dal Fabbro

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/02/2004

O envelhecimento populacional propicia o aumento da incidência de acidente vascular cerebral (AVC), que, por sua vez, continua sendo um problema de saúde pública. O acidente vascular cerebral é a principal causa de incapacidade entre os idosos e a redução do grau de dependência é o objetivo central dos programas de reabilitação. Este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade funcional dos portadores de hemiplegia por AVC, como também verificar alguns aspectos da assistência à saúde, reabilitação e adequações do ambiente físico domiciliar. Para a avaliação usou-se a Medida de Independência Funcional-

MIF e um questionário estruturado desenvolvido pelos pesquisadores. Foram avaliados sessenta e um pacientes, com idade média de 69,9 anos; trinta e um eram do sexo masculino. O estudo utilizou o recurso da visita domiciliar com o propósito de obter uma avaliação no ambiente real do paciente. Os resultados demonstram que a capacidade funcional dos hemiplégicos solicita a assistência de um cuidador para a maioria das atividades de vida diária. A tarefa com menor grau de dependência foi o comer e a mais dependente foi o deslocamento vertical. Os pacientes têm acesso a consultas médicas regulares, e é restrito o acesso à reabilitação. Os cuidadores não são orientados sobre como cuidar do familiar incapacitado no domicílio e nem sobre as possíveis adequações que podem facilitar o cuidar, o que sugere predispor a baixa capacidade funcional dos hemiplégicos.

ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DE CASOS DE ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA NA REGIÃO DE ASSIS, ESTADO DE SÃO PAULO

Sara Sumie Sobral Hamaguchi

Orientador: Prof. Dr. Amaury Lelis Dal Fabbro

Dissertação de Mestrado apresentada em 26/02/2004

A esquistossomose está disseminada nos países tropicais e subtropicais, sendo endêmica em 76 países, afeta cerca de 200 milhões de pessoas e põe em risco 600 milhões. Constitui-se grave problema de saúde pública em diversos países, sobretudo em países em desenvolvimento. Esta endemia está associada a movimentos migratórios, atividades que envolvam contato com coleções hídricas, falta de saneamento e abastecimento de água e comportamentos de risco que expõem as populações à infecção. No Brasil esta parasitose foi introduzida a partir da região Nordeste, com o tráfico de escravos provindos da África para cultura da cana, donde se dispersou para as demais regiões do país, acompanhando os grandes ciclos econômicos. No município e região de Assis a doença possivelmente se estabeleceu devido à proxi-

midade com o norte do Estado do Paraná, localidade em que anteriormente havia sido encontrado casos da doença. Por meio da análise das fichas de investigação e notificação de esquistossomose arquivadas na Direção Regional de Saúde de Assis (DIR VIII) e Superintendência de Controle de Endemias, em Marília (SR. 11 da SUCEN) a partir de 1979 para o município e 1985 para a região, pôde-se comparar os perfis dos casos autóctones e alóctones e ainda verificar a evolução do número de casos da doença na região e município. De acordo com os resultados verificou-se que a prevalência e número de casos diminuíram ao longo dos anos analisados, tanto na região, quanto no município. O perfil demográfico dos casos autóctones se assemelhou aos de locais de baixa transmissão e ainda daqueles encontrados em cidades afetadas (urbanização da esquistossomose). Contudo, esses perfis podem estar alterados devido à baixa sensibilidade dos testes diagnósticos realizados rotineiramente.

ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DE DOADORES REATIVOS PARA A DOENÇA DE CHAGAS NO HEMOCENTRO DE RIBEIRÃO PRETO, SP

Léa Mara Tosi Soussumi

Orientador: Prof. Dr. Afonso Dinis Costa Passos
Dissertação de Mestrado apresentada em 27/02/2004

Este estudo, de que participaram 25.891 doadores de sangue que compareceram pela primeira vez ao Hemocentro de Ribeirão Preto, de junho de 1996 a junho de 2001, teve por objetivos: 1) estudar a frequência de resultados sorológicos positivos e inconclusivos na triagem sorológica para a doença de Chagas; 2) estimar a prevalência de doadores infectados com *T. cruzi* entre os doadores acima definidos, através da aplicação de testes confirmatórios; e 3) caracterizar os doadores infectados segundo algumas variáveis de interesse epidemiológico. Foram levantados dados registrados no sistema informatizado do Hemocentro de Ribeirão Preto, coletando-se informações referentes ao doador, ao tipo de doação e ao resultado de teste de triagem para doença de Chagas. Foram estudados ainda os resultados dos testes confirmatórios, além de algumas variáveis de interesse epidemiológico, como idade, local de procedência e de nascimento, tipo da doação e motivo da doação. A população foi composta majoritariamente por homens (83,6%) e indivíduos de 26 a 45 anos de idade (64,1%), em sua maioria residente no Estado de São Paulo (88,2%). Predominaram as doações vinculadas (85,4%), tendo como principal motivação a solicitação de amigos ou razões familiares. A triagem sorológica

foi realizada com a aplicação de dois testes (ELISA e IHA), com 244 resultados positivos e 386 inconclusivos; destes, 236 foram submetidos a testes confirmatórios, dos quais 28 (11,9%) tiveram resultado positivo confirmado. Os 272 com resultado positivo correspondem um valor de prevalência de 1,1% (IC_{95%}: 0,9 – 1,2). A situação sorológica dos demais candidatos foi classificada em: negativa (n=25.521; 98,6%), indeterminada (n=14; 0,1%) e desconhecida (n=84; 0,3%). Do grupo dos doadores com situação sorológica desconhecida, 80 não compareceram ao retorno e 4 apresentaram problemas relacionados às amostras de sangue. A grande maioria dos doadores infectados, apesar de residir na região administrativa da cidade de Ribeirão Preto, no Estado de São Paulo, migrou de outras Unidades Federadas, onde era alta a prevalência da doença de Chagas no passado. Esse fato ficou evidenciado pela elevação progressiva e constante da prevalência da doença, intimamente relacionada com a idade mais avançada dos procedentes de Minas Gerais e, especialmente, de São Paulo. Os baixos percentuais de soropositividade entre os jovens nascidos em São Paulo evidenciam os avanços obtidos no controle da doença neste estado, que antecederam aqueles realizados em outras UFs do Brasil. Entretanto, os resultados deste estudo mostraram que ainda existem doadores jovens infectados procedentes de áreas onde o Programa Nacional de Controle da Doença de Chagas tem sofrido problemas crônicos de continuidade.

PERFIL DOS AGENTES COMUNITÁRIOS DE SAÚDE DO PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO PRETO -SP

Marta Elizabeth Peña Villa

Orientador: Prof. Dr. Laércio Joel Franco
Dissertação de Mestrado apresentada em 18/03/2004

Durante a 30ª Conferência Internacional de Cuidados Primários em Saúde a assistência primária foi considerada o principal meio para alcançar um padrão aceitável de saúde. Várias estratégias de ação têm sido traçadas para se chegar a esse padrão, dentre elas o Programa de Saúde da Família (PSF) cujo objetivo principal é o atendimento integral do indivíduo e sua família na sua comunidade. Dentro desse contexto, um dos principais atores que se destaca é o

Agente Comunitário de Saúde (ACS), uma pessoa da própria comunidade que faz parte da equipe de saúde, desenvolvendo atividades de prevenção de doenças, promoção, manutenção e recuperação da saúde, por meio de ações educativas individuais e coletivas. Devido a grande importância desse profissional, o objetivo desse trabalho foi identificar o perfil dos ACS que atuam nos PSF implantados no município de Ribeirão Preto – SP, analisando o perfil de formação e de capacitação, levantando as expectativas com o trabalho, as semelhanças e divergências no exercício da profissão. Para a coleta dos dados foi aplicado um questionário de auto-preenchimento em 61 dos ACS

dos PSF. As perguntas abordavam variáveis relativas a aspectos sócio-demográficos e dados de formação e capacitação, processo e condições de trabalho e ainda levantavam as dificuldades e as expectativas de mudanças. Os resultados demonstraram que os ACS são predominantemente do sexo feminino, com faixa etária entre 30-49 anos, a maioria casados e que 70% residem há mais de 10 anos na mesma comunidade e têm escolaridade acima do nível fundamental. O estudo demonstrou que há diferenças significativas para o nível

de escolaridade dos ACS segundo a faixa etária, o salário mensal relacionado ao vínculo de trabalho (NSF ou SMS) e distribuição dos ACS segundo o tempo de permanência no mesmo local de trabalho. No que se refere à seleção e contratação há diferenças entre os ACS da SMS e do NSF, assim como a rotina de trabalho dos mesmos. Os ACS que mais encontravam dificuldade no trabalho foram os que estavam em busca de emprego sem que houvesse identificação com a proposta de trabalho.

EVOLUÇÃO TEMPORAL DO TABAGISMO ENTRE GESTANTES NO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO PRETO

Flávio Villa

Orientador: Prof. Dr. Uílho Antonio Gomes
Dissertação de Mestrado apresentada em 16/04/2004

O tabagismo é considerado um problema de saúde pública, pelas conseqüências malélicas que produz à população, e tornou-se uma doença endêmica no mundo. Na gravidez, o consumo de cigarro pode levar a abortos espontâneos, má-formações congênitas, nascimento de recém-nascidos de baixo peso e vários outros problemas. O objetivo deste estudo foi avaliar a evolução temporal do tabagismo entre ges-

tantes no município de Ribeirão Preto de 1978 a 2003, e investigar possíveis fatores de risco e de proteção ligados a essa evolução. Aplicou-se um questionário com dados sociais, biológicos e relacionados ao hábito de fumar das pacientes. Estes dados foram comparados com os de 1978/79 e 1994. Observou-se diminuição da prevalência de tabagismo na gravidez no período, com prevalência de 19,7% em 2003. Estiveram associadas ao tabagismo na gravidez as variáveis escolaridade e renda como possíveis fatores de proteção e a grande paridade e o tabagismo do companheiro como possíveis fatores de risco.

REGIONALIZAÇÃO DA ASSISTÊNCIA HOSPITALAR: ESTUDO DO FLUXO E DEMANDA NA REGIÃO DE RIBEIRÃO PRETO – SP, NO ANO DE 2000

Carlos Eduardo Menezes de Rezende

Orientador: Prof. Dr. Juan Stuardo Yazlle Rocha
Dissertação de Mestrado apresentada em 27/04/2004

O Sistema Único de Saúde (SUS) foi configurado tendo como linha mestra de sua organização a descentralização de suas ações, cabendo ao nível central a elaboração e gestão das políticas de saúde. Diante da necessidade de racionalizar recursos, a regionalização se apresenta como meio para implementar uma descentralização que considere a atuação em nível ampliado, além do município, e propicie melhor acesso aos diferentes níveis de complexidade da assistência com melhor aproveitamento de recursos e economia de escala. Organizar um sistema de saúde em nível regional significa a consideração de diferentes variáveis como o fluxo espontâneo de usuários in-

fluenciado pelo papel socioeconômico exercido pelos diferentes municípios, o conflito de interesses devido ao direcionamento de recursos, a identificação das necessidades regionais e sua contraposição às propostas dos prestadores e a dificuldade para mensurar a demanda por serviços.

Este trabalho estudou o fluxo de internações hospitalares dos sistemas público e supletivo de assistência na região de Ribeirão Preto no intuito de identificar sua distribuição e fatores associados. A origem dos dados foi a Folha de Alta Hospitalar do Centro de Processamento de Dados Hospitalares (CPDH) do Departamento de Medicina Social da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), preenchida em todas as altas hospitalares – SUS e não SUS - de todos os hospitais da região que, depois de recolhida e processada eletroni-

camente, constitui um banco de dados no referido centro. A análise dos dados foi feita através do gerenciador de banco de dados Epi-Info™ versão 3.2. Os resulta-

dos obtidos foram comparados e estudados à luz do Plano Diretor de Regionalização do Estado de São Paulo para a região de Ribeirão Preto – SP.

MORTALIDADE NA INFÂNCIA NO MUNICÍPIO DE FRANCA-SP NOS ANOS DE 1968-70 E 2002

Jacqueline R. F. Vianna

Orientador: Prof. Dr. Uilho Antônio Gomes

Dissertação Mestrado apresentada em 28/04/2004

A saúde das crianças menores de 5 anos é um dos problemas mais críticos que se enfrenta na Região das Américas. A mortalidade na infância é ainda um grande desafio para a maioria das regiões do nosso País. Este estudo tem como objetivo analisar a mortalidade na infância no município de Franca no ano de 2002, comparando-a com os dados obtidos no município na Investigação de 1968/70. Foram estudados 76 óbitos de crianças menores de 5 anos, ocorridos no município de Franca no período de 1 de janeiro a 31 de dezembro de 2002, residentes na zona urbana, excluindo os óbitos ocorridos fora do município ou do Estado, utilizando as informações das declarações de óbito, do Sistema de Informação de Mortalidade, do Sistema de Informação de Nascimentos da Vigilância Epidemiológica, e do Comitê de Mortalidade Infantil, da Secretaria Municipal de Saúde de Franca e dos inquéritos domiciliares. As variáveis estudadas foram idade, sexo, causas básicas e associadas de óbito, peso ao nascer, tipo de parto, fatores biológicos associados como (idade materna, duração da gestação e tipo de gestação), assistência médica, necropsias, local de ocorrência da morte e alguns fatores sócio-econômicos como, grau de instrução e ocupação da mãe. O processamento dos dados foi efetuado pelo programa Epi-info 6 e planilha Excel 2000. As análises foram feitas através da distribuição dos óbitos segundo as diferentes variáveis e dos coeficientes dos óbitos por idade, causas básicas e associadas, sexo, tipo de parto e peso ao nascer. O coeficiente de mortalidade na infância decresceu de 19,40/mil Hab. em 1968/70 para 2,83/mil Hab. em 2002, assim como o CMI de 71,5/mil NV para 12,71/mil NV. Ambos os componentes da mortalidade infantil: o neonatal (36,9/mil NV para 10,69/mil NV) e o pós-neonatal (34,6/mil NV para 2,02/mil NV), foram reduzidos, embora o componente de maior redução tenha sido o pós-neonatal. A maio-

ria dos óbitos infantis ocorreu no período neonatal, principalmente no neonatal precoce, nas crianças com menos de 37 semanas (73,02%), em crianças com baixo peso ao nascer (77,7%), do sexo masculino (57,14%) e que nasceram através de parto normal (61,90%). A mortalidade no período de 1 à 4 anos esteve relacionada com escolaridade inferior a 7 anos de estudo (69,23%) e renda inferior a 2 salários mínimos (76,93%). Em 2002 os 2 principais grupos de causas básicas foram as afecções perinatais e as más formações congênitas. Já em 1968/70 os 2 principais grupos foram as doenças infecciosas e as afecções perinatais. As afecções perinatais que ocupavam o 2º. lugar como causa básica (24,0/mil NV) e associada (40,3/mil NV) de morte de menores de 1 ano em 1968/70, passa a ocupar o 1º. lugar como causa básica (8,8/mil NV) e associadas (16,34/mil NV), mostrando coeficientes bem menores em 2002. Apesar do decréscimo no coeficiente por doenças respiratórias de 7,9/mil NV para 1,01/mil NV estas continuam a ocupar o 3º. lugar como causa básica, tanto dos óbitos infantis (1,01/mil NV), quanto nos óbitos de 1 a 4 anos (0,046/mil NV). As causas principais no período de 1 a 4 anos, foram as doenças do sistema nervoso e causas externas, bem diferente de 1968/70, onde eram as doenças infecciosas e parasitárias e as deficiências nutricionais. Constatou-se também que a prematuridade e os transtornos respiratórios e cardiovasculares específicos do período perinatal foram as causas associadas mais frequentes dos óbitos infantis (82,92%). As doenças infecciosas e parasitárias que em 1968/70 ocupavam o 1º. lugar em causa de morte infantil (28,3/mil NV), passam a não ocorrer como causa básica e, como associada é mínima (0,61/mil NV), vale ainda ressaltar que não ocorreu nenhum caso de diarreia, sarampo ou deficiências nutricionais como causa básica. Esta análise indica que a redução do CMI se deve principalmente às custas da queda da mortalidade pós-neonatal, com resultados apontando a importância do baixo peso ao nascer e da prematuridade, como os maiores determinantes da mortalidade infantil no município de Franca.

SAÚDE MENTAL

O AMBIENTE FAMILIAR DE CRIANÇAS REFERIDAS PARA ATENDIMENTO PSICOLÓGICO POR DIFICULDADES ESCOLARES – UM ESTUDO COMPARATIVO COM ALUNOS NÃO REFERIDOS

Keiko Maly Garcia D'Ávila Bacarji

Orientadora: Profa. Dra. Edna Maria Marturano

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/05/2004

Sair-se bem na escola constitui uma das principais tarefas de desenvolvimento da meninice. Crianças com desempenho escolar pobre frequentemente apresentam problemas sócio-emocionais. Considerando que tanto características da criança como do ambiente familiar têm sido apontadas como relevantes para o desempenho escolar, o presente estudo teve como objetivo investigar as relações entre o desempenho escolar, características do ambiente familiar e aspectos comportamentais de alunos do Ensino Fundamental. Pretendeu-se alcançar o objetivo através de um estudo comparativo entre dois grupos, um composto de crianças referidas por desempenho escolar pobre e outro com crianças não referidas.

Participaram 60 crianças de ambos os sexos, na faixa etária de 7 a 11 anos, alunos de 1ª a 4ª série em escolas públicas, com inteligência pelo menos limítrofe, divididas em dois grupos: Grupo Clínico – 30 crianças com queixa de dificuldades escolares, referidas para o Ambulatório de Psicologia Clínica Infantil do HCFMRP-USP; e Grupo Não Clínico – 30 crianças não referidas para atendimento psicológico. Os grupos foram balanceados quanto a idade, gênero, série escolar e escolaridade dos pais. Procedeu-se a avaliação das crianças através do Teste de Matrizes Progressivas Coloridas de Raven e do Teste de Desempenho Escolar. Durante uma entrevista, as mães responderam aos seguintes instrumentos: Escala Comportamental Infantil A2 de Rutter (ECI); Inventário de Recursos do Ambiente Familiar (RAF); Escala de Eventos Adversos (EEA); Inventário de Comportamento da Infância e Adolescência (CBCL).

Nas comparações entre grupos, verificou-se nas crianças do Grupo Clínico desempenho escolar mais baixo, menor potencial cognitivo, menor capacidade de auto-regulação e mais problemas emocionais; seu ambiente familiar apresentou menos recursos promo-

tores do desenvolvimento, pais com menos disponibilidade para compartilhar atividades com a criança, mais problemas nas práticas educativas e no relacionamento pais-criança e maior número de condições adversas incidindo sobre a mãe. Indicadores de instabilidade financeira foram encontrados com maior incidência no Grupo Não Clínico.

Como 14 crianças no grupo não-clínico apresentaram desempenho inferior ao indicado para sua série no TDE, foram feitas comparações adicionais entre grupos constituídos a partir da combinação entre status clínico e acadêmico. Essas comparações foram realizadas considerando agora três grupos: Grupo Clínico com classificação inferior no TDE (CI, n=26); Grupo Não Clínico com classificação inferior no TDE (NCI, n=14); Grupo Não Clínico com classificação média ou superior no TDE (NCM, n=16).

Confirmando os resultados das comparações anteriores entre o grupo clínico e Não Clínico, o grupo CI mostrou, em relação ao NCM, discreto prejuízo intelectual, atraso nas habilidades acadêmicas e auto-regulação pobre. Em comparação a ambos os sub-grupos Não Clínico, verificou-se que no grupo CI as crianças vivem em ambientes com menos recursos favorecedores do desempenho escolar e apresentam maiores problemas no relacionamento com os pais e nas práticas educativas parentais. Na comparação entre os sub-grupos não clínicos, o grupo NCI apresentou nível intelectual e de desempenho escolar mais baixo, além de uma história de maior instabilidade financeira, mais eventos adversos na vida pessoal e falta no suporte ao desenvolvimento e aprendizagem.

Os resultados confirmam parcialmente a associação entre desempenho acadêmico, funcionamento comportamental da criança e recursos promotores do desenvolvimento no lar. A elevada proporção de crianças com desempenho escolar aquém do esperado no grupo não clínico é um sinal de que esse segmento da população infantil não está recebendo apoio suficiente na comunidade para o cumprimento de uma das tarefas de desenvolvimento centrais da meninice.

RESUMO DE DISSERTAÇÃO APRESENTADA NA FMRP-USP EM DEZEMBRO DE 2003

SAÚDE NA COMUNIDADE

CONSUMO DE ÁLCOOL E PROBLEMAS EMOCIONAIS EM GESTANTES EM UM SERVIÇO OBSTÉTRICO NA CIDADE DE RIBEIRÃO PRETO-SP

Simone Nakao Pinheiro

Orientador: Prof. Dr. Milton Laprega

Dissertação de Mestrado apresentada em 4/12/2003

A gravidez envolve alterações hormonais, físicas e emocionais, sendo um momento de intensas transformações para a mulher, o que poderia contribuir para o desencadeamento de psicopatologia. Existem evidências indicando que problemas emocionais durante a gestação podem estar relacionados a problemas obstétricos e ao maior risco de problemas comportamentais e emocionais na criança. Por outro lado a presença de consumo de álcool durante a gestação poderia causar ou perpetuar problemas emocionais vivenciados neste período, além do risco aumentado de malformações fetais e problemas emocionais na prole. O presente trabalho teve como objetivos a identificação do consumo de álcool e problemas emocionais em gestantes, verificando se as mães que fizeram uso de álcool durante a gestação tiveram mais problemas emocionais do que aquelas que não fizeram uso de álcool. Foi realizado um estudo transversal com uma amostra aleatória e seqüencial de 450 mulheres gestantes no 3º trimestre atendidas no Complexo Maternidade Aeroporto - MATER, de Ribeirão Preto-SP, por ocasião das consultas de rotina do pré-natal e que estivessem em condições de responder ao Questionário de Morbidade

Psiquiátrica (QMPA), T-ACE e CID-10 para detecção de alcoolismo, e um questionário de registro de dados. A amostra foi constituída em sua maioria por mulheres com até 28 anos (81,6%), brancas (58,9%), solteiras com parceiro (48,9%), escolaridade até o nível fundamental (63,5%) e renda até cinco salários mínimos (71,6%). Encontramos em nosso estudo 172 gestantes (38,2%) que foram positivas (escore >7) no Questionário de Morbidade Psiquiátrica (QMPA) após calibragem do instrumento. O fato de não ser casada, ter escolaridade menor ou igual a quatro anos, renda até cinco salários mínimos, estar desempregada e ter um diagnóstico clínico associado a gestação relacionou-se a maior intensidade de sofrimento emocional e maior probabilidade de apresentarem transtornos psiquiátricos. A presença de consumo alcoólico de risco ou presença de diagnóstico para uso nocivo ou dependência ao álcool se relacionou a maior intensidade de sofrimento emocional e maior frequência de casos positivos no QMPA. Um número substancial de mulheres apresenta desordens emocionais e consumo de álcool não diagnosticado no período gestacional. Torna-se relevante uma melhor precisão dos diagnósticos e tratamento adequado neste período, considerando o impacto dos distúrbios mentais sobre a saúde materno-infantil. A terapêutica oferecida pode minimizar as complicações obstétricas e promover uma melhor qualidade de vida a mãe e ao bebê.