

RESUMOS DE DISSERTAÇÕES DE MESTRADO E TESES DE DOUTORADO APRESENTADAS NA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP DE JANEIRO A MARÇO DE 2005

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

NOVOS GENES DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*: CARACTERIZAÇÃO DA ESTRUTURA E EXPRESSÃO

Rafaela Martins Maia

Orientadora: Profa. Dra. Maria Luisa Paçó-Larson
Dissertação de Mestrado apresentada em 13/01/2005

ORESTES (*Open Reading Frame Expressed Sequence Tags*) são seqüências obtidas de uma única leitura, com o objetivo de gerar informação de seqüência expressa em larga escala. Em comparação com os métodos convencionais, por basear-se na aplicação de RT-PCR de baixa estringência, o método ORESTES gera informações preferencialmente da porção central do transcrito, além de permitir a identificação de seqüências transcritas em menor abundância. Com o objetivo de identificar e caracterizar a estrutura e expressão de novos genes de *Drosophila melanogaster*, neste trabalho analisamos 176 ORESTES que não correspondiam a regiões preditas como gene na primeira versão do genoma deste organismo. Através de análises *in silico* identificamos 39 seqüências que não apresentam similaridade significativa com qualquer seqüência de cDNA ou EST presentes em bancos de dados públicos atuais; 35 das quais são derivadas de regiões ainda não anotadas na versão mais recente do genomas ("Release 4"). Quatro destas ORESTES, que obedeciam a pelo menos um dos seguintes critérios:

exibir sítios de *splicing* quando alinhadas com a seqüência genômica, possuir potencial codificador (Genscan) ou apresentar similaridade significativa com seqüência de aminoácidos, foram validadas por hibridação em *northern blots*. Os transcritos representados por três destas ORESTES foram caracterizados quanto a estrutura primária e padrão de expressão no desenvolvimento. Um deles codifica a proteína mitocondrial Tim22. Os outros dois são detectados apenas em RNA poli A⁺. Desses, um codifica uma nova serina protease e é produto de um gene que faz parte de um grupo de genes de serina proteases localizados na região cromossômica 88A1-2. O outro mRNA tem expressão aumentada em larvas do terceiro estágio e codifica uma seqüência de 120 aminoácidos, rica em histidina, que não apresenta similaridade com qualquer seqüência de polipeptídeo conhecida. As outras 35 ORESTES, que não apresentam potencial codificador avaliado pelo Genscan foram submetidas a análises computacional para avaliar a potencialidade de representarem precursores de microRNAs. Dentre estas ORESTES identificamos duas cuja estrutura secundária é compatível com a formação de *hairpin*. Uma delas apresenta similaridade com o microRNA *mir-316* de *Drosophila*.

INTRODUÇÃO À GENÔMICA COMPARATIVA E FUNCIONAL DE *LEISHMANIA BRAZILIENSIS*

Eliane Cristina Laurentino

Orientadora: Profa. Dra. Angela Kaysel Cruz
Tese de Doutorado apresentada em 21/01/2005

Nosso trabalho tinha por objetivo conduzir análises genômicas comparativa e funcional em *Leishmania braziliensis*. Para tanto, nos propusemos

a seguir 2 estratégias: *i*) capturar genes do através da técnica de “gene trapping”, utilizando o sistemas de transposição e *ii*) proceder a análise comparativa utilizando uma biblioteca de fragmentos randômicos com insertos em torno 2 kb do genoma (biblioteca de GSSs – “genome survey sequences”). A análise *in silico* do seqüenciamento de fragmentos randômicos do genoma incluem busca por similaridades com seqüências depositadas em bancos de dados públicos, classificação quanto à funcionalidade, características de seqüências repetitivas encontradas e comparação com genoma de organismos já completamente seqüenciados, além da comparação com tripanossomatídeos e, particularmente, com *Leishmania major*. Aspectos interessantes advindos desta comparação foram encontrados. A análise da biblioteca de GSSs revelou que o baixo valor encontrado para similaridade entre as es-

pécies comparadas, *L. major* e *L. braziliensis* (~60%), se deve a baixa conservação das regiões não codificadoras. Um grande volume de genes conhecidos e hipotéticos envolvidos nos mais diferentes processos celulares foram identificados, gerando um vasto material a ser explorado. Para proceder a estudos funcionais do genoma foram utilizados sistemas de transposição, e os resultados encontrados mostraram que o método é extremamente eficiente para a captura de genes e anotação. Sistemas de transposição constituem uma ferramenta importante para análises sistemáticas de genomas contribuindo para a identificação e anotação dos genes. Juntamente a esta estratégia, a análises de GSSs mostrou-se eficiente enquanto análise de amostras de genomas, na avaliação e caracterização do genoma como um todo, contribuindo para um melhor entendimento da biologia destes parasitas.

CARACTERIZAÇÃO DE FERRAMENTAS MOLECULARES DIRIGIDAS AO ESTUDO FUNCIONAL DAS MIOSINAS V

Elaine Rosely Lepri

Orientadora: Profa. Dra. Enilza Maria Espreafico
Tese de Doutorado apresentada em 08/03/2005

As miosinas da classe V são motores moleculares envolvidos em uma grande variedade de funções celulares. Recentemente, demonstramos que uma proteína de fusão da cauda globular da miosina Va (GT) tem localização nuclear, induz a perda de ramificações e tem uma forma bastante alongada em células B16-F10 sob estímulos hormonais. Em nosso grupo a geração de um novo anticorpo monoclonal produzido contra a fosfoserina (S1627) da miosina Va de galinha, que foi previamente demonstrado ser alvo da CaM-Kinase-II, demonstrou que a miosina Va tem uma localização nuclear conspícua que parece estar regulada durante o ciclo celular. No presente trabalho, confirmamos a localização nuclear e centrossômica da proteína GT em células HEK293 e B16-F10 analisadas vivas ou fixadas, bem como culturas estáveis ou transitórias. Interessantemente, embora a GT esteja mais concentrada no núcleo, sua fosforilação é mais acentuada no citoplasma, sugerindo que a importação nuclear desta proteína deve ser um processo ativo e regulado. Também demonstramos por microscopia

confocal que a proteína GT nas células em interfase exibem uma distribuição pontual em regiões inter-cromatínicas e está ausente o nucléolo. Em adição nós mostramos, que a GT, mas não a MGT, tem um efeito inibitório significativo da proliferação celular em células HEK293 estavelmente transfectadas. Nossos dados também indicam que as proteínas de fusão cauda são mais intensamente fosforiladas do que a MVa-EGFP inteira, sugerindo um mecanismo inibitório associado com o domínio motor/pescoço. Outra observação intrigante é que a isoforma cauda neuronal da MVa (NT) estava tres vezes mais fosforilada do que a cauda melanocítica (MT), e em células B16 estimuladas estas proteínas apresentam um contrastante modelo de distribuição citoplasmática. Além disso determinamos que o mAb9E6 não é específico para MVa, pois ele reconhece a MVc e não está ainda muito claro se a MVb é também reconhecida. De forma interessante nossos dados sugerem que o mAb é capaz de distinguir entre duas frações citosólicas, uma altamente fosforilada da MVc e uma não fosforilada associada com compartimentos endocíticos. Em resumo nossos dados mostram que contribuem para a caracterização de uma nova ferramenta molecular e características funcionais associadas com esta classe de motores.

SUPRESSÃO *IN VIVO* DE SILENCIAMENTO GÊNICO PÓS-TRANSCRICIONAL EM *DROSOPHILA*

Eneri Vieira de Souza Leite Mello

Orientador: Prof. Dr. Ricardo G. Pinheiro Ramos

Tese de Doutorado apresentada em 09/03/2005

Interferência gênica mediada por RNA (RNAi) é um processo no qual a introdução de RNA de dupla fita (dsRNA) nas células leva a uma inativação da expressão de genes contendo sequências homólogas, através da degradação sequência-específica do mRNA correspondente. Este método tem se mostrado de muita utilidade para estudos genômicos funcionais em diversos organismos, incluindo a mosca *Drosophila melanogaster*, um dos mais bem caracterizados modelos animais para estudos genéticos. (FIRE *et al.*, 1998; NGO *et al.*, 1998; BAULCOMBE, 1999; FORTIER; BELOTE, 2000; WIANNY; ZERNICKA, 2000; KENNERDELL; CARTHEW, 1998; LAM; THUMMEL, 2000; KIM *et al.*; 2004). Em plantas, silenciamento gênico pós-transcricional (PTGS), que também é mediado por RNA de dupla fita pode atuar como um mecanismo de defesa contra infecção viral (LI; DING, 2001; WATERHOUSE *et al.*; 2001), o qual pode ser suprimido por proteínas codificadas por vírus. Uma destas proteínas é a helper component-proteinase (HC-Pro), codificada por potyvirus, a qual é capaz de antagonizar silenciamento em todos os tecidos e parece ter como alvo uma

etapa envolvida na manutenção deste silenciamento (LLAVE *et al.*; 2000). Através de expressão transgênica, ou por vetor viral, HC-Pro é também é capaz de inibir silenciamento promovido por transgene (Anandalakshmi, *et. al.*, 1998; Kasshau e Carrington, 1998). Recentemente Ravy e colaboradores (2004) demonstraram que a expressão de HC-Pro em cultura de células de *D. melanogaster*, foi capaz de interferir com RNAi. Esta capacidade de supressão gênica em células de *Drosophila*, por uma proteína viral indica que pelo menos parte dos processos de RNAi e PTGS é conservada entre plantas e *Drosophila*. Este trabalho teve por finalidade induzir a expressão de HC-Pro em *Drosophila melanogaster*, com o objetivo de verificar a sua capacidade de supressão de silenciamento gênico se aplica *in vivo*. Através da técnica de transformação mediada por elemento P foi obtida uma linhagem transgênica que se mostrou capaz de inibir parcialmente RNAi quando a expressão de HC-Pro foi induzida por choque térmico. Além disso, os transgênicos apresentaram um aumento de viabilidade e fertilidade em relação aos parentais. Estes resultados mostram a funcionalidade da proteína HC-Pro *in vivo* em *Drosophila* e abrem a possibilidade de seu uso sistemático neste organismo, como uma ferramenta capaz de permitir a manipulação espacial e temporal do silenciamento gênico durante o desenvolvimento.

CLÍNICA CIRÚRGICA

AZUL DE METILENO NA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DO CHOQUE ANAFILÁTICO INDUZIDO PELO COMPOSTO 48/80, EM PORCAS: ESTUDO CLÍNICO, HEMODINÂMICO E DA REATIVIDADE VASCULAR *in vitro*

Antonio Carlos Menardi

Orientador: Prof. Dr. Walter V. de A. Vicente

Tese de Doutorado apresentada em 11/02/2005

Objetivo: A finalidade do estudo foi testar o azul de metileno (AM) na profilaxia e no tratamento

do choque anafilático induzido pelo Composto 48/80, um agente liberador de histamina.

Projeto de estudo: Estudo prospectivo e controlado.

Local: Um laboratório de pesquisa universitário.

Animais: Porcas.

Intervenções: O protocolo incluiu 5 grupos experimentais: Grupo I (Controle) – o animal foi observado sem ação de nenhuma droga; Grupo II (AM) – infusão de AM, 2 mg/kg; Grupo III (C48/80) - choque anafilático induzido pela infusão de C48/80, 4 mg/kg; Grupo IV (C48/80 + MB) - choque anafilático induzido pela infusão de C48/80, 4 mg/kg, seguida da infusão de AM, 2 mg/kg no momento de maior hipotensão; Grupo V (MB + C48/80) – tentativa de prevenção do choque anafilático com a infusão de AM, 2 mg/kg 1-2 minutos antes da infusão do C48/80, 4 mg/kg. Os níveis plasmáticos de NO foram medidos nos 5 grupos experimentais. Após a realização do estudo hemodinâmico *in vivo*, realizou-se um estudo *in vitro*, da reatividade vascular em artérias coronárias, mesentérica superior, hepática e renal, para se determinar eventual efeito de AM na função endotelial arterial.

Principais resultados: 1) A infusão endovenosa de AM (2 mg/kg) não causou alterações da pressão arterial média quando comparado com o grupo controle, comprovando sua segurança sobre o aparelho cardiovascular, na dose utilizada; 2) O Composto 48/80 (4 mg/kg) foi bastante efetivo na produção de choque anafilático experimental; 3) O AM, administrado após o C48/80, amenizou o choque anafilático; 4) A tentativa de prevenir o choque anafilático com AM não causou alterações, uma vez que as manifestações clínicas da anafilaxia foram atenuadas; 5) Não ocorreram diferenças intergrupos, no comportamento do nitrato plasmático; 6) O estudo *in vitro* da reatividade vascular de artérias coronárias, hepáticas, renais e mesentéricas superiores não demonstrou disfunção endotelial em nenhum dos grupos.

Conclusão: AM não possui efeito profilático e/ou terapêutico no choque anafilático experimental.

AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DA UTILIZAÇÃO DA PRÓTESE DE LÁTEX NA INGUINOPLASTIA VIDEOLAPAROSCÓPICA. ESTUDO EXPERIMENTAL EM CÃES

Luiz Henrique de Sousa

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Ceneviva

Tese de Doutorado apresentada em 11/02/2005

Para tratamento cirúrgico da hérnia inguinal, há tendência atual à utilização de próteses para reforço livre de tensão com o objetivo de diminuir as frequentes complicações e recidivas, com técnicas que usam os próprios tecidos da região inguinal para reforço. Na abordagem laparoscópica a prótese mais utilizada é a de polipropileno, pela técnica transabdominal pré-peritoneal (TAPP), com baixos índices de complicações.

Alguns bons resultados com a biomembrana de látex, como indução do processo de cicatrização, biocompatibilidade e neoformação tecidual, associados às vantagens das técnicas videolaparoscópicas estimularam a realização dessa pesquisa, com objetivo de avaliar os aspectos morfológicos do comportamento de quatro tipos de biomembranas de látex estruturalmente diferentes, colocadas pré-peritonealmente por inguinoplastia videolaparoscópica.

Dezesseis inguinoplastias foram realizadas em 12 cães de quatro grupos: LIPRO (n = 8): biomem-

brana de látex impermeável na região inguinal direita de quatro cães e prótese de prolene, como controle, contra-lateral nos mesmos animais; LPI (n = 4), LPPE (n = 2) e LPPF (n = 2): as biomembranas de látex respectivas: poliamida impermeável, poliamida porosa com 1mm de espessura e poliamida porosa com 0,5mm de espessura, colocadas na região inguinal esquerda dos cães.

Antes da eutanásia, avaliou-se por exame macroscópico eventuais complicações como seroma, hematoma e infecção. No grupo LIPRO todas as avaliações foram realizadas na ordem: cão número 1: 7º dia, cão número 2: 14º dia, cão número 3: 21º dia e cão número 4: 28º dia. Nos demais grupos as avaliações foram no 28º dia pós-operatório. As peças retiradas da região inguinal foram avaliadas quanto a integridade peritoneal, aderência de epíploon, aderências viscerais, acomodação, encistamento e incorporação das próteses. A microscopia para avaliar neoformação vascular, reação inflamatória, depósito de colágeno, fibrose, encistamento e incorporação da prótese.

Os resultados com os quatro tipos de biomembranas de látex foram: não ocorrência de hematoma,

seroma e infecção, bem como a indução de cicatrização por indução de neoformação vascular, reação inflamatória e deposição de colágeno. Nenhuma biomembrana de látex induziu fibrose como aconteceu no grupo controle de prolene.

A tortuosidade ocorrida em todas as biomembranas indicam que o “esqueleto” de poliamida não foi suficiente para mantê-las esticadas. Exceto a biomembrana de látex com poliamida porosa de 0,5mm de espessura, que, apesar de formar microcistos, se incorporou parcialmente; todas as outras sofreram encistamento total.

Como ficou demonstrada à microscopia, a incorporação mesmo que parcial das próteses de látex com poliamida porosa de 0,5 mm, colocadas no espa-

ço pré-peritoneal à semelhança da prótese de prolene, estimula novos experimentos com esta estrutura da biomembrana na região inguinal.

Todos estes fatores associados permitem não recomendar a utilização de qualquer dos quatro tipos estruturais de biomembranas de látex estudados para reforço da região inguinal, por videolaparoscopia.

Conclui-se que: 1 - todas as biomembranas de látex mantêm características de indução do processo de cicatrização sem fibrose e 2 - com exceção da biomembrana de látex com poliamida porosa de 0,5mm de espessura que, apesar de formar múltiplos microcistos incorpora-se parcialmente aos tecidos vizinhos, todas as outras não se incorporam, sofrendo encistamento total.

FARMACOLOGIA

CONSEQUENCIAS CELULARES E FUNCIONAIS DO CONSUMO CRONICO DE ETANOL SOBRE O SISTEMA ENDOTELINA VASCULAR

Carlos Renato Tirapelli

Orientadora: Profa.Dra. Ana Maria de Oliveira
Tese de Doutorado apresentada em 03/03/2005

O consumo crônico de etanol leva a alterações significativas das funções cardíaca e circulatória, figurando como um importante fator de risco no desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Nossos resultados mostram que em anéis de aorta torácica isolados, não houve alteração da resposta de contração induzida pela ET-1 após tratamento com etanol (solução 20%) por 2, 6 ou 10 semanas. Observou-se aumento da resposta contrátil a fenilefrina em anéis de aorta após os três diferentes períodos de tratamento. A hiperreatividade a fenilefrina é independente do endotélio e envolve aumento da liberação/produção de prostanóides vasoconstritores de origem muscular (possivelmente PGH₂ ou TXA₂), que regulam o aumento de influxo de Ca²⁺ do meio extracelular.

Nos anéis isolados de carótida com endotélio, houve aumento da resposta contrátil à ET-1 após 2, 6 ou 10 semanas de tratamento com etanol. O relaxamento induzido pela ET-1 e pelo IRL1620 (agonista

seletivo dos receptores ET_B) em anéis de carótida pré-contráídos com fenilefrina, foi menor após tratamento com etanol. Evidenciou-se que o tratamento com etanol não altera os níveis de RNAm para os receptores ET_A e ET_B. No entanto, o tratamento induz redução da expressão protéica dos receptores ET_B endoteliais, que promovem relaxamento vascular. Essas observações indicam que a hiperreatividade à ET-1 está relacionada à redução do relaxamento vascular mediada pelos receptores ET_B endoteliais.

O consumo crônico de etanol não altera os níveis de RNAm para a pré-pró-ET-1 em anéis de carótida. Não se evidenciou alteração dos níveis basais de ET-1 em anéis de carótida após tratamento com etanol. No entanto, o tratamento com etanol promoveu redução da resposta de contração induzida pela Big-ET-1 em anéis de carótida com endotélio após os três períodos de tratamento. Essa resposta indica que o tratamento com etanol altera o mecanismo de conversão da Big-ET-1 em ET-1, que envolve a ação da Enzima Conversora de Endotelina (ECE).

O tratamento com etanol induz aumento da pressão arterial média basal após 2, 6 e 10 semanas

de tratamento. Houve aumento da resposta pressora induzida pela ET-1 em animais tratados com etanol, indicando que o tratamento altera o padrão de resposta do sistema endotelinérgico, que participa da manutenção basal do controle da pressão arterial.

O sistema endotelinérgico assim como o con-

sumo crônico de etanol está relacionado à isquemia cerebral, acidente vascular cerebral e ao aumento da pressão arterial. Nesse sentido, o presente trabalho estabelece correlação positiva entre esses dois fatores onde o tratamento com etanol promove alterações no sistema endotelinérgico vascular.

FISIOLOGIA

O LOCUS COERULEUS E O ESTRADIOL MODULAM A EFICIÊNCIA DO FEEDBACK NEGATIVO DOS GLICOCORTICÓIDES

Isac Alexandre Ferreira da Silva

Orientadora: Profa. Dra. Janete A. Anselmo Franci
Tese de Doutorado apresentada em 12/01/2005

A secreção adequada de glicocorticoides é essencial para a homeostase, e em ratas lactantes, também é importante para o correto desenvolvimento dos filhotes. O estradiol e o núcleo noradrenérgico Locus Coeruleus são indicados como possíveis moduladores da atividade do eixo HPA resultando numa secreção adequada de glicocorticoides. Entretanto, não há um consenso com respeito a como eles exercem esse papel modulatório.

Nosso intuito foi investigar, num primeiro momento, o efeito da manipulação experimental dos esteróides ovarianos e do Locus Coeruleus na secreção de corticosterona em resposta à exposição ao éter e no número de receptores para glicocorticoides na região hipocampal CA1. Ratas ovariectomizadas recebendo ou não reposição com estradiol e/ou progesterona tiveram sua veia jugular canulada e foram submetidas à lesão do Locus Coeruleus, cirurgia fictícia ou a nenhuma cirurgia estereotáxica e 24 horas mais tarde foram expostas ao éter. Coletas sanguíneas seriadas foram coletadas para a medição de corticosterona plasmática. Outros animais tiveram o cérebro retirado para a realização de imunocitoquímica para a detecção de receptores de glicocorticoides. A ovariectomia ou a lesão do Locus Coeruleus foram capa-

zes de alterar a influência na secreção de corticosterona. A modulação da secreção pelos esteróides ovarianos parece ser devida à ação do estradiol. A combinação da lesão do Locus Coeruleus com a ovariectomia afetou fortemente a secreção normal de corticosterona, talvez pela diminuição do número de receptores de glicocorticoides na região CA1 do hipocampo. Estes resultados sugerem que a modulação da secreção de corticosterona em resposta à exposição ao éter depende da combinação de uma concentração adequada de estradiol associada a uma atividade adequada da atividade do LC.

Um segundo estudo foi realizado com o intuito de verificar o papel do LC e do estradiol na secreção de corticosterona em ratas lactantes. Ratas no sexto e vigésimo dia de lactação foram submetidas a canulação de sua veia jugular e à lesão do Locus Coeruleus, cirurgia fictícia ou a nenhuma cirurgia estereotáxica, sendo, 24 horas mais tarde, expostas ao éter. Não há diferença na secreção de corticosterona com relação ao tempo de lactação dos animais intactos. A lesão do Locus Coeruleus em qualquer um dos dias estudados interfere com a secreção de corticosterona. Estes resultados indicam que o feedback negativo exercido pelos neurônios hipocampais sobre a secreção de corticosterona não é afetado nem pela ausência de noradrenalina nem é sensível ao pequeno aumento de estradiol que ocorre no final da lactação, diferentemente do que ocorre em ratas virgens.

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DO RECEPTOR DE PROGESTERONA NO LÓCUS COERULEUS EM RATAS E EM CAMUNDONGOS FÊMEAS *ER KNOCKOUT*

Cleyde Vanessa Vega Helena

Orientadora: Profa. Dra. Janete A. Anselmo Franci

Tese de Doutorado apresentada em 26/01/2005

Parte I

Apesar de estar estabelecido que os esteróides ovarianos controlam a secreção de LHRH e de LH, os locais precisos onde eles exercem este controle não estão ainda esclarecidos. Estudos do nosso laboratório demonstraram que a NA do Locus Coeruleus (LC) parece ser essencial na deflagração dos picos de LH. Como estes neurônios são responsivos ao estradiol, hormônio que usualmente induz a expressão de receptores de progesterona (PR), os objetivos deste estudo foram investigar se os neurônios do LC expressam PR, se a expressão varia durante o ciclo estral e em resposta ao estradiol e a progesterona, comparando essa resposta àquela que ocorre na área pré-óptica (APO). Ratas foram perfundidas às 10, 14 e 16h em cada uma das fases do ciclo estral. Outro grupo de ratas foi ovariectomizado e tratado com óleo ou estradiol durante dois dias consecutivos seguido ou não por uma injeção de progesterona. Um dia após a última injeção de óleo ou estradiol os animais foram perfundidos às 10 e 16h. Uma amostra sanguínea foi colhida antes da perfusão e os níveis plasmáticos de estradiol, progesterona e LH foram determinados, por radioimunoensaio, nas ratas ciclando. A efetividade do tratamento hormonal nas ratas ovariectomizadas foi avaliada por meio da dosagem dos níveis plasmáticos de LH. Secções contendo o LC e a APO foram processadas para detecção dos neurônios PR positivos (PR+) por imunocitoquímica (ICC). Os neurônios do LC foram identificados por ICC para tirosina hidroxilase. As concentrações plasmáticas de progesterona foram mais altas no metaestro e proestro; as de LH foram basais durante todos os horários, exceto às 16h do proestro (horário do pico pré-ovulatório). As concentrações mais altas de estradiol foram observadas no dia de proestro, quando ocorreu um aumento significativo no número de neurônios PR+ na APO. No LC, o perfil dos neurônios PR+ variou significativamente durante o ciclo estral, aumentando de uma menor expressão na manhã do metaestro alcançando seu ápice na tarde de diestro. No proestro e no estro a variação do número de neurônios PR+ foi muito semelhante. Este número foi alto pela manhã e diminuiu progressivamente a tarde. Nas ratas ovariectomizadas,

o tratamento com estradiol foi eficaz em diminuir as concentrações de LH pela manhã e induzir um pico à tarde, o qual foi amplificado em cerca de três vezes pelo tratamento com progesterona. O estradiol induziu um aumento no número de neurônios PR+ em ambas as regiões estudadas, independente do horário. No entanto, o tratamento com progesterona provocou um completo desaparecimento de neurônios PR+ no LC embora não tenha alterado o número de PR+ na APO. Estes dados demonstram que: 1) os neurônios do LC, à semelhança dos neurônios da APO, expressam PR e respondem ao tratamento com estradiol sintetizando PR, mas ao contrário do que ocorre na APO, o tratamento com progesterona resulta em uma completa inibição da expressão de PR no LC e 2) os neurônios do LC parecem ser mais sensíveis à variação hormonal que ocorre durante o ciclo estral do que os neurônios da APO. A expressão de PR no LC poderia estar relacionada com a liberação de NA que parece ser essencial para a ocorrência do pico pré-ovulatório de LH.

Parte II

Os neurônios do Locus Coeruleus (LC) apresentam papel fundamental na regulação do pico de LHRH pelos esteróides gonadais, desde que sua lesão bloqueia o pico pré-ovulatório de LH e aqueles induzidos pelos estradiol e progesterona em ratas ovariectomizadas. Estudos recentes demonstraram que os dois tipos de receptores de estradiol (ER α e ER β) são localizados no LC, mas a influência de cada um deles na indução estrogênica de receptores para a progesterona (PR) não é conhecida. Como os neurônios do LC e os PR parecem ser essenciais para os mecanismos de deflagração dos picos de LHRH neste estudo investigou-se o efeito do estradiol e da progesterona na expressão de PR nos neurônios do LC em animais sem genes funcionais para codificação do ER α (α ERKO) e ER β (β ERKO). Camundongos fêmeas α ERKO, β ERKO e suas respectivas proles *wild-type* (α WT e β WT) foram ovariectomizadas e injetadas com óleo, somente estradiol 24 e 48h antes da perfusão ou estradiol seguido de uma injeção de progesterona 5h antes da perfusão (realizada às 16h). Secções contendo o LC foram processadas para detecção dos neurônios positivos ao ER α , ER β e PR por imunocitoquímica (ICC). A marcação com TH foi utilizada para identificar os limites do LC. O número de neurô-

nios positivos para cada receptor foi quantificada bilateralmente em 3 secções/animal contendo as porções anterior, medial e posterior do LC. Ambos ER α e ER β estão presentes no LC, sendo ER β o mais abundante. O tratamento com estradiol reduziu o número de neurônios ER α + nos animais α WT, β WT, bem como nos β ERKO ($p < 0.05$), e o tratamento com progesterona diminuiu ainda mais esse número ($p < 0.05$) enquanto que nenhum dos tratamentos hormonais influenciou o número de neurônios ER β + em todos os animais estudados. Um número substancial de neurônios PR+ foi encontrado no LC de animais tratados com óleo. O tratamento com estradiol aumentou o número de neurônios PR+ e a progesterona diminuiu esse número em ambos animais WT ($p < 0.001$). Apesar de seu efeito ser menor do que aquele observado nos animais α WT, o tratamento com estradiol aumentou o número de

neurônios PR+ nos animais α ERKO, enquanto a progesterona diminuiu esse número ($p < 0.01$), sugerindo que o ER α é parcialmente responsável pela indução estrogênica de PR. No entanto, nos animais β ERKO, o número de neurônios PR+ apresentou apenas um discreto aumento em resposta ao tratamento com estradiol ($p < 0.05$) e um retorno aos valores dos animais tratados com óleo, após o tratamento com progesterona ($p < 0.05$). Essa menor responsividade aos esteróides gonadais dos animais β ERKO parece ser atribuída a um número elevado de neurônios PR+ nos animais tratados com óleo, provavelmente devido a uma não diminuição deste número após a ovariectomia nos animais β ERKO. Estes dados mostram que os neurônios do LC expressam ER α , ER β e PR, e que um balanço entre eles deve ser crítico para o controle fisiológico da função reprodutiva.

GENÉTICA

ESTUDO DAS ANOMALIAS CONGÊNTAS DETECTADAS EM UMA SÉRIE DE NECROPSIAS CONSECUTIVAS DE CRIANÇAS DE 0 A 14 ANOS REALIZADAS EM UM PERÍODO DE 10 ANOS NO HCFMRP-USP

Adriana Piram

Orientador: Prof. Dr. João Monteiro de Pina Neto
Tese de Doutorado apresentada em 04/02/2005

As anomalias congênitas têm um papel importante na mortalidade de pacientes pediátricos. Uma série de necropsias de pacientes de 0 a 14 anos realizadas em um período de 10 anos (1994-2003) no Departamento de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo foi estudada para determinar a frequência e o padrão de anomalias congênitas relacionadas ao óbito. Os registros de todas as necropsias foram sumarizados e revisados. Casos apresentando anomalias congênitas foram selecionados e dados dos prontuários hospitalares, documentação fotográfica, estudos radiológicos, registros do Departamento de Patologia e do Serviço de Genética Médica foram recuperados para revisão e análise. Setecentos e doze óbitos (35,3%) dos óbitos apresentavam anomalias

congênitas. Com relação à causa do óbito, as complicações perinatais foram a principal causa relacionada ao óbito (51,8%). As infecções foram a terceira causa mais relacionada ao óbito (15,6%) e as anomalias congênitas a segunda (29,3%). Entre os casos identificados como tendo uma anomalia congênita ou doença genética, 183 (25,7%) tinham uma anomalia isolada e outros 70 (9,8%) tinham uma anomalia provavelmente isolada; 159 (22,3%) tinham uma seqüência confirmada e 7 (1,0%) tinham uma suposta seqüência. Duzentos e sessenta (36,5%) apresentavam malformações múltiplas, sendo que 183 (25,7%) receberam um diagnóstico de certeza. Trinta casos (4,2%) tinham outras condições genéticas tais como doenças metabólicas ou desordens neurológicas herdáveis confirmadas e outros três (0,4%) não foram confirmados. Os estudos colaborativos entre os Serviços de Patologia e Genética são importantes para a definição dos diagnósticos clínicos e etiológicos e determinação dos riscos de recorrência elementos fundamentais para o aconselhamento genético.

ESTUDO CITOGENÉTICO MOLECULAR DE CROMOSSOMOS MARCADORES

Reginaldo Justino Ferreira

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Regina Martelli

Dissertação de Mestrado apresentada em 21/02/2005

A análise citogenética convencional constitui ainda o principal exame para o diagnóstico de alterações cromossômicas numéricas e estruturais. Contudo, as técnicas de FISH (hibridação fluorescente *in situ*) e SKY (cariótipo espectral) têm aumentado significativamente a resolução cromossômica e a especificidade do diagnóstico. A técnica de FISH é baseada na hibridação complementar de cadeias simples de ácido nucléico ao material genético alvo fixado. Diferentes sondas estão disponíveis para propósito diagnóstico, permitindo identificar cromossomos, braços ou regiões específicas, como centrômeros ou um único *locus*. A técnica de SKY consiste em um FISH com 24 cores, permitindo a visualização simultânea de todos os cromossomos humanos em cores diferentes, aplicada na detecção de rearranjos cromossômicos complexos e identificação de cromossomos marcadores extranumerários (SMC). SMC são cromossomos extranumerários cuja origem não é determinada através das técnicas citogenéticas convencionais. SMC estão presentes em 0,05% da população, podendo estar associados ou não a fenótipo anormal. A variabilidade fenotípica depende do grau de mosaicismo, da

constituição genética, do cromossomo de origem e da origem parental do marcador. Neste estudo, as técnicas convencionais de citogenética, FISH e SKY foram combinadas para determinar a origem de cromossomos marcadores presentes no cariótipo de dez pacientes (3 meninos e 7 meninas) acompanhados pelo Serviço de Genética Médica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, todos apresentando fenótipo anormal. A origem dos cromossomos marcadores foi determinada em oito casos, sendo seis *de novo*, derivativos dos cromossomos 2, 9 (dois casos), 10, 15 e 18 e dois de origem materna derivativos do cromossomo 22, com cariótipos der(22)t(11;22)(q23.3;q11.2)mat e der(22)t(9;22)(p24;q11.2)mat. Nestes casos, o protocolo de investigação citogenética foi essencial para o diagnóstico, prognóstico e definição do risco de recorrência para as famílias. A técnica de FISH foi informativa em sete casos, definindo a origem de cinco marcadores (derivativos dos cromossomos 9, 15, 18 e 22), excluindo a origem do cromossomo 15 em um caso e dos cromossomos 15, 21 e 22 em outro. A origem do cromossomo marcador não foi determinada em dois casos. Propomos um protocolo incluindo as técnicas convencionais de citogenética e SKY, seguido da técnica de FISH para confirmação do diagnóstico, definição dos pontos de quebra e correlação genótipo-cariótipo.

GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

CORRELAÇÃO ENTRE A AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DO ASSOALHO PÉLVICO COM O USO DO PERINEÔMETRO E DA PALPAÇÃO DIGITAL EM PACIENTES NO MENACME

Alberto Eugenio de Azevedo Trapp

Orientador: Prof. Dr. Maurício M. Sabino de Freitas

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/02/2005

O assoalho pélvico é formado por músculos, fáscias e ligamentos que compõem uma unidade anatômico-funcional cuja finalidade é manter o posicionamento e o conteúdo das vísceras abdomino-

pélicas. Os seus defeitos podem causar diferentes patologias que levam a alterações na qualidade de vida das pacientes. A avaliação inicial é de suma importância para o correto diagnóstico das alterações do assoalho pélvico. Este estudo visa comparar a avaliação do assoalho pélvico utilizando-se a palpação digital e o perineômetro digital. Quarenta e oito pacientes foram avaliadas e agrupadas dependendo do número de par-

tos vaginais, da idade e do IMC, sendo realizadas correlações entre a avaliação digital perineal e o valor do perineômetro nas diversas faixas das variáveis citadas anteriormente. Em todas as correlações não se

observaram diferenças entre os valores da avaliação digital e do perineômetro. Podemos concluir com esses resultados que a avaliação perineal digital equivale à avaliação através do perineômetro.

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO HEMODINÂMICO FETAL NA SEGUNDA METADE DA GESTAÇÃO

Antonio Gadelha da Costa

Orientador: Prof. Dr. Francisco Mauad Filho

Tese de Doutorado apresentada em 28/02/2005

O objetivo desse estudo foi avaliar a evolução dos parâmetros dopplervelocimétricos nas artérias fetais aorta, segmentos supra-renal (ASR) e infra-renal (AIR), cerebral média (ACM) e umbilical (AU), por meio das velocidades sistólica máxima (VSM), velocidade diastólica final (VD), índice de resistência (IR), índice de pulsatilidade (IP) e tempo de aceleração (TA). Realizamos estudo longitudinal em 33 fetos normais entre a 22^a e a 38^a semana de gestação. A dopplervelocimetria foi realizada por único observador, utilizando volume de amostra de 1 mm, filtro de parede de 50-100 Hz e ângulo de insonação de 5^o a 19^o, na ACM e AU, e abaixo de 60^o na ASR e AIR. Entre a 22^a e a 38^a semana gestacional, a VSM aumentou em todas as artérias fetais ($p < 0,05$), cujo maior valor foi na ASR, aumentando de 74,6 cm/s para 106,0 cm/s. Na AU, a VSM também aumentou, entretanto, diminuiu de 55,5 cm/s para 46,2 cm/s entre a 34^a e a 38^a semana gestacional ($p < 0,05$). A VD aumen-

tou em todas as artérias e os maiores valores foram na AIR, aumentando de 14,0 cm/s para 22,0 cm/s ($p < 0,05$), entre a 22^a e a 38^a semana gestacional. Nesse período, o IR não se modificou, na ASR ($p > 0,05$), entretanto, diminuiu de 0,69 para 0,56 na AU ($p < 0,05$). Na AIR, o IR foi constante na maioria das semanas gestacionais ($p > 0,05$), diminuindo na ACM, a partir da 26^a semana de gestação ($p < 0,05$). O IP foi semelhante ao IR em todas as artérias fetais. O TA aumentou apenas na ACM e ASR, entre a 26^a e a 30^a semana gestacional, de 40 ms para 50 ms e na ASR, entre a 22^a e a 30^a semana gestacional, de 50 ms para 60 ms, respectivamente ($p < 0,05$). Concluindo, na segunda metade da gestação, a VSM e a VD aumentam em todas as artérias fetais, mas a VSM diminui na artéria umbilical entre a 22^a e a 38^a semana gestacional. O IR e o IP mantêm-se constantes na aorta, segmentos supra-renal e infra-renal, porém diminuem nas artérias cerebrais média e umbilicais, a partir da 26^a e da 22^a semana gestacional, respectivamente. O TA aumenta na aorta, segmento supra-renal e artéria cerebral média, mantendo-se constante na aorta, segmento infra-renal e artéria umbilical.

ACHADOS CLÍNICO-PATOLÓGICOS EM PACIENTES COM PÓLIPOS ENDOMETRIAIS

Selvio Machado Simon

Orientador: Prof. Dr. Antônio Alberto Nogueira

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/03/2005

O pólipos endometrial (PE) é a lesão benigna mais comum do corpo uterino, está entre as principais causas orgânicas de sangramento uterino anormal (SUA) e pode ocorrer em qualquer época da vida da mulher, sobretudo na pós-menopausa. Sua origem parece estar associada com a manutenção das caracte-

rísticas histológicas da camada basal do endométrio e sua fisiopatologia ainda não está bem esclarecida, assim como seu potencial de malignidade. O objetivo deste estudo foi o de descrever as características clínico-epidemiológicas das pacientes com diagnóstico anatomopatológico de PE e avaliar a sua associação com algumas doenças clínicas relacionadas com câncer de endométrio. Foi realizada uma análise retrospectiva descritiva de pacientes com diagnóstico histológico de PE submetidas à ressecção monopolar histeroscópica da lesão, no período de 1997 a 2002.

Foram incluídas 176 pacientes, sendo 40 no período pré-menopausa (22,7%), todas sintomáticas: 24 com SUA (60%), 10 com dismenorréia (25%) e 13 com infertilidade (32,5%), e 136 na pós-menopausa (77,3%), 50 com SUA (36,8%) e 86 assintomáticas com espessamento endometrial no exame ultra-sonográfico transvaginal (63,2%). As idades medianas das pacientes em anos foram 39 (15 - 52), 57 (42 - 74) e 61 (43 - 77), no período pré-menopausa, na pós-menopausa sintomáticas e assintomáticas, respectivamente ($p < 0,01$). A menopausa tardia ocorreu em 7 mulheres do subgrupo sintomático (14%) e em 19 do subgrupo assintomático (22,1%) ($p = 0,2693$). A prevalência de obesidade, hipertensão arterial e diabetes mellitus nas pacientes com PE não foi maior que a relatada para mulheres na população geral. A

concomitância de pólio endocervical ao PE foi de 9,1%. O diagnóstico anatomopatológico de doença pré-maligna (pólio endometrial com atipias) esteve presente em 2,8% e a de doença maligna em 1,1% das pacientes. Concluindo, todas as mulheres com diagnóstico de PE no período pré-menopausa eram sintomáticas e 62% das mulheres na pós-menopausa eram assintomáticas, sendo este um achado de exame. O PE foi mais freqüente na faixa de idade entre 51 e 65 anos. Nas pacientes no período pré-menopausa, a idade mediana foi de 39 anos e na pós-menopausa de 57 anos. O SUA foi o principal sintoma associado ao PE, diagnosticado em 60% das mulheres no período pré e 36% na pós-menopausa e a prevalência de menopausa tardia foi de 19% sem diferença entre as sintomáticas e assintomáticas.

IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA

EXPRESSÃO GÊNICA DE CITOCINAS EM COBAIAS RESISTENTES A CARRAPATOS *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS*

Alessandra Mara Franzin

Orientadora: Profa. Dra. Beatriz Rossetti Ferreira
Dissertação de Mestrado apresentada em 31/01/2005

Carrapatos são artrópodes hematófagos de distribuição cosmopolita que parasitam vertebrados e transmitem uma grande variedade de agentes infecciosos para o homem e animais domésticos.

Cobaias, diferentemente de cães e camundongos, são capazes de desenvolver resistência a carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* após sucessivas infestações. Ao comparar o tipo de resposta imune desenvolvida por cobaias e cães frente a carrapatos observou-se que cobaias re-infestadas desenvolvem uma pequena reação de hipersensibilidade imediata e uma forte reação de hipersensibilidade tardia à inoculação cutânea com antígenos de carrapatos. Já em cães e camundongos, é notada somente uma forte reação de hipersensibilidade imediata. Também foi verificado que células dos linfonodos de cobaias in-

festadas três vezes com carrapatos (resistentes) proliferam intensamente na presença de saliva de carrapatos, diferentemente do que ocorre com células de cães e camundongos re-infestados (suscetíveis) que não proliferam. Esses achados sugerem o envolvimento de um padrão Th1 de resposta imune na aquisição de resistência, no entanto essa hipótese ainda não foi confirmada.

Assim sendo, no atual trabalho procurou-se verificar a expressão de mRNA de citocinas na pele e linfonodos de cobaias infestadas e re-infestadas com carrapatos. Para tal foram delineados primers e padronizadas reações de PCR para detectar a expressão de mensagem das citocinas IL-12p40, IFN- γ e TNF- α , pertencentes a um padrão Th1, e IL-4, IL-5, IL-10 e TGF- β , pertencentes a um padrão Th2 de resposta imune.

Os resultados obtidos demonstraram que cobaias sucessivamente infestadas apresentaram um aumento significativo na intensidade de mensagem para IL-12p40 nos linfonodos, tanto comparado com ani-

mais uma vez infestados (aumento de 2,6 vezes), quando comparado com os controles (aumento de 13 vezes). Embora a análise estatística não tenha apontado uma diferença significativa houve elevação consistente na intensidade de mRNA para IFN- γ nos linfonodos de cobaias re-infestadas comparadas às infestadas apenas uma vez (aumento de 2,4 vezes). Também foi observado um aumento significativo na intensidade da mensagem para IL-5 nos linfonodos de cobaias infestadas uma vez quando comparadas aos controles (aumento de 5 vezes). Não foi detectada expressão de mensagem para IL-4 e IL-10 nas amostras analisadas. Já a expressão de mensagem para TGF- β foi observada em todos os animais (experimentais ou con-

troles), sugerindo que essa citocina possa ter uma expressão constitutiva em cobaias.

Tomados em conjunto, os resultados sugerem o envolvimento predominante de um perfil de citocinas de padrão Th1 na aquisição de resistência em cobaias a carrapatos. Nossos resultados poderão auxiliar o desenvolvimento de novas abordagens para o controle de carrapatos, como, por exemplo, sugerir adjuvantes mais adequados a serem utilizados em vacinas anti-carrapatos. O conhecimento gerado não se restringe à indução de proteção contra carrapatos como também a possibilidade de aumentar a resistência de hospedeiros a patógenos transmitidos por carrapatos que poderiam ser controlados por uma resposta tipo Th1.

PARTICIPAÇÃO DE CITOCINAS NA IMUNOMODULAÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL INDUZIDA POR *ACTINOBACILLUS ACTINOMYCETEMCOMITANS*

Gustavo Pompermaier Garlet

Orientador: Prof. Dr. João Santana da Silva

Tese de Doutorado apresentada em 01/02/2005

Acredita-se que a resposta imune e inflamatória proteja o hospedeiro contra a infecção periodontal, mas tal resposta resulta na destruição dos tecidos periodontais. Neste estudo, examinamos os mecanismos pelos quais as citocinas TNF- α , IFN- γ , IL-12, IL-4 e IL-10 modulam o curso da doença periodontal (DP) experimental. Camundongos C57BL/6 infectados com *A. actinomycetemcomitans* JP2 desenvolvem uma intensa reação inflamatória e severa reabsorção óssea alveolar, associada a altos níveis de TNF- α e IFN- γ nos tecidos periodontais. Tal padrão de resposta está associado com a intensa expressão de quimiocinas e receptores de quimiocinas do tipo Th1, MMPs, RANKL e a rápida progressão da doença. Após 30 dias de infecção, mediadores de respostas do tipo Th2 (IL-4, IL-10, CCL1, CCR4) também podem ser detectados nos tecidos periodontais, e estão associados a uma intensa expressão de TIMPs e OPG, e a atenuação da progressão da doença. De fato, a ausência de TNFp55 ou IFN- γ resulta na redução da expressão de citocinas inflamatórias, quimiocinas, MMPs e RANKL, estando associada a uma menor migração celular para os tecidos periodontais e a menor reabsorção óssea alveolar. Entretanto, animais TNFp55-

KO e IFN- γ KO apresentam uma maior susceptibilidade a infecção por *A. actinomycetemcomitans*, caracterizada pelo aumento na carga bacteriana nos tecidos periodontais, menores níveis de iNOS e MPO, aumento da resposta de fase aguda e menor ganho de peso durante o curso da infecção. Além disso, a deficiência de IFN- γ resulta em uma infecção disseminada e na morte de 100% dos animais. A doença periodontal nos animais IL-12KO infectados com *A. actinomycetemcomitans* é similar a observada nos animais WT em todos os parâmetros analisados. Ao contrário, nos tecidos periodontais de camundongos geneticamente deficientes de IL-4 ou IL-10 são encontrados maiores níveis de citocinas e quimiocinas do tipo Th1, além de uma menor expressão de TIMPs e OPG, levando ao aumento da severidade da doença. Enquanto IL-10 não parece exercer um papel crítico no controle dos microrganismos, a produção de anticorpos dependente de IL-4 parece contribuir de forma significativa para o controle da infecção. Nossos dados sugerem que TNF- α e IFN- γ levam ao aumento da migração celular e da reabsorção óssea alveolar, enquanto contribuem marcadamente para o controle da infecção por *A. actinomycetemcomitans*. Nossos resultados também sugerem que IL-10 leva a atenuação da severidade da doença, mas não compromete o controle da infecção; enquanto a IL-4 contribui tanto para o controle dos microrganismos como para a menor severidade da DP experimental.

OFTALMOLOGIA

RELAÇÃO ENTRE A ÁREA DA MUSCULATURA OCULAR EXTRÍNSECA E A AMPLITUDE DAS DUÇÕES EM PACIENTES COM ORBITOPATIA DE GRAVES

Tiana Gabriela Burmann

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Velasco e Cruz
Tese de Doutorado apresentada em 07/01/2005

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito nas rotações oculares monoculares do acometimento da musculatura ocular extrínseca na orbitopatia de Graves.

Foram medidas as áreas dos músculos retos medial, lateral e inferior e do complexo superior (reto superior + levantador palpebral) e as amplitudes das duções de 41 controles e 67 pacientes com orbitopatia de Graves. Nos dois grupos, a musculatura ocular extrínseca foi medida a 9mm do rebordo orbitário lateral da órbita em cortes coronais de tomografias computadorizadas. A amplitude máxima da supra, infra, ab e adução foi quantificada em imagens bidimensionais por processamento computadorizado.

Os valores médios das rotações oculares (mm) do grupo controle foram: supra = 5,44; infra = 11,36; ab = 9,3; e adução = 9,8. Nos pacientes, esses valores foram: 4,97; 11,61; 8,96 e 9,53. Apenas a supradução dos pacientes foi significativamente inferior dos controles ($t=2,24$, $p=0,027$).

As dimensões musculares médias (mm^2) do grupo controle foram: reto inferior = 30,3; reto medial = 26,25; reto lateral 21, 74; complexo superior = 26,52. Nos pacientes, esses valores foram 36,71; 29,65; 23, 67 e 29,91. Os músculos reto inferior e reto medial do grupo de pacientes eram significativamente maiores do que os dos controles (respectivamente, $t=2,02$, p

= 0,046; $t=1,99$, $p=0,048$).

No grupo de pacientes com orbitopatia de Graves, houve correlação significativa entre a amplitude da supra e adução ($r=0,67$), supra e abdução ($r=0,58$) e adução e abdução ($r=0,56$). Correlações significativas foram também verificadas entre as dimensões de todos os músculos medidos. Quando se estudou por análise univariada (teste de Qui-quadrados) a associação entre a limitação das duções em relação ao acometimento dos MOE, verificou-se que a limitação de cada uma das diferentes duções estava associada ao acometimento de mais de um músculo. Especificamente, a limitação da supradução e abdução estavam associadas ao aumento de todos os músculos, a da adução só não foi associada ao acometimento do reto medial e a infradução só foi correlacionada ao aumento do reto inferior.

A análise multivariada por regressão múltipla com seleção de variáveis pelo método de *stepwise* mostrou que a limitação da supradução correlacionou-se ao aumento da área do reto inferior e do complexo superior, a abdução ao aumento do reto medial, a adução ao aumento do complexo superior e a infradução não se mostrou correlacionada ao acometimento de nenhum músculo.

Concluiu-se que apesar do acometimento da musculatura ocular extrínseca nos pacientes com orbitopatia de Graves ser difuso, a repercussão na motilidade ocular deve-se principalmente ao aumento do músculo antagonista ao movimento e ocorre mais frequentemente em supra e abdução.

OTORRINOLARINGOLOGIA

AUTOPROTEÇÃO CONTRA A OTOTOXICIDADE DA GENTAMICINA

Eloisa Nogueira Maldonnet

Orientador: Prof. Dr. José Antonio A. de Oliveira
Dissertação de Mestrado apresentada em 02/02/2005

Os antibióticos aminoglicosídeos causam uma importante toxicidade em orelha interna e rim. Entre seus efeitos crônicos na orelha interna está uma per-

da auditiva progressiva, que se inicia nas altas frequências causada pela perda das células ciliadas na base da cóclea, e que, com a continuidade do tratamento, caminha para o ápice, causando perda auditiva nas frequências mais baixas.

Desde sua introdução, há uma preocupação constante em encontrar uma terapêutica protetora contra esses efeitos tóxicos. Neste estudo é apresentada uma nova proposta para esta terapêutica através da autoproteção da gentamicina.

O objetivo desta pesquisa foi estudar a ototoxicidade da gentamicina e sua autoproteção, através do uso de pequenas doses prévias à dose tóxica.

Foram estudadas 38 cobaias adultas com audi-

ção normal, testadas pelo reflexo de *Preyer* e exame de emissões otoacústicas por produto de distorção, e as cócleas analisadas à microscopia eletrônica de varredura. As cobaias foram divididas em 4 grupos baseados na dosagem da gentamicina utilizada: grupo I – controle, grupo II – dose protetora, grupo III – dose tóxica e grupo IV – autoproteção.

Os resultados mostraram que houve uma proteção importante. Quando compararam-se os dados dos grupos III e IV, o número de células ciliadas externas foi significativamente maior no grupo submetido à autoproteção.

Este trabalho concluiu que ocorreu o fenômeno de autoproteção com a gentamicina.

PATOLOGIA

MATRIZES DE COLÁGENO ANIÔNICO: EFICÁCIA E ASPECTOS BIOLÓGICOS NO REPARO DE DEFEITOS ÓSSEOS

Lenaldo Branco Rocha

Orientador: Prof. Dr. Marcos A. Rossi

Tese de Doutorado apresentada em 08/03/2005

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia de três matrizes de colágeno aniônico no reparo de defeitos ósseos de tamanho crítico. As matrizes avaliadas tinham como diferencial entre si a densidade de cargas elétricas. Dois aspectos da resposta biológica às matrizes de colágeno aniônico também foram avaliadas: a possível incorporação de parte das matrizes implantadas na matriz mineralizada do tecido ósseo e a imobilização de fatores de crescimento envolvidos no processo de reparo ósseo. Amostras das três matrizes foram implantadas em defeitos ósseos de 4 mm de diâmetro criados em calotas cranianas de ratos; defeitos vazios foram usados como controles. As calotas foram colhidas 3, 7, 15, 30, e 60 dias e 1 ano para análise radiográfica, histológica, incluindo análise de textura de imagens, e ultra-estrutural. Observamos que duas das matrizes permitem uma rápida recuperação da estrutura óssea, no sexagésimo dia

duas matrizes induziram a total recuperação do defeitos criados. A matriz mais eletronegativa ainda apresentava remanescentes de sua estrutura na periferia do osso neoformado. Porém, 1 ano após a implantação todos os defeitos que receberam qualquer uma das matrizes estavam totalmente recuperados. O sítio de reparo ósseo sofreu rápido remodelamento com uma tendência a apresentar organização semelhante ao tecido original da calota craniana. Observamos que as matrizes de colágeno aniônico são incorporadas ativamente na matriz óssea mineralizada, sem sinais de reabsorção das matrizes antes do processo de mineralização iniciar. Dois fatores de crescimento analisados o IGF-I (*Insulin-like Growth Factor-I*) e as BMPs (*Bone Morphogenetic Protein*) 2 e 4 foram encontrados em contato direto com as matrizes de colágeno aniônico em períodos iniciais da regeneração dos defeitos. Esses resultados indicam que as matrizes de colágeno aniônico são biomateriais osteocondutores eficazes com potencial de aplicação clínica a curto prazo. Defeitos ósseos localizados em estruturas ósseas de baixa demanda mecânica seriam os locais mais beneficiados com o uso dessas matrizes.

PEDIATRIA**AValiação da idade do aparecimento do ritmo circadiano do cortisol salivar em gêmeos****Rodrigo José Custódio**Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Martinelli Jr
Dissertação de Mestrado apresentada em 24/01/2005

A idade de aparecimento do ritmo circadiano do cortisol (IARCC) tem sido analisada através das concentrações de cortisol sérico ou salivar. A IARCC foi estudada em crianças nascidas a termo e pré-termos. Entretanto, poucos estudos têm analisado a influência de fatores genéticos na IARCC. O objetivo deste estudo foi identificar o papel de fatores genéticos e ambientais na determinação da IARCC em um grupo de pares de gêmeos monozigóticos e dizigóticos. Dezesete pares de gêmeos foram recrutados. Depois da análise de DNA, 10 pares foram classificados como monozigóticos e 7 pares eram dizigóticos. Os lactentes foram seguidos durante 24 semanas. As amostras de saliva foram coletadas na 2^a., 4^a., 8^a., 12^a., 16^a., 20^a., e 24^a. semana de vida. Duas amostras foram coletadas sem estresse no mesmo dia, uma pela manhã (8 – 9h) e outra à noite (20 – 21h). Cortisol salivar foi determinado através de RIE. Todas as amostras do mesmo par foram dosadas no mesmo ensaio. O ritmo foi definido quando o cortisol noturno foi menor que 76% do valor matinal. Este percentual foi obtido pela subtração de 3 vezes o coeficiente de variação intra-ensaio (8%) (IARCC%). Em outra análise, o cortisol noturno foi considerado como critério. Neste, o ritmo foi definido quando o cortisol salivar noturno foi menor que a média do menor cortisol noturno adicionado de 3 desvios-padrão (345ng/dl) e menor que 76% do valor matinal (IARCCN). O comportamento do sono foi transformado em um coeficiente composto pela razão entre o sono noturno total e o

sono diurno total adicionado de 1. O ritmo foi definido quando o coeficiente foi maior que 1 (IARS). As características dos grupos, tais como idade gestacional, peso, escore de Apgar e tempo de hospitalização, foram comparadas. Houve diferença significativa entre as idades gestacionais ($p=0,014$), com o grupo dizigótico apresentando idade menor. A média da IARCC% do grupo monozigótico foi $7,8 (\pm 4,3)$ semanas enquanto que no dizigótico foi $7,7 (\pm 5,2)$ semanas não sendo constatada diferença significativa. As médias da IARCCN nos grupos monozigóticos e dizigóticos foram, respectivamente, $10,8 (\pm 5,9)$ semanas e $14,4 (\pm 5,9)$. Não houve diferença entre os grupos. Cinco pares monozigóticos e 2 pares dizigóticos apresentaram coincidência na IARCC% entre os dois lactentes. Dentre os pares não coincidentes, a diferença da IARCC% entre os 2 recém-nascidos foi semelhante em ambos grupos monozigótico ($4,8 \pm 3,0$ semanas) e dizigótico ($4,8 \pm 2,2$). Ademais, não foi observada diferença significativa na mesma análise quando a IARCCN foi considerada, onde a média foi $4,3 (\pm 1,9)$ semanas e $7,6 (\pm 5,3)$ para os grupos monozigótico e dizigótico, respectivamente. Não houve diferença significativa entre os grupos quando as IARS foram analisadas, onde o grupo monozigótico apresentou média de $6,9 (\pm 4,6)$ semanas e a média no grupo dizigótico foi $8,7 (\pm 4,2)$. No grupo monozigótico a média da diferença entre as IARS no mesmo par foi $6,5 (\pm 5,2)$ semanas e no grupo dizigótico foi $11 (\pm 4,2)$, não havendo diferença significativa entre elas. Não houve correlação entre IARCC%, IARCCN e IARS. Os resultados sugerem que fatores ambientais desempenham o papel mais importante na determinação do aparecimento do ritmo circadiano do cortisol em humanos.

SAÚDE NA COMUNIDADE

QUALIDADE DE VIDA RELACIONADA À SAÚDE EM PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA

Cristina Costa Almeida

Orientador: Prof. Dr. Jair Lício Ferreira Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/03/2005

A forma com que o paciente vivencia a doença, sua auto-percepção de bem estar ou mal-estar parecem contribuir na evolução biológica da enfermidade, podendo constituir-se em co-fator terapêutico. Assim, a avaliação da qualidade de vida tem sido acrescentada nos estudos clínicos junto à eficácia e à segurança do tratamento. Nas últimas décadas, a avaliação de qualidade tem sido realizada em pacientes com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), para complementar a avaliação destes doentes, e vários estudos mostraram considerável comprometimento da qualidade de vida nesta população. O objetivo geral da presente pesquisa foi mensurar a qualidade de vida de pacientes com DPOC. O estudo foi realizado com 50 pacientes de ambos os sexos, do ambulatório da Divisão de Pneumologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo e por 16 indivíduos que constituíram o grupo comparado, com sexo e idade comparáveis aos do grupo observado, cadastrados no Núcleo da Saúde da Família - Núcleo III – da Área Básica do Centro de Saúde Escola, da referida faculdade. As medidas de qualidade de vida foram obtidas através de dois questionários: *Saint George's Respiratory Questionnaire (SGRQ)*, específico para DPOC e o questionário genérico *World Health*

Organization Quality of Life, versão abreviada (*WHOQOL-bref*). Foi aplicado também o Teste de Caminhada dos 6 minutos (TC 6), para avaliar a capacidade física. Os dados sócio-demográficos foram coletados em ambos os grupos e os dados clínicos foram retirados dos prontuários dos pacientes. O Índice de Dispneia de *Mahler* (IDM) foi aplicado somente no grupo observado. Os resultados indicam que quanto à caracterização sócio-demográfica a maioria da amostra é composta por idosos. A variável renda familiar é um coadjuvante do impacto que a DPOC pode causar. Pacientes com grau moderado e grave da doença apresentaram importante comprometimento nos *scores* de qualidade de vida, principalmente nos aspectos físicos e de atividades de vida diária. A distância percorrida no TC 6 e a escala *SGRQ* apresentaram correlações significantes com o domínio atividade. Há correlação significativa do *IDM* no domínio físico da escala *WHOQOL-bref*, como nos domínios atividades e impactos da escala *SGRQ*, tornando possível substituir o *IDM* por *SGRQ*. No domínio físico da escala *WHOQOL-bref* observa-se a correlação significativa com a escala *SGRQ* em seus domínios sintomas, atividades e impactos. Através de regressão linear entre a escala *SGRQ* e a *WHOQOL-bref* pode-se indicar valores limites até os quais têm qualidade de vida comparáveis com às médias dos indivíduos sem DPOC. Os resultados indicam a relevância de avaliar a qualidade de vida nesses pacientes com o intuito de auxiliar no tratamento dos mesmos.

SAÚDE MENTAL

INCLUSÃO/EXCLUSÃO SOCIAL E ESCOLAR DE CRIANÇAS COM PARALISIA CEREBRAL, SOB A ÓPTICA DOS PROFISSIONAIS DE SAÚDE

Ticiano Melo de Sá Roriz

Orientadora: Profa.Dra.Maria C. Rossetti-Ferreira

Dissertação de Mestrado apresentada em 02/03/2005

A discussão sobre “inclusão social” ganha crescente relevância na nossa sociedade. Ela trata do respeito às diferenças, dos direitos e da participação

igualitária dos cidadãos. A diversidade de pessoas que evoca essa premissa é imensa, decorrente de aspectos étnicos, sócio-econômicos, sexuais e ligados às necessidades especiais. No caso de crianças com necessidades especiais, particularmente daquelas com deficiências, a inclusão abarca sua participação na sociedade em geral e, especificamente, em instituições de educação regular (“inclusão escolar”). Porém, a despeito da criação de leis e regulamentações, os preconceitos, além da não observância de aspectos como capacitação de educadores e acessibilidade física, dificultam a concretização da inclusão. Considerando a relevância e complexidade do problema e, ainda, que esse processo é freqüentemente mediado por profissionais de saúde, traçou-se como meta estudar a inclusão de crianças com Paralisia Cerebral, com foco nesses profissionais. Indagou-se como eles concebem a e participam da inclusão dessas crianças. Foram investigados os vários profissionais que atendiam duas crianças de três anos, em seguimento em serviços de saúde da região de Ribeirão Preto - SP. O *corpus* para análise foi obtido por entrevistas semi-estruturadas (neurologista infantil, pediatra, médico de saúde da família, enfermeira, fisioterapeuta, fonoaudióloga, terapeuta ocupacional, psicóloga e assistente social), por visita domiciliar às crianças e famílias e por notas de campo. A coleta e análise foram feitas com base na *Rede de Significações*. As crianças pivôs - Davi e Letícia¹ - têm comprometimentos decorrentes da Paralisia Cerebral. Porém, cada criança apresenta características distintas. Em Letícia os comprometimentos motores são mais evidentes no lado esquerdo, ela não tem comunicação verbal e usualmente rejeita con-

tato interpessoal. Em Davi a limitação motora é mais evidenciada nos membros inferiores, além disso, ele comunica-se verbalmente e busca o outro. Cada família se organiza e participa no tratamento de maneira bem diversa. A família de Davi é bastante participativa e a de Letícia demonstra-se confusa, quanto ao quadro e tratamento da criança. Os profissionais que atendem às crianças atuam em contextos diversos (serviços públicos primário/secundário/terciário, além de serviços filantrópicos e universitários particulares). Constatou-se que cada contexto proporciona distintas oportunidades *aos* e práticas discursivas *dos* profissionais e das pessoas que neles são atendidas, estes aspectos influenciando a forma de atuação com relação à inclusão daquelas crianças. Predominantemente, o olhar destes profissionais é dirigido de maneira descontextualizada à criança individualmente. Porém, tanto as características das crianças, como a organização dos contextos familiares, revelaram-se importantes circunscritores das concepções, expectativas, relações e atuações dos profissionais. A articulação de todos aqueles elementos contribui para circunscrever, para os profissionais, o papel de competente/ impotente frente ao caso, participativo/não-participativo dos processos de inclusão. Ainda, explícita muitas vezes a sobreposição de exclusões, tendo os profissionais dificuldade em lidar com estas situações. Constatamos que o processo de inclusão social e escolar de crianças com Paralisia Cerebral não é algo naturalizado, e sim, a acontecer. E, finalmente, que o processo de inclusão se faz na dialética da inclusão/exclusão das crianças e suas famílias, abarcando situações que nem sempre se dão de maneira digna e decente.

¹Nomes fictícios.

RESUMOS DE DISSERTAÇÕES DE MESTRADO E TESES DE DOUTORADO APRESENTADAS NA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP DE JANEIRO A DEZEMBRO DE 2004

OFTALMOLOGIA

OTOTOXICIDADE PELA CISPLATINA: AUTODEFESA DAS CÉLULAS CILIADAS EXTERNAS E OTOPROTEÇÃO PELO EXTRATO DE *GINKGO BILOBA* (EGB 761) E SALICILATO DE SÓDIO

Miguel Angelo Hyppolito

Orientador: Prof. Dr. José Antonio A. de Oliveira
Tese de Doutorado apresentada em 05/03/2004

A Cisplatina é uma potente droga antineoplásica, largamente utilizada para o tratamento do câncer, tanto em adultos quanto em crianças. Dentre seus

efeitos colaterais, a ototoxicidade se apresenta como um dos mais importantes e leva à perda auditiva irreversível, bilateral, para as altas frequências (4KHz - 8KHz). Estudos têm tentado identificar drogas que, associadas à cisplatina, possam atuar como otoprotetores. Sabe-se que o mecanismo da ototoxicidade pela cisplatina está relacionado a alterações nos mecanismos antioxidantes das células ciliadas, principalmente as células ciliadas externas da cóclea. Nossa proposta foi avaliar através de emissões otoacústicas, por produtos de distorção (EOAPD) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV), a ação do extrato de ginkgo biloba (EGB 761) e do salicilato de sódio, que tem conhecida ação antioxidante, como possível otoprotetor, bem como verificar se existe o fenômeno de autodefesa das células ciliadas externas à cisplatina.

O estudo foi realizado em cobaias albinas, que foram divididas em seis grupos: Grupo 1: 6 animais - 12 cócleas - cisplatina 0,75 mg/Kg/dia (via intraperitoneal) por trinta dias; Grupo 2: 10 animais - 20 cócleas - cisplatina 1,5 mg/Kg/dia (via intraperitoneal) de oito,

doze e dezoito dias; Grupo 3: 9 animais - 18 cócleas - cisplatina 8,0 mg/Kg/dia (via intraperitoneal) por três dias; Grupo 4: 7 animais - 14 cócleas - cisplatina 0,75 mg/Kg/dia (via intraperitoneal) por trinta dias e após, cisplatina 8,0 mg/Kg/dia por três dias; Grupo 5: 10 animais - vinte cócleas - Salicilato de sódio 100 mg/Kg via subcutânea e 90 minutos após, cisplatina 8,0 mg/Kg/dia (via intraperitoneal) por três dias e Grupo 6: 16 animais - 31 cócleas - Ginkgo biloba 100 mg/Kg via oral e 90 minutos após, cisplatina 8,0 mg/Kg/dia (via intraperitoneal) por três dias.

Encontramos EOAPD presentes nos grupos 1, 2, 4 e 6 e células ciliadas externas presentes à MEV, nos grupos 1, 2, 4, 5 e 6. No grupo 3 encontramos ausência de EOAPD e lesão importante de células ciliadas externas à MEV.

Concluimos que o fenômeno da autodefesa das células ciliadas externas ocorre no tratamento com a cisplatina e que drogas como EGB e o salicilato de sódio, por sua ação antioxidante, atuam como otoprotetores à ototoxicidade pela cisplatina.

TIPIFICAÇÃO DE ANTÍGENOS E ALELOS LEUCOCITÁRIOS DE HISTOCOMPATIBILIDADE EM PACIENTES COM AIDS E CORIORRETINITE POR TOXOPLASMOSE, NEUROTOXOPLASMOSE E SOROLOGIA POSITIVA PARA TOXOPLASMA GONDII

Ana Lucia Gardim Demarco

Orientador: Profa.Dra. Maria de Lourdes V. Rodrigues
Tese de Doutorado apresentada em 13/04/2004

Introdução: A resistência às doenças infecciosas em indivíduos em contato com agentes patogênicos é variável. Essas diferenças individuais podem estar geneticamente correlacionadas com a presença de subtipos específicos do Complexo Principal de Histocompatibilidade. **Hipóteses:** Poderia haver algum antígeno leucocitário de histocompatibilidade que atuaria na proteção ou susceptibilidade dos indivíduos em desenvolver a forma ocular ou neurológica da toxoplasmose quando entram em contato com o *Toxoplasma gondii*. **Objetivos:** Definir os antígenos e alelos HLA de classe I e II em pacientes com AIDS e coriorretinite por toxoplasmose, neurotoxoplasmose e sorologia positiva para toxoplasmose e sua eventual correlação com susceptibilidade ou proteção à doença e investigar se os haplotipos HLA associados à progressão rápida da AIDS também estão associados à presença de coriorretinite por toxoplasmose. **Método:** O estudo contou com 109 pacientes com AIDS

subdivididos em três : grupos: Grupo I com 25 pacientes com coriorretinite por toxoplasmose, Grupo II com 41, pacientes com neurotoxoplasmose, e Grupo III com 43 pacientes com sorologia positiva para toxoplasmose. Os antígenos de classe I foram tipificados por sorologia clássica e os alelos de classe II foram identificados através de iniciadores de oligonucleotídeos seqüência-específicos, hibridizados com DNA amplificado. Para a análise estatística foi realizado o cálculo de valores de probabilidade, que foram corrigidos multiplicando-se pelo número de especificidades HLA testadas e , pelo número de comparações realizadas. **Resultados:** Os haplotipos mais frequentes nos pacientes com coriorretinite foram: HLA A35 ($p < 0,001$) e HLA-DR52 ($p < 0,003$). Não foi encontrada correlação entre os antígenos e alelos associados com a progressão rápida da AIDS e as doenças estudadas e, o alelo de classe II HLA DQ1 ($p < 0,00015$) está associado a uma maior resistência para desenvolver neurotoxoplasmose **Conclusões:** Estes resultados sugerem associação entre moléculas HLA e susceptibilidade para coriorretinite por toxoplasmose e proteção para neurotoxoplasmose..

EFEITO DA PRIVAÇÃO ABRUPTA DE LUZ NO POSICIONAMENTO DA PÁLPEBRA SUPERIOR EM INDIVÍDUOS NORMAIS E PACIENTES COM ORBITOPATIA DE GRAVES

Lígia Cristina Viana Neves

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Velasco e Cruz
Tese de Doutorado apresentada em 29/04/2004

O presente trabalho teve como objetivo descrever e quantificar a posição da pálpebra superior após a escuridão abrupta em indivíduos normais e com retração palpebral por orbitopatia de Graves, bem como analisar o efeito do tratamento com colírio de guanetidina na alteração posicional da pálpebra superior, provocada pela ausência de luz. Amostra consistiu de 211 sujeitos normais (21 olhos) e 45 pacientes (78 olhos) com orbitopatia de Graves. Os sujeitos normais foram divididos em 4 grupos de acordo com a faixa etária: C1 0 a 1 ano, C2: 1 a 9 anos, C3: 10 a 18 anos e C4: 19 a 63. Vinte e um pacientes com orbitopatia de Graves

foram tratados com colírio de guanetidina a 5% por duas semanas. Foram captadas imagens das pálpebras de todos os indivíduos em ambiente claro e após escurecimento total. A distância entre o centro pupilar e a margem palpebral superior foi medida nas imagens no claro e no escuro. A margem palpebral elevou-se no escuro em todos os grupos. A elevação palpebral provocada pela ausência de luz maior no grupo de crianças até 9 anos. Não houve diferença significativa entre os incrementos na altura da margem do grupo de pacientes com retração palpebral e do grupo de adultos normais. O uso de guanetidina tópica não aboliu o reflexo palpebral ao escuro. O reflexo ao escuro diminuiu com a idade e não se deve à estimulação simpática do músculo tarsal superior (m. de Müller).

TRANSPLANTE AUTÓLOGO DE CONJUNTIVA COM E SEM TECIDO LÍMBICO NO TRATAMENTO DO PTERÍGIO PRIMÁRIO

Ruy Novais Cunha

Orientador: Prof. Dr. Sidney Júlio de Faria e Sousa
Tese de Doutorado apresentada em 06/06/2004

Objetivos: Avaliar prospectivamente as recidivas de pterígios tratados cirurgicamente, comparando a técnica de transplante autólogo de conjuntiva isolada com a técnica do transplante autólogo de conjuntiva associada com o tecido do limbo. Método: analítico, prospectivo, experimental. Participantes: Cento e noventa e oito olhos de cento e noventa e oito pacientes, com diagnóstico clínico de pterígio nasal primário, divididos em dois grupos: Grupo I - composto de cento e três pacientes submetidos à técnica de transplante autólogo de conjuntivas com limbo; e Grupo II - composto de noventa e cinco pacientes submetidos à técnica de transplante autólogo de conjuntiva sem limbo. Todas as cirurgias foram realizadas pelo mesmo cirurgião. O critério de recorrência foi definido como a invasão da córnea por tecido fibrovascular pelo menos 1,5mm ou mais além do limbo. Resultados: As recidivas foram avaliadas em um intervalo de 18 meses. A composição dos dois grupos era semelhante quanto a idade, sexo e tamanho do pterígio. No Grupo I, submetido à técnica do transplante com limbo, o resultado

foi satisfatório em noventa e oito procedimentos (95,1%), enquanto no Grupo II, submetido à técnica do transplante de conjuntiva sem limbo, o resultado sem recidiva aconteceu em noventa pacientes (94,7%). Totalizaram-se, portanto, dez recidivas, cinco em cada grupo. Não se observou diferença significativa do ponto de vista estatístico entre as duas técnicas, considerando as taxas de recidiva do pterígio ($p=0,99$). As recidivas também apresentaram distribuição bastante semelhante em ambos os grupos, no que diz respeito à idade, sexo e tempo de aparecimento, sem diferença estatisticamente significativa. Conclusão: Devido aos resultados apresentados, sugere-se que o transporte das células límbicas para o sítio da retirada do pterígio não tenha qualquer efeito prático sobre as recidivas. Esta conclusão enfraquece a hipótese de que os pterígios tenham sua etiopatogenia centrada nas deficiências das células tronco do limbo. É provável que o enxerto autólogo de conjuntiva funcione como uma barreira mecânica à recidiva. Entretanto, pelo fato de alguns pterígios recidivarem por baixo e pelo lado do enxerto, também é possível que o tecido transplantado carregue algum fator inibitório de proliferação celular e de angiogênese que reconstitua o equilíbrio histoquímico da região afetada.

PREVALÊNCIA DO TRACOMA EM COMUNIDADE DA CHAPADA DO ARARIPE – PERNAMBUCO

Abrahão da Rocha Lucena

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Velasco e Cruz
Dissertação de Mestrado apresentada em 07/06/2004

Objetivos: Fazer um estudo de prevalência do tracoma em um Povoado na Chapada do Araripe, município de Ipubi, sertão de Pernambuco. Métodos: Em outubro e novembro de 2002 foi realizado um estudo transversal observacional, onde examinaram-se 1239 indivíduos dos quais 200 foram submetidos a coleta de material de conjuntiva para realização de exame citológico pela técnica de imunofluorescência direta para *Chlamydia trachomatis*. A idade dos indivíduos variou de um a 93 anos (média de 25,3 anos). O exame foi realizado com lupa binocular de 2,5 vezes de magnificação e obedeceu-se a classificação clínica de tracoma preconizada pela OMS. Resultados: O

tracoma foi diagnosticado clinicamente em 250 (20,5%) indivíduos, com predileção pelo sexo masculino. O pico de TF aconteceu entre os dois e quatro anos. Observaram-se as seguintes graduações do tracoma: 107 (8,6%) casos de TF, dois (0,2%) de TI, 139 (11,2%) de TS, um (0,1%) de TT e nenhum caso de CO. Dos 109 casos de tracoma na forma infecciosa (TF e TI), 17 tiveram material conjuntival colhido para realização do exame citológico e destes, sete foram positivos, mostrando sensibilidade do exame de 41%. Conclusões: O tracoma na comunidade de Serrolândia, Ipubi-PE, apresenta baixa endemicidade, apesar de localizar-se na região do Araripe, conhecida como bolsão de tracoma. Não é, portanto, um grave problema de saúde pública nessa localidade. No presente estudo, o diagnóstico clínico mostrou-se o melhor método de determinar a prevalência do tracoma.

COMPARAÇÃO DOS EFEITOS DA INJEÇÃO INTRA-VÍTREA DE DISPASE, HIALURONIDADE E PERFLUOROPROPANO (C3F8) SOBRE A INTERFACE VÍTREO-RETINIANA DE COELHOS

Emerson Kenji Oyamaguchi

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Miguel Laicine
Tese de Doutorado apresentada em 08/06/2004

O presente trabalho investigou a eficácia da injeção intravítrea dos agentes vitreolíticos dispase, hialuronidase e perfluoropropano (C3F8), na indução do descolamento posterior do vítreo em olhos de coelho. Foram utilizados dezoito coelhos albinos da espécie *Oryctolagus cuniculus* divididos em 4 grupos. Os 4 animais do grupo I receberam injeção intravítrea de 0,05 UI de dispase, os do grupo III receberam a dose de 75 UI de hialuronidase e os 4 animais do grupo IV receberam 0,4ml de perfluoropropano (C3F8). Em todos os coelhos, o olho contra-lateral, utilizado como controle, foi injetado com solução salina tamponada com fosfato. Os animais do Grupo I foram sacrificados 120 minutos após a injeção intravítrea, e os do grupo II, 15 minutos após. Os coelhos do Grupo III e IV foram sacrificados 2 meses após a injeção intravítrea. Entre a injeção com os agentes vitreolíticos e o sacrifício, todos os animais tiveram seus olhos examinados através de oftalmoscopia indireta. Após

enucleação, os olhos foram examinados a olho nu e quanto ao grau de adesividade vítreo/retina e, a seguir, processados para microscopia eletrônica de varredura. Em nenhum caso, nos quatro grupos de animais, ficou evidenciado um descolamento total do vítreo posterior. Em todos os animais observou-se apenas descolamento parcial do vítreo, que foi produzido de forma mais eficiente nos animais injetados com C3F8. Nos grupos que receberam dispase foram verificadas hemorragias pré e intra-retinianas em 100% dos animais injetados com a maior dose e em 50% daqueles que receberam a menor dose. Estes olhos quando examinados por meio de microscopia eletrônica de varredura exibiram ruptura da parede de vasos sanguíneos presentes na superfície da retina. Além disso, foram observadas turvação vítrea e catarata, ambas transitórias, nos animais injetados com hialuronidase e C3F8, respectivamente. Foi possível concluir que: 1. O modelo utilizado para este estudo, o olho de coelho, mostrou-se adequado para as abordagens experimentais empregadas embora haja possibilidade de que as diferenças anatômicas existentes em relação ao olho humano possam representar al-

gum obstáculo à generalização das conclusões aqui alcançadas; 2. A injeção intravítrea de dispase nas dosagens de 2,5 e 0,05 UI foi capaz de provocar apenas descolamento parcial de vítreo o qual poderá eventualmente ser útil como procedimento auxiliar em intervenções cirúrgicas do vítreo; 3. A injeção de dispase nas dosagens usadas provoca hemorragia retiniana por ruptura da parede dos vasos sanguíneos decorrente, ao que tudo indica, da degradação pela enzima de componentes estruturais de suas paredes, como o colágeno tipo IV e a fibronectina. Este achado indica a necessidade de um maior número de estudos antes que a dispase possa ter uso rotineiro na prática clínica; 4. a injeção intravítrea de 75 UI de hialuronidase, como no

caso da dispase, produziu descolamento do vítreo apenas em pequenas áreas circunscritas da junção vitreo-retiniana. Além disso, causou turvação vítrea transitória, já descrita em olhos humanos, provocada possivelmente pelo preservativo timerosal presente nas preparações da enzima; 5. A injeção intravítrea de 0,4ml de C3F8 mesmo não produzindo descolamento total do vítreo foi o agente vitreolítico mais eficaz nesta direção, isto é, induziu descolamento parcial em trechos mais extensos da junção vitreo-retiniana. Portanto, dos três agentes vitreolíticos estudados, o C3F8, comparativamente, foi aquele que se apresentou mais seguro visando uma eventual utilização na prática clínica com a finalidade de produzir descolamento do vítreo.

ESTUDO DA OCORRÊNCIA E EVOLUÇÃO DA RETINOPATIA DA PREMATURIDADE E FATORES ASSOCIADOS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP

Dorothy Ribeiro Resende Lima

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/07/2004

Foram analisados retrospectivamente os prontuários de 295 recém-nascidos com peso ao nascer inferior a 1500gr. Estas crianças foram atendidas no Serviço de Retinopatia da Prematuridade do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, no período de maio de 1998 a março de 2003. Eles foram avaliados quanto à presença de Retinopatia da Prematuridade inicialmente entre a quarta e a nona semanas de vida. Exames subseqüentes foram realizados num intervalo de uma a três semanas até que a vascularização da retina se completasse ou a retinopatia se estabelecesse; nesses casos, era realizado seguimento conforme estadiamento da doença, e, se necessário, tratamento com laser criocoagulação. Com um ano de idade as crianças eram reavaliadas e, se não houvesse nenhuma alteração eram encaminhadas para realização de refração. Foi observado uma ocorrência

de 44,1% de Retinopatia da Prematuridade no grupo estudado, com intervalo de confiança de 38 a 49. Dos recém-nascidos que apresentavam Retinopatia da Prematuridade, 21,4% apresentaram-se no estágio I, 8,81% no estágio II, 11,5% no estágio III, 1,02% no estágio IV e 1,30% no estágio V. Identificou-se peso ao nascer e idade gestacional como fatores de risco mais importantes para a ocorrência da Retinopatia. Foram identificados como possíveis fatores associados dias de uso de oxigênio, dias de ventilação mecânica, índice de Apgar no primeiro minuto, múltiplas transfusões de sangue, dias de fototerapia e hemorragia intracraniana. Não foi encontrada uma relação de significância estatística com os seguintes fatores: presença de múltiplas gestações, pneumotórax, persistência do canal arterial, broncodisplasia, e uso de surfactante, aminofilina, corticóide, diurético e de indometacina. O peso ao nascer e a idade gestacional refletem a prematuridade do recém-nascido e, conseqüentemente, a da retina. Após um ano de idade a alteração oftalmológica encontrada com mais freqüência foi miopia.

ANÁLISE TOMOGRÁFICA QUANTITATIVA DA MUSCULATURA EXTRA-OCULAR NA ORBITOPATIA DE GRAVES

Carlos Alexandre Costa Monteiro

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Velasco e Cruz

Tese de Doutorado apresentada em 12/08/2004

Este trabalho teve como objetivo quantificar a área da musculatura extra-ocular (MEO) e orbitária, de pacientes com orbitopatia de Graves, utilizando

cortes coronais de tomografias computadorizadas de órbitas. Estudaram-se três subtipos de orbitopatia de Graves: pacientes sem evidência clínica de acometimento miopático (grupo II), com acometimento miopático (estrabismo e/ou diplopia) (grupo III) e pacientes com neuropatia óptica (grupo IV). Órbitas não patológicas foram avaliadas para constituição do grupo controle (grupo I). As áreas dos músculos reto medial+reto inferior, reto lateral e o do complexo superior (reto superior + elevador da pálpebra superior) foram quantificadas em 5 cortes coronais, com espessura de 3mm a partir do rebordo orbitário lateral, no sentido antero-posterior (P3, P6, P9, P12 e P15). Nessas mesmas posições, a área orbitária foi determinada. Foram realizadas 1335 medidas das áreas da MEO e 445 das orbitárias, sendo elas: 20 órbitas de pacientes do grupo II, 20 do grupo III, 19 do grupo IV e 30 órbitas de pacientes do grupo I. A área orbitária diminuiu linearmente ($r = 0,99$) da base em direção ao ápice segunda à função: $\text{área} = a - 44,96 \text{ posição}$. As áreas musculares foram analisadas por meio de uma análise de variância multifatorial (grupo, músculo e

posição orbitária) para medidas repetidas. Os resultados mostraram que houve diferenças significativas entre os três fatores estudados: grupo ($F=891,95$, $p<0,0001$); músculo ($F=1503,30$, $p<0,0001$); posição ($F=8,78$, $p<0,0001$). Além disso, houve uma interação significativa entre os três fatores ($F=1,59$, $p<0,0356$). O teste de Tukey revelou que não houve diferenças significativas entre as áreas da MEO de pacientes dos grupos I e II, o mesmo ocorrendo entre os grupos III e IV, sendo que nesses últimos, a MEO foi significativamente maior do que a dos grupos I e II. O estudo da interação entre os fatores mostrou que no grupo IV a área da MEO não diminuiu em direção ao ápice orbitário (posições 12 e 15), conforme observado nos demais grupos estudados. Os músculos que mais contribuíram para este crescimento da massa tecidual apical foram o reto lateral, reto medial e reto inferior.

A relação entre a taxa de ocupação muscular em função da posição orbitária foi linear nos 4 grupos estudados, porém a inclinação foi significativamente maior no grupo de pacientes com neuropatia óptica atingindo valores superiores a 55%.

ANÁLISE TOMOGRÁFICA QUANTITATIVA DA MUSCULATURA EXTRA-OCULAR NA ORBITOPATIA DE GRAVES

Luciano Ambrósio Alves

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

Dissertação de Mestrado apresentada em 15/09/2004

Estudou-se a prevalência da retinopatia diabética (RD) e fatores associados em uma amostra de diabéticos representativa da população urbana, adulta da cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. Foram avaliados cento e trinta e dois pacientes selecionados por estudo de prevalência de diabetes da população de Ribeirão Preto. A prevalência de RD foi de 12.1%.

Em relação ao seguimento, 89.4% referiam fazer seguimento clínico de rotina e 31.8% referiam fazer seguimento oftalmológico de rotina. A prevalência de cegueira legal devido à RD foi de 5.3% sendo estatisticamente maior do que nos pacientes diabéticos sem retinopatia. A prevalência de RD foi maior nos pacientes com diabetes melito (DM) diagnosticada a mais de 10 anos ($p<0.01$). Os casos de retinopatia foram mais frequentes entre os pacientes que faziam tratamento com insulina ($p<0.01$). Não foi evidenciada relação entre RD e tabagismo ou HAS.

VALIDAÇÃO DA ESCALA DE BRUSINI PARA CLASSIFICAÇÃO DOS RESULTADOS DA PERIMETRIA DE DUPLA FREQUÊNCIA EM PACIENTES GLAUCOMATOSOS

Marcelo Brillinger Novello

Orientador: Prof. Dr. Argemiro Lauretti Filho

Tese de Doutorado apresentada em 22/11/2004

O fenômeno de dupla frequência tem sido utilizado como estímulo de células ganglionares e como método de detecção de alterações na via óptica.

Sabe-se que os axônicos retinianos que enviam suas fibras para o corpo geniculado lateral são divididos em células de grande e pequeno diâmetro (magnocelulares e parvocelulares, respectivamente).

A perimetria acromática e a de ondas curtas estimulam respostas das células de menor diâmetro, enquanto a perimetria de dupla frequência utiliza preferencialmente a via magnocelular, especialmente o seu subsítio My (de resposta não-linear).

Advoga-se que o subsítio My, que responde por 3% a 5% de todas as células ganglionares da retina, seria lesado precocemente em pacientes com glaucoma, daí a importância em se determinar a validade da perimetria de dupla frequência no diagnóstico e classificação das alterações visuais funcionais.

A perimetria de dupla frequência, utilizada principalmente como método de triagem, tem-se mostrado útil na detecção de alterações glaucomatosas e com boa sensibilidade e especificidade quando comparada com a perimetria acromática e mesmo com a de ondas curtas, segundo diversos estudos realizados. Ademais, tem a importante característica de ser um exame rápido e de fácil aplicação, não necessitando de correções ópticas até sete graus de diopia. Entretanto, não há um consenso sobre a classificação dos estágios do dano glaucomatoso, e os poucos autores que demonstraram

seus resultados divergem muito da metodologia.

O objetivo deste estudo é validar uma escala de classificação de estágios da doença, proposta por Brusini, até então não utilizada, de fácil aplicabilidade e compreensão.

Foram estudados 222 indivíduos, divididos em grupo controle (n = 83), grupo de suspeitos (n = 56) e grupo de pacientes glaucomatosos (n = 83), que se submeteram à perimetria acromática e de dupla frequência. Os resultados obtidos no grupo de glaucomatosos foram classificados, para a perimetria acromática, de acordo com os critérios de Johnson e Samuels, enquanto os da perimetria de dupla frequência foram divididos de acordo com os critérios da FDT *Stating System*®.

Obtivemos uma sensibilidade de 95% e uma especificidade de 78,9% com 16% de falsos positivos e 5,6% de falsos negativos. A concordância entre os dois métodos foi avaliada pelo Cohen Kappa, tendo sido encontrado $\kappa=62$ (pvalor<0,01), o que corresponde a uma concordância muito boa entre os testes.

Desta forma, conclui-se que a escala de classificação da perimetria de dupla frequência proposta por Brusini é um método muito bom para se classificar os estágios evolutivos do glaucoma na tecnologia de dupla frequência.

EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS P63, METALOPROTEÍNASE 19 E DO FATOR DE CRESCIMENTO VASCULAR ENDOTELIAL NOS PTERÍGIOS PRIMÁRIOS E RECORRENTES

Claudia Cardoso Maestri Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Erasmo Romão

Tese de Doutorado apresentada em 14/12/2004

Estuda a expressão das proteínas p63, metaloproteínase 19 e o fator de crescimento vascular endotelial nas amostras de pterígios primários e recidivados em uma população exposta à ação de raios ultravioleta. No estudo realizado na cidade de Vitória, situada no Estado do Espírito Santo, foram submetidos à intervenção cirúrgica 81 pacientes com idade mínima de 22 e máxima de 74 anos. As amostras dos pterígios e conjuntivas normais foram colocadas durante o ato cirúrgico num frasco contendo formol tamponado. As amostras foram enviadas imediatamente para o laboratório de patologia da USP de Ribeirão Preto, onde foram devidamente preparadas em blocos de parafina. Esses blocos foram cortados com a espessura de

4µm cada um. Carcinoma de células escamosas da cérvix foi usado como controle positivo para p63, MMP 19 e VEGF. Os controles negativos foram preparados pela omissão dos anticorpos primários. Quanto à intensidade de marcação para o p63 nos epitélios conjuntivais, os dados foram classificados como: apenas na camada basal; camada basal e intermediária; camada basal, intermediária e superficial do epitélio. O grau de expressão para a MMP19 e VEGF variou em uma escala semiquantitativa. O estudo mostrou que existe uma associação significativa entre as amostras e os resultados dos fatores estudados. Significante expressão foi encontrada em todas as amostras. Níveis de p63, MMP19 e VEGF positivo foram fortemente diferentes estatisticamente, entre as amostras de pterígios primários, recorrentes e conjuntivas normais, tornando com isso o estudo válido em relação à obscuridade presente nessa patologia.

OTORRINOLARINGOLOGIA

HISTOLOGIA DA CAMADA SUPERFICIAL DA LÂMINA PRÓPRIA DA PREGA VOCAL AO SE APLICAR RETALHO PEDICULADO DE MUCOSA: ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL

David Greco Varela

Orientador: Prof. Dr. Marcos Grellet

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/04/2004

Muitas técnicas cirúrgicas foram desenvolvidas para a correção de sulcos vocais e lesões cicatriciais em pregas vocais. Contudo, os resultados conseguidos até hoje não foram universalmente aceitos. A Técnica do Retalho Pediculado de Mucosa de Prega Vocal surge como uma alternativa para a recomposição da camada superficial da lâmina própria. A técnica consiste na colocação de um retalho de mucosa de prega vocal com pedículo anterior na camada superficial da lâmina própria, abaixo da borda livre. O objetivo do presente estudo foi descrever os achados histológicos encontrados no retalho pediculado após a in-

tervenção cirúrgica em cães, tendo-se como referência o colágeno total, tipo I, tipo III e número de núcleos celulares. Foram utilizados quinze cães, numa das pregas foi realizada a intervenção e a contra-lateral foi deixada como controle. Cada grupo de três cães foi sacrificado em 10, 30, 90, 180 e 360 dias após a cirurgia. Para a análise histológica foram utilizados os corantes H.E. e Syrius Red. Os níveis de colágeno total e tipo I apresentaram uma tendência a aumento no grupo teste no 180º dia de pós-operatório. A média da área do colágeno tipo III foi inferior ao do grupo controle durante o período de observação. O número de núcleos atingiu maiores níveis no grupo teste no 10º dia de pós-operatório, seguido de período de estabilização após o 30º dia. Estudos mais complexos são necessários para complementação dos achados sugeridos pelo presente estudo.

AVALIAÇÃO RETROSPECTIVA DE UMA POPULAÇÃO DE CRIANÇAS COM DISTÚRBIOS DA COMUNICAÇÃO ORAL

Márcia Madeira Peres De Vitto

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina L. Cury Féres

Dissertação de Mestrado apresentada em 30/04/2004

Os distúrbios da comunicação oral compreendem um amplo espectro de situações nas quais o indivíduo apresenta dificuldade de se comunicar verbalmente. Enquadram-se nessas situações os atrasos no desenvolvimento da fala, os quadros de desenvolvimento incompleto, onde o paciente se comunica com uma pobreza de repertório verbal que acaba por truncar sua capacidade de comunicação, os quadros de involução da fala já desenvolvida, distúrbios fonológicos, as disfluências, como a gagueira, entre outros. Essas situações clínicas podem ser causadas por distúrbios auditivos ou não. Dentre as alterações auditivas, estas podem ocorrer em qualquer nível deste sis-

tema sensorial, desde o ouvido externo até o córtex cerebral. Englobam, portanto, desde as mal-formações de orelha externa, média e interna, passando pelas patologias inflamatórias e infecciosas crônicas, as patologias específicas da cóclea, alterações congênitas, quadros infecciosos que levam à lesão auditiva, como as meningites, patologias do nervo coclear, alterações intracranianas, lesões expansivas, doenças neurológicas que afetem estruturas centrais do sistema auditivo, e, conforme mais recentemente vêm sendo estudados, os distúrbios do processamento auditivo.

Realizou-se um estudo retrospectivo sobre os prontuários de uma população de crianças cuja queixa da família era de “problemas na fala” e que foram atendidas no Laboratório de Eletrofisiologia da Audição do Ambulatório de Otorrinolaringologia do Hospital da Clinicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto no período de 1992 a 2002.

Os resultados obtidos mostraram alta incidência de perda auditiva nesses pacientes que chegaram com queixa de atraso na aquisição da fala, porém, uma grande porcentagem de pacientes apresentou seus testes auditivos sem alterações, detectando-se outras causas para o distúrbio da comunicação oral, como o retardo no desenvolvimento neuro-psicomotor, o autismo e outras não definidas.

Discute-se o papel dos médicos, que de primeira instância, entram em contato com esses pacientes (otorrinolaringologistas, pediatras), devendo conhecer os parâmetros que podem interferir no processo da aquisição da fala, aspectos sociais, educacionais, e/ou familiares; como proceder diante desses pacientes e a quem encaminhá-los, após o diagnóstico feito da patologia subjacente ao distúrbio da comunicação oral.

EXPRESSÃO DOS GENES CODIFICANTES DE PEPTÍDEOS ESPECÍFICOS DE TUMOR (MAGE-1, MAGE-4, MAGE-10, MAGE-12, BAGE, GAGE, LAGE, NYESO-1 E PRAME) EM CARCINOMAS ESCAMOCELULARES DE CABEÇA E PESCOÇO: ANÁLISE POR METODOLOGIA DE RT-PCR

David Livingstone Alves Figueiredo

Orientador: Prof. Dr. Rui Celso Martins Mamede
Dissertação de Mestrado apresentada em 05/05/2004

Apesar dos inúmeros avanços no diagnóstico e tratamento do câncer de cabeça e pescoço, a sobrevida aumentou pouco mais de 10% nos últimos 30 anos. Enquanto prevenção primária parece ser a estratégia mais importante para o controle da doença, a longo prazo, o estudo da biologia molecular pode focar para um melhor entendimento dos mecanismos alterados nos tumores. Neste contexto, a identificação de antígenos expressos especificamente em tumores, como os produtos das famílias de genes MAGE, BAGE, GAGE, LAGE-1, NY-ESO-1 e PRAME, pode servir de base para terapêutica imunoterápica.

Diante disso, nossa proposta foi analisar, por metodologia de RT-PCR com primers específicos, a expressão de genes codificantes de peptídeos específicos de tumor - *MAGE-1*, *MAGE-4*, *MAGE-10*, *MAGE-12*, *GAGE*, *BAGE*, *LAGE*, *NY-ESO-1* e *PRAME*, em amostras cirúrgicas do tumor, margem e linfonodo (quando presente) de pacientes com diagnóstico de carcinoma escamocelular de cabeça e pes-

coço, e correlacionar os achados com a evolução clínica de cada neoplasia.

Foram analisados trinta e três pacientes, sendo trinta e um do sexo masculino e dois do sexo feminino, com idade entre 31 e 94 anos e média de 55,5 anos, com tumores localizados na boca (15), faringe (4) e laringe (14).

Constatou-se a expressão de genes da família de antígenos tumorais específicos em 66,6% dos casos, com diferentes graus de expressão de acordo com o estadiamento do tumor (100% dos T4; 50% dos T1 e T2 e 57% dos T3) e o consumo de tabaco. Houve expressão de múltiplos genes (dois ou mais) significativamente maior em tumores com estádios avançados.

Com base nos dados obtidos neste estudo, conclui-se que os genes antígenos tumorais específicos MAGE-1, -4, -10, -12, BAGE, GAGE, LAGE, NY-ESO-1 e PRAME são expressos em quantidades variáveis nas lesões primárias de carcinoma escamocelular de cabeça e pescoço e nas suas metástases, sendo que nas metástases com expressão gênica, o PRAME sempre foi expresso. Nas lesões primárias, a expressão gênica correlaciona-se com o consumo de tabaco e com tumores avançados, os quais frequentemente expressam dois ou mais desses genes.

ESTUDO COMPARATIVO DE CORANTES UTILIZADOS SOBRE AS PREGAS VOCAIS EM MODELO ANIMAL ATRAVÉS DA ENDOSCOPIA DE CONTATO

Jucicleide Bezerra Coimbra

Orientador: Prof. Dr. Marcos Grellet
Dissertação de Mestrado apresentada em 12/05/2004

A endoscopia de contato foi descrita pela primeira vez por Hamou, em 1973, para o estudo das células epiteliais do colo do útero. A CEMS ("contact

endoscopic microsurgery”) é um método semiótico que vem sendo desenvolvido por Mário Andréa e Oscar Dias desde 1994, no qual, é utilizado o azul de metileno 1% para corar as pregas vocais.

Neste estudo comparativo, foram utilizados três tipos diferentes de corantes em laringes caninas (azul de metileno 1%, azul de toluidina 2% e tionina 5%) e foi realizada endoscopia de contato das pregas vocais. As imagens do epitélio laríngeo foram capturadas por um programa de computador específico de digitalização e posteriormente, as imagens foram analisadas no programa Meta Morph Imaging System 4.0, quando observou-se que:

- A maioria das fotos demonstrou imagens celulares homogêneas e com boa nitidez em todos os corantes testados;

- O corante azul de metileno 1% demonstrou melhor nitidez dos núcleos e melhor nitidez dos limites citoplasmáticos;
- A quantidade de núcleos foi significativamente maior quando usamos o azul de toluidina 2%.
- A quantidade de mitoses foi significativamente maior quando usamos o azul de toluidina 2%;
- Em todos os corantes utilizados, quase não foram observados nucléolos.

Portanto, dentre os corantes avaliados, o azul de metileno 1% comprovou ser melhor na visualização da nitidez celular de um modo geral. O azul de toluidina 2% demonstrou melhores resultados na visualização do número de núcleos e de mitoses e a tionina demonstrou resultados inferiores aos demais em relação aos itens analisados.

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO ANATÔMICO CIRÚRGICO DO FORAME ESFENOPALATINO

Adriana Bernardini Antunes Scanavini

Orientadora: Profa.Dra. Wilma T. Anselmo-Lima

Dissertação de Mestrado apresentada em 01/07/2004

As epistaxes severas constituem emergências em otorrinolaringologia e uma das formas de seu tratamento consiste na ligadura arterial realizada sob visualização do endoscópio e orientada pela identificação de estruturas anatômicas da cavidade nasal. Objetivo: Estudar o forame esfenopalatino (FEP) quanto à sua variação numérica, sua localização na cavidade nasal em relação à crista etmoidal óssea do osso palatino e por meio de medidas na parede lateral nasal. Material e método: O trabalho realizado em 54 hemirânios e 12 hemicabeças dissecadas foi organizado em três estudos subsequentes. Primeiramente realizou-se a observação da variação numérica do FEP na cavidade nasal nos hemirânios. Os mesmos foram alvo do segundo estudo, quando foram realizadas observações anatômicas de localização do FEP em relação à crista etmoidal óssea da concha nasal média (COM). No terceiro estudo foram realizadas medidas de localização do FEP sobre fotografias dos hemirânios e hemicabeças com utilização do programa de computador Image Tool 3.0. Foram determina-

das as medidas da distância (milímetros) entre o ponto mais côncavo abaixo da espinha nasal anterior (sENA) e o bordo anterior do FEP (distância sENA-FEP); medida do ângulo (Â) formado por sENA-FEP e assoalho nasal anterior. Realizou-se a comparação entre as medidas médias dos hemirânios e hemicabeças por meio do teste t para amostras independentes. Resultados: 1º estudo -observou-se que o FEP apresentou variação numérica: único (87,0%), duplo (11,1%) e triplo (1,9%); 2º estudo -verificou-se que o FEP em relação à COM estava localizado no meato superior (81,5%), entre o meato médio e superior (14,8%) e no meato médio (1,9%); 3º estudo -a média da distância sENA-FEP foi significativamente maior nas hemicabeças (hemirânios = 55,24 ‘+ OU -’ 3,85 mm, hemicabeças = 58,94 ‘+ OU -’ 4,36mm; $p < 0,01$, teste t). As médias dos ângulos não diferiram. Conclusão: o estudo demonstrou a variação numérica do FEP, sua relação com a crista etmoidal óssea da concha nasal média, estando localizado nos meatos superior, médio e em ambos. O trabalho também estabeleceu medidas para sua localização na cavidade nasal, colaborando com os médicos otorrinolaringologistas na realização dos procedimentos cirúrgicos endonasais para ligadura dos ramos da artéria esfenopalatina

DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO NA INFÂNCIA: SUA IMPORTÂNCIA NA PRÁTICA OTORRINOLARINGOLÓGICA

Silvia Regina M. de Carvalho Leitão Megale

Orientador: Profa.Dra. Wilma T. Anselmo-Lima

Dissertação de Mestrado apresentada em 01/07/2004

Foi realizado um estudo retrospectivo em quarenta e cinco crianças portadoras de doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), confirmado através da história clínica e pHmetria de 24 horas monocal, à fim de se averiguar a sintomatologia gastroesofágica e extra-gastroesofágica (vias aéreas inferiores e ou superiores) e a resposta ao tratamento instituído. O trabalho foi organizado em três estudos subseqüentes: no primeiro caracterizou-se a amostra quanto ao sexo e idade, verificando-se serem 64,44% (n=31) do sexo masculino e 35,56% (n=16) do sexo feminino. Em relação à faixa etária, dez pacientes (22,22%) apresentavam entre 0 e 12 meses, quatorze (31,11%) estavam entre 13 e 24 meses e vinte e um (46,67%) tinham mais de 25 meses. O segundo estudo destinou-se a avaliar a sintomatologia e resposta ao tratamento geral. Baseados nos sítios anatômicos os sintomas foram classificados em 5 Grupos: gastroesofágico - **GE** (51,11%; n=23), pulmonar - **P** [pneumonia de repetição - **PnR** 40% (n=18), asma brônquica - **AB** 46,67%; n=21], tosse crônica - **TC** (64,44%; n=29), rinológico - **R** [(obstrução nasal crônica - **ONC** 68,88%; n=31), secreção nasal - **SN** 55,55% (n=25), prurido nasal - **PR** 46,66% (n=21)] e faringo-otológico - **FO** [otite média aguda de repetição - **OMAR** 35,56% (n=16), tonsilite de repetição - **TR** 24,44% (n=11)]. A resposta do grupo geral à terapêutica insti-

tuída (drogas anti-refluxo, associadas ou não a drogas antialérgicas, associadas ou não a procedimentos cirúrgicos) mostrou que, ao final do estudo, vinte e quatro pacientes da amostra total (53,34%) apresentaram remissão total da sintomatologia (cura), enquanto que 46,66% (21 pacientes) permaneceram com algum sintoma do quadro clínico inicial. Em relação aos grupos, separadamente, observou-se a ocorrência de cura em 69,56% dos pacientes do Grupo GE, 100% para PnR, 80,95% para AB e 68,96% para a tosse crônica. Os pacientes do Grupo ORL obtiveram 75% de cura. O tempo de tratamento exigido para a remissão desta sintomatologia foi 1,8 vezes maior para o grupo com sintomas extra-gastroesofágicos. O terceiro estudo destinou-se à análise da evolução dos pacientes com sintomas otorrinolaringológicos (Grupo ORL, n=36) e seus subgrupos [R (n= 34) e FO (n=16)] à terapêutica instituída (drogas anti-refluxo, associadas ou não a drogas antialérgicas, associadas ou não a procedimentos cirúrgicos). Verificou-se que a terapêutica exclusivamente anti-refluxo promoveu remissão total dos sintomas otorrinolaringológicos em 38,89% dos pacientes (14/36), principalmente naqueles com sintomatologia nasal (41,17%, 14/34); para os pacientes com OMAR essa terapêutica foi eficaz em apenas 12,5% (2/16) e, para aqueles com TR, 18,18% (2/11). Também foi observada a resposta à associação medicamentosa (drogas anti-refluxo e antialérgicas) para os pacientes dos subgrupos R e FO. A DRGE na população pediátrica pode promover sintomatologia otorrinolaringológica passível de remissão com a terapêutica anti-refluxo.

DETECÇÃO DO HERPESVIRUS TIPO 1 E TIPO 2 POR HIBRIDIZAÇÃO *in situ* EM TONSILAS E ADENÓIDES

Leandro Azevedo de Camargo

Orientadora: Profa. Dra. Luiza Hayashi Endo

Dissertação de Mestrado apresentada em 22/12/2004

O anel linfático de Waldeyer faz parte da primeira linha de defesa contra patógenos, por estar localizado na porta de entrada das vias aérea e digestiva. É constituído por tecido linfóide, dos quais fazem

parte as tonsilas palatinas e tonsilas faríngeas. Vários microorganismos podem acometer estes tecidos e causar infecções. Podemos citar os vírus e as bactérias.

Ainda não está completamente entendido o mecanismo pelo qual há um aumento exagerado das vegetações adenoideanas e/ou tonsilas. Bactérias acometendo estas estruturas têm sido bastante estuda-

das, já não se pode dizer o mesmo em relação aos vírus. Os métodos de detecção dos vírus podem dificultar seu estudo.

Temos na literatura alguns estudos verificando a presença do Epstein-Barr vírus (EBV) infectando adenóides e tonsilas. O EBV tem a propriedade de permanecer durante anos nas células em forma latente sem causar infecção.

Neste estudo pesquisamos a presença do Herpesvírus tipo 1 (HSV-1) e Herpesvírus tipo 2 (HSV-2), um vírus da família do EBV, que também tem capacidade de infectar as células de maneira latente e desenvolver doenças posteriormente.

Foram examinadas trinta e seis (n=36) espécimes, sendo vinte e uma adenóides e quinze tonsilas tratadas em nossa instituição, através da técnica de Hibridização in situ (HIS) para detecção do HSV-1 e HSV-2.

Não encontramos o Herpesvírus tipo 1 (HSV-1) nem o Herpesvírus tipo 2 (HSV-2) nos tecidos estudados

A procura de novos microorganismos que possam estar presentes em formas latentes deve ser continuada para se realizar terapêutica adequada e melhor compreender a fisiopatologia do anel linfático de Waldeyer (ALW).