

**RESUMOS DE DISSERTAÇÕES DE MESTRADO E TESES DE DOUTORADO
APRESENTADAS NA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP
DE JULHO A SETEMBRO DE 2006**

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

**CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DO GENE DA PTERIDINA REDUTASE -1 DE
*LEISHMANIA (VIANNIA) BRAZILIENSIS***

Adriana Renzi

Orientador: Prof.Dr. Luiz Ricardo Orsini Tosi
Dissertação de Mestrado apresentada em 01/08/2006

O gene Pteridina Redutase-1 (PTR1) de *Leishmania* participa na redução da biopterina em sua forma ativa, a tetrahydrobiopterina (H_4). Em *L. (L.) major* foi demonstrado que o gene PTR1 apresenta um importante papel na metaciclologênese. A diminuição nos níveis de H_4 , observado em mutantes que não possuem o PTR1, resulta em um aumento na virulência nesta espécie, observada através de um aumento do número de formas metacíclicas e, conseqüentemente, no aumento na formação de lesões. Além disso, foi demonstrado que em *L. (L.) major* e em *L. (S.) tarentolae* a atividade da PTR1 na redução de folato confere resistência ao inibidor de dihidrofolato redutase-timidilato sintase (DHFR-TS), metotrexato.

O objetivo do estudo aqui apresentado foi in-

vestigar o papel do PTR1 de *L. (V.) braziliensis* no metabolismo de pteridinas e na determinação de sua virulência.

A participação do gene PTR1 de *L. (V.) braziliensis* na metaciclologênese foi investigada através da geração de mutantes heterozigotos contendo pelo menos um dos alelos interrompido pela inserção do elemento transponível ELSAT no gene em estudo. Os transfectantes obtidos não apresentaram episômos circulares e a porcentagem de formas metacíclicas encontradas nestes mutantes foi maior quando comparada à linhagem selvagem, sugerindo a participação do PTR1 na metaciclologênese em *L. (V.) braziliensis*.

Por outro lado, a análise da susceptibilidade ao metotrexato em transfectantes com níveis aumentados de transcritos para o gene PTR1 de *L. (V.) braziliensis*, sugeriu que a expressão do gene não é suficiente para compensar a inibição da DHFR-TS pela droga.

**GERAÇÃO DE LINHAGENS Gal4 DE *DROSOPHILA MELANOGASTER*: UMA
FERRAMENTA PARA O GENOMA FUNCIONAL**

Fernanda Carvalho Humann

Orientadora: Profa.Dra. Maria Luisa Paçó-Larson
Dissertação de Mestrado apresentada em 18/08/2006

Com o objetivo de obter linhagens de *Drosophila* para serem utilizadas como *driver* no sistema bipartido Gal4/UAS, geramos linhagens transgênicas utilizando o vetor pPTGal contendo elementos *cis*-reguladores identificados no gene *BhC4-1* de *B.hygida*. Um dos elementos está contido em um fragmento de 67pb (-253/-187) e é capaz de ativar a expressão do

gene repórter *lacZ* especificamente na glândula anelar (GA) de *Drosophila*, desde o primeiro estágio larval. O segundo está em um fragmento de 129pb (-186/-58) e induz a expressão na glândula salivar (GS) especificamente na transição de larva para pré-pupa. Usando a construção pPT67Gal4, obtivemos quatro linhagens transgênicas, quando os animais foram mantidos em 18°C. A injeção da construção pPT129Gal4 resultou em nove linhagens independentes. Como controle, também geramos sete linhagens diferentes transformadas somente com o vetor. O padrão de expressão de Gal4 nas linhagens obtidas foi avaliado através

da expressão de GFP na prole de cruzamentos com linhagens UAS-GFP. Os resultados mostraram que o vetor pPTGal vazio é capaz de dirigir a expressão de GFP especificamente na glândula salivar em todos os estágios larvais e em pré-pupa. Esse mesmo padrão de expressão de GFP foi observado em animais provenientes de cruzamentos utilizando as linhagens transformadas com a construção pPT129Gal4, sugerindo o fragmento de 129pb não foi capaz de promover a regulação temporal da expressão do transgene na glândula salivar no contexto do vetor pPTGal. Entretanto, as linhagens carregando o ativador de 67pb apresentaram expressão de GFP na glândula anelar em larva e pré-pupa, e no *corpus cardiacum* e *corpus allatum* do adulto. A expressão de GFP também foi observada nos oenócitos larvais e imaginais na linhagem GA74, e no esôfago de larvas da linhagem GA120, além da expressão ectópica na glândula salivar, inerente ao vetor. A observação de que as moscas pPT67Gal4 somente podem se desenvolver quando os animais transformantes são mantidos a 18°C, ao invés de 25°C, como é feito rotineiramente, sugere que os níveis de Gal4 produzidos pela construção pPT67Gal4 afetam o desenvolvimento. Essa hipótese foi avaliada pela análise da viabilidade das linhagens GA mantidas em diferentes temperaturas durante o desenvolvimento. Duas séries de experimentos foram realizadas. Na primeira, comparou-se a porcentagem de moscas transgênicas que emergiram dos animais mantidos a 18°C, com a porcentagem das moscas que emergiram quando a cultura foi transferida para 25°C, nos diferentes estágios do desenvolvimento (embrião, L1, L2, L3 e pupa). Na segunda, verificamos a porcentagem de moscas transgênicas que emergiram das culturas transferidas de 25°C para 18°C. Os resultados mos-

traram que nas culturas transferidas de 18°C para 25°C, as moscas transgênicas emergiram somente quando esse processo foi realizado no estágio L3 e pupal. Quando a cultura foi transferida de 25°C para 18°C, as moscas transformantes emergiram quando a transferência aconteceu nos estágios embrionário, L1 e L2, mas não depois disso. Esses resultados reforçam a idéia de que a atividade de Gal4 dirigida pela construção pPT67Gal4 afeta a viabilidade, possivelmente interferindo com as funções da glândula anelar. De fato, verificamos que a quantidade de 20-hidroxiecdisona (20E) em larvas no início do terceiro estágio se mostrou alterada de acordo com a temperatura e dose do transgene. A linhagem GA74 também foi usada como ferramenta num estudo preliminar para investigar se a superexpressão de APC2 interferiria com o endociclo na glândula anelar, já que a função deste gene é necessária para manutenção deste tipo de ciclo celular. Observamos que os núcleos da glândula anelar das moscas GFP positivas provenientes de cruzamentos entre moscas pPT67Gal4 e moscas carregando UAS-GFP e UAS-APC2 têm morfologia bastante semelhante à dos núcleos das moscas GFP positivas provenientes de cruzamentos da linhagem pPT67Gal4 com animais carregando somente UAS-GFP. Nossas observações sugerem que a superexpressão de APC2 não interfere com o controle do endociclo na glândula anelar, diferente do observado com a falta desta proteína. Por outro lado, foi interessante a observação de que os oenócitos GFP positivos dos adultos, mas não os larvais, estão ausentes nas moscas carregando o transgene UAS-APC2. Essa observação sugere que a superexpressão de APC2 nos oenócitos imaginais interfere com a formação desse tecido nos adultos, possivelmente por bloquear proliferação destas células.

ISOLAMENTO DE MITOCÔNDRIAS DE MONÓCITOS HUMANOS PARA ESTUDO DE PROTEOMA SUBCELULAR DURANTE A DIFERENCIAÇÃO E MATURAÇÃO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS

Alana Maria Cerqueira de Catalán

Orientador: Prof. Dr. Lewis Joel Greene

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/09/2006

O interesse em estudar monócitos vem aumentando nos últimos anos devido à sua utilização para a obtenção *in vitro* de células dendríticas (DCs). As DCs possuem um papel central na iniciação da imunidade

inata e, devido à capacidade de estimular células T virgens (*naive*) são consideradas ferramentas promissoras para imunoterapia, no desenvolvimento de estratégias de vacina para prevenção e tratamento de câncer, infecções e rejeição de aloenxerto. Ao iniciar um projeto de proteoma, a primeira exigência é a obtenção da amostra em quantidade e com alta pureza. Porém a obtenção de monócitos combinando baixo custo, quan-

tidade, pureza e simplicidade não existe; por isso a preocupação de utilizar um melhor método de obtenção de monócitos. Foram avaliados quatro métodos de obtenção de monócitos: seleção imunomagnética, aderência celular, centrifugação com gradiente de Percoll e de Optiprep. Dentre os métodos avaliados, a seleção imunomagnética e a aderência celular (na presença de 5% de soro fetal bovino) foram os que demonstraram melhores resultados em termos de pureza (71 e 75%, respectivamente), porém a seleção imunomagnética é um método de alto custo. Atualmente, a centrifugação diferencial é o método mais comum

de separação e isolamento de organelas. Para a obtenção de mitocôndrias de monócitos, foram avaliados três diferentes protocolos de centrifugação diferencial. O protocolo que demonstrou melhores resultados foi o que utilizou soluções de baixa osmolaridade, enquanto os demais métodos não foram suficientes para lisar os monócitos. Após a centrifugação diferencial, foi realizado um gradiente descontínuo de Percoll com 40%, 25% e 15% obtendo-se duas bandas distintas, sendo a banda mais densa a mais homogênea em mitocôndrias, conforme caracterização por microscopia eletrônica de transmissão e ensaios enzimáticos.

INTERFERÊNCIA NO COMPLEXO MIOSINA-VA/DLC2/BMF REVELA UM NOVO MECANISMO PARA A INDUÇÃO DE APOPTOSE EM CÉLULAS DE MELANOMA

Tatiane de Carvalho Izidoro Toledo

Orientadora: Profa. Dra. Enilza Maria Espreafico
Tese de Doutorado apresentada em 29/09/2006

As miosinas da classe V são motores moleculares de actina que atuam no transporte de organelas e em muitos outros processos celulares. A miosina-Va (MVa) tem sido implicada na prevenção de apoptose em células normais pelo seqüestro do fator pro-apoptótico Bmf no citoesqueleto de actina, através de sua interação com a cadeia leve de dineína 2 (DLC2). Sinais de dano, como perda de adesão celular, induzem a liberação do complexo DLC2-Bmf engatilhando a apoptose pela interação de Bmf com Bcl2 na mitocôndria. Um estudo prévio em nosso laboratório criou uma construção que codifica um pequeno fragmento da cauda medial da MVa (MVaf) e mostrou uma drástica redução no número de células transfectadas após transfecção, em linhagem celular de melanoma B16-F10, e, em adição, mostrou que este fragmento foi capaz e suficiente para interagir com DLC2. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a via e os mecanismos da morte celular induzida por MVaf. Características típicas de apoptose, como formação ativa de bolhas na membrana, marcação positiva para anexina-V e TUNEL, marcação difusa do citocromoc, além da ativação de caspases 9 e 3, foram encontradas em células superexpressando MVaf provando seu papel pró-apoptótico. Com base em ensaios de interação protéica nos mostramos que MVaf é capaz e suficiente para interagir com DLC2 ou DLC1, sugerindo que a morte drástica observada seja fruto da

liberação simultânea de Bmf e Bim de seus sítios de ancoragem. Ensaios de interação mais complexos incluindo Bmf e Bcl2, demonstraram que MVaf liga-se a DLC2 e impede a interação de DLC2-Bmf, permitindo que Bmf sozinha associe-se à Bcl2, enquanto que na ausência de MVaf, o complexo DLC2/Bmf/Bcl2 é formado. MVaf também induziu a morte de células S91 (MYO5A mutantes) e de células de melanoma humano WM35, WM278 e WM902. Para caracterizar os resíduos de aminoácidos da cauda medial da MVa envolvidos na resposta apoptótica e interação com DLC2, nos criamos várias novas construções de diferentes variantes de *splicing*. Nós suspeitávamos que o *exon C*, a porção central e maior de MVaf, fosse o maior responsável pela interação MVa-DLC2 e pela indução de morte, mas este fragmento não induziu níveis de resposta apoptótica comparáveis ao MVaf. Se a morte celular reflete a afinidade por DLC2, nossos resultados sugerem que os *exons B* e/ou *D* são requeridos para a interação, porém, a porção N-terminal do *exon E* parece suprir a ausência simultânea dos *exons B* e *D*. Finalmente, a investigação do perfil de expressão de moléculas envolvidas nesta via apoptótica mostrou que DLC2, isoformas BH3-only e não-BH3-only de Bmf e Apaf-1 são diferencialmente expressas em várias linhagens de melanoma humano. Em conclusão, este trabalho identifica uma nova via e mecanismos de indução de morte apoptótica em linhagens metastáticas de melanoma, assegurando que esforços futuros para a determinação do espectro de ação e utilidade desta nova ferramenta molecular valerão a pena.

BIOQUÍMICA

EFEITO DO ESTRESSE AGUDO PELO FRIO NA FAGOCITOSE IMUNOLÓGICA DESEMPENHADA POR LEUCÓCITOS POLIMORFONUCLEARES

Larissa Fávaro Marchi

Orientador: Prof. Dr. Bernardo Mantovani

Dissertação de Mestrado apresentada em 26/07/2006

Quando a homeostase do organismo é ameaçada, uma condição conhecida como estresse, ocorre a ativação do eixo Hipotálamo-Pituitária-Adrenal (HPA) que resulta na secreção de corticosterona (camundongos) e de cortisol (humanos) e a ativação do sistema nervoso simpático o qual leva à liberação de catecolaminas. Muitos trabalhos mostram uma íntima relação entre o estresse e a ocorrência de variações na função imune tanto em modelos animais quanto em humanos. Quanto à fagocitose, ainda há dúvidas sobre qual seria o efeito do estresse, pois alguns autores relatam diminuição e outros aumentam na capacidade fagocítica após o estresse. Neste estudo, nós investigamos, em camundongos, o efeito do estresse induzido pelo frio sobre a capacidade fagocítica de neutrófilos sanguíneos. Através de experimentos *in vitro*, nós também estudamos a ação da corticosterona e das

catecolaminas na fagocitose mediada por diferentes receptores. Nesses ensaios, nós encontramos que neutrófilos de camundongos submetidos a 4 horas de estresse pelo frio, a 4°C, mostraram uma diminuição na capacidade fagocítica mediada por receptores Fcγ e complemento (CR) comparados com células dos camundongos controles. Em experimentos *in vitro*, mostramos que os hormônios do estresse, corticosterona e catecolaminas, foram capazes de reduzir a fagocitose de neutrófilos. Experimentos com bloqueador do receptor de glicocorticóides (RU 486) mostraram que os efeitos desencadeados após o estresse e após o tratamento com corticosterona não foram revertidos. Nós encontramos que os efeitos observados com a corticosterona poderiam ser possivelmente atribuídos a uma ação não genômica deste hormônio, já que ele não é bloqueado por inibidores de transcrição e da tradução, actinomicina D e cicloheximida, respectivamente. Estes resultados representam possivelmente um importante fator de modulação dos processos fagocíticos com implicações nos mecanismos de defesa e talvez em outros processos fisiológicos.

MECANISMOS DE FORMAÇÃO DE CORPÚSCULOS LIPÍDICOS NA HISTOPLASMOSE EXPERIMENTAL MURINA

Carlos Artério Sorgi

Orientadora: Profa.Dra. Lúcia Helena Faccioli

Tese Doutorado apresentada em 27/07/2006

O *Histoplasma capsulatum* é um fungo dimórfico, patogênico e responsável por graves lesões pulmonares. A infecção ocorre principalmente pela inalação de conídios ou pequenos fragmentos de micélio que atingem os alvéolos, onde se transformam em leveduras, que é a forma patogênica do fungo. Nos últimos anos estudos referentes à função de leucotrienos

restringem-se não apenas a participação destes como mediadores da resposta inflamatória, mas também como mediadores capazes de modular a síntese e liberação de citocinas. Além disso, também tem sido demonstrada sua participação nos mecanismos de defesa do hospedeiro contra agentes infecciosos pulmonares. Resultados prévios obtidos em nosso grupo mostraram a produção de altos níveis de LTB₄ e LTC₄ em pulmão de animais infectados com *H. capsulatum*, assim como confirmaram que estes mediadores têm importante papel no combate à infecção, uma vez que

a ausência destes, resultou em disseminação e proliferação do fungo em diferentes órgãos e morte de 100% dos animais. Corpúsculos lipídicos são inclusões citoplasmáticas ricas em lipídios, que compartimentalizam enzimas do metabolismo de eicosanóides, os quais têm papel específico em aumentar a produção desses mediadores inflamatórios durante condições patológicas. Durante a infecção por *Histoplasma capsulatum*, ocorre aumento na formação de corpúsculos lipídicos, sendo que este evento está correlacionado com aumento dos níveis de LTB₄ e PGE₂. Em animais CD18^{Low}, durante a infecção por *H.capsulatum* houve diminuição na formação de corpúsculo lipídicos quando comparado ao animal selvagem, a qual também acarretou decréscimo na formação de eicosanóides. Resultados *in vitro*, demonstraram o mecanismo pelo qual o fungo *H.capsulatum* induz a for-

mação de corpúsculos lipídicos, onde de modo significativo a fração 1 (β -glucana) da parede celular do fungo, induziu a formação de corpúsculos lipídicos em leucócitos alveolares de uma maneira concentração e tempo dependente, sendo esta formação reversível em células de animais CD18^{Low} e 5-LO^{-/-}, mas não em células de animais TLR4^{-/-}. Entretanto, quando realizamos tratamento *in vitro* com antagonista de PAF, tivemos a inibição da formação de corpúsculos lipídicos via F1, assim como o mesmo ocorreu quando utilizamos o antagonista de BLT1, sugerindo que a sinalização é dependente de receptor de PAF e Leucotrieno. Enfim, o entendimento da via de formação de corpúsculos lipídicos na histoplasrose e sua relação com a produção de eicosanóides nos leva a procurar outras estratégias de tratamento para este patógeno, assim como entender melhor a imunidade inata.

PURIFICAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA E MECANISMO DE AÇÃO DA CARAMBOXINA

Ruither de Oliveira Gomes Carolino

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Coutinho Netto

Tese de Doutorado apresentada em 07/08/2006

Os metabólitos secundários estão presentes em todas as plantas e muitos deles participam dos sistemas de defesa contra insetos e herbívoros, apresentando grande diversidade química e, conseqüentemente, ampla variedade de atividades biológicas. Alguns destes compostos são tóxicos e têm sido responsáveis por vários casos de intoxicação em seres humanos.

A carambola (*Averrhoa carambola*) é uma fruta encontrada nas regiões tropicais, sendo originária da Ásia. Indivíduos com insuficiência renal apresentam intoxicação após sua ingestão ou de seu suco. O quadro clínico apresentado pelos intoxicados inclui náuseas, vômitos, soluços intratáveis, insônia, agitação psicomotora, vários graus de alteração da consciência, convulsões persistentes e morte.

A caramboxina é um agente convulsivante isolado da fruta carambola por quatro etapas cromato-

gráficas. Sua estrutura química foi completamente elucidada, sendo um aminoácido não-proteinogênico, cuja fórmula molecular é C₁₁H₁₃NO₄S (peso molecular igual a 255,06).

Os sistemas GABAérgicos, colinérgicos e glutamatérgicos têm sido implicados na etiologia do processo convulsivo. Caramboxina não alterou de forma significativa os processos de liberação de acetilcolina, GABA ou glutamato, nem a recaptação de GABA ou colina, em sinaptosomas. Entretanto, caramboxina inibiu discretamente a captação de glutamato. Além disso, deslocou o [³H]-GABA de seus sítios específicos nos receptores presentes nas membranas sinápticas isoladas de ratos, o que não foi verificado quando foi avaliado o [³H]-quinuclidinil-benzilato. Estes efeitos nos sistemas GABAérgicos e glutamatérgicos poderiam explicar a capacidade da caramboxina de induzir convulsões em camundongos e ratos.

Portanto, a caramboxina pode ser considerada uma neurotoxina relevante no desencadeamento e evolução dos quadros de intoxicação por ingestão de carambola ou de seu suco nos pacientes urêmicos.

CLÍNICA CIRÚRGICA

ESTUDO DA EXPRESSÃO DA PLEIOTROFINA EM ASTROCITOMAS E OLIGODENDROGLIOMAS E SUA CORRELAÇÃO COM A PROLIFERAÇÃO CELULAR, DENSIDADE MICROVASCULAR E SOBREVIDA GLOBAL

Fernanda Maris Peria

Orientador: Prof. Dr. Carlos Gilberto Carlotti Jr.
Tese de Doutorado apresentada em 04/09/2006

A pleiotrofina (PTN) é uma citocina associada a várias etapas do desenvolvimento tumoral como: crescimento, diferenciação celular, angiogênese, invasão, apoptose e metástases. Estudos envolvendo amostras de tumores e culturas de células sugerem que a PTN pode ter um papel relevante na biologia e desenvolvimento dos gliomas, sendo sua inativação, um possível alvo para a terapia molecular destes tumores.

Os astrocitomas e oligodendrogliomas são as neoplasias primárias mais frequentes no sistema nervoso central (SNC), sendo que os principais subgrupos são: astrocitoma pilocítico (AP), astrocitoma difuso (AD), astrocitoma anaplásico (AA), glioblastoma (GB), oligodendroglioma (O) e oligodendroglioma anaplásico (OA). Os AA, GB e OA (tumores de graus histológicos III ou IV) são reunidos em um grupo denominado como gliomas de alto grau.

O objetivo deste estudo foi comparar a expressão imuno-histoquímica da pleiotrofina em astrocitomas e oligodendrogliomas e correlacionar a intensidade da expressão da PTN com a proliferação celular, densidade microvascular e sobrevida global dos pacientes portadores de gliomas de alto grau.

A expressão da PTN demonstrou uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$) quando comparados os grupos: AP e GB (AP < GB), AP e AA (AP < AA) e AD e GB (AD < GB). Não houve diferenças nas correlações da expressão de PTN com a proliferação celular e da expressão de PTN com a densidade microvascular nos gliomas de alto grau. As curvas de sobrevida global mostraram-se semelhantes para os grupos de AA, GB e OA, independente da intensidade de expressão da PTN. Os resultados obtidos sugerem que a PTN apresenta relação com o grau histopatológico de astrocitomas. A proliferação celular, densidade microvascular e sobrevida global não demonstraram associação com a expressão de pleiotrofina no presente estudo.

AVALIAÇÃO CLÍNICA, MORFOLÓGICA E FUNCIONAL TARDIA DOS PACIENTES COM TRAUMA RENAL SUBMETIDOS AO TRATAMENTO NÃO OPERATÓRIO

Gerson Alves Pereira Júnior

Orientador: Prof. Dr. José Ivan de Andrade
Tese de Doutorado apresentada em 21/09/2006

O presente estudo fez a avaliação clínica, morfológica e funcional tardia dos pacientes, que foram vítimas de trauma renal de graus III, IV e V e que foram tratados, com sucesso, sem a necessidade de cirurgia, na Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP no período de 1989 a 2004.

Após a aprovação da Comissão de Ética e a assinatura do consentimento informado, 32 pacientes participaram do estudo, sendo 14 com trauma renal grau III; 16 com trauma renal grau IV, sendo 9 com lesão parenquimatosa e extravasamento de contraste (IV – e) e 7 com lesão vascular (IV – v) e 2 com trauma renal grau V, sendo 1 com lesão de múltiplas fraturas do parênquima (V – mf) e outro com lesão vascular com isquemia total do rim (V – i).

O tempo médio após o trauma renal de 6 anos e 1 mês (com variação entre 1 ano e 4 meses a 14

anos e 6 meses). Os pacientes retornaram para seguimento clínico ambulatorial, onde foram investigadas as queixas relacionadas ao trauma renal e foi agendada a realização da MAPA. Todos os pacientes fizeram: 1) uma avaliação laboratorial completa sobre a função renal e fatores de risco cardiovascular, 2) avaliação morfológica com a realização de tomografia computadorizada de abdome e angiorressonância nuclear magnética dos rins e 3) avaliação funcional com cintilografia renal estática com DMSA. Além disso, os pacientes classificados como hipertensos, através da MAPA fizeram a cintilografia renal dinâmica com teste do captopril para a exclusão de uma possível etiologia renovascular.

Nenhum dos pacientes necessitou de atendimento médico ou internação hospitalar motivada pelo trauma renal prévio. Nenhum deles apresentou alteração laboratorial da função renal.

A avaliação morfológica mostrou uma redução do volume do rim lesado em 50% dos casos, mostrando significância estatística entre os pacientes com trauma renal de graus III e IV com lesão vascular (IV – v) ($p < 0,05$).

Houve uma redução do fluxo sanguíneo renal, calculado pela angiorressonância nuclear magnética do lado lesado em relação ao lado contralateral, maior que 15% em 91,3% dos pacientes. Ocorreu uma grande variabilidade de valores absolutos e de redução percentual, na comparação com o rim não lesado. Entretanto, não foi notada diferença estatística significativa entre as diferentes gravidades do trauma renal.

A avaliação funcional através da cintilografia renal estática com DMSA mostrou que a redução da função renal relativa foi significativa e proporcional à gravidade do trauma renal: 1) os pacientes com trauma renal grau III em comparação com pacientes com trauma renal grau IV com extravasamento (IV – e) não tiveram a redução da função renal relativa significativa ($p > 0,05$), 2) a comparação entre os pacientes com trauma renal grau III e grau IV com lesão vascular (IV – v) mostrou significância estatística ($p < 0,01$) e 3) e também a comparação entre os pacientes

com trauma renal grau IV com lesão vascular (IV – v) e grau IV com extravasamento (IV – e) mostrou significância estatística ($p < 0,01$).

A prevalência de hipertensão arterial pós-traumática no estudo foi de 31,3% (10 pacientes). Os pacientes eram todos do sexo masculino e tinham uma média de idade de 38,3 anos (23 a 69 anos) com tempo médio decorrido entre o trauma e o estudo foi de 7,7 anos, com variação de 1 ano e 4 meses até 13 anos e 4 meses. A avaliação tardia destes pacientes permitiu o levantamento dos seguintes dados: 1) 90% dos pacientes tinham antecedentes familiares maternos e/ou paternos de hipertensão arterial, 2) 70% dos pacientes apresentavam hipertrofia do ventrículo esquerdo, 3) não houve correlação entre a presença de hipertensão com a maior gravidade do trauma renal pela classificação da OIS, pois 70% dos pacientes tinham trauma renal grau III, 4) a avaliação morfológica não mostrou correlação entre a redução do volume renal e a presença de hipertensão arterial, 5) a angiorressonância nuclear magnética não mostrou a presença de estenose da artéria renal, 6) também não foi detectada a presença de compressão do parênquima renal (Page Kidney) ou de fístula artério-venosa intra-renal, 7) a avaliação funcional com cintilografia renal estática com DMSA – ^{99m}Tc realizada em todos os pacientes hipertensos, mostrou que a função renal relativa estava gravemente prejudicada ($< 30\%$) em 30% dos pacientes. O restante tinha a função renal relativa normal a discretamente prejudicada ($> 40\%$) em 50% dos casos ou moderadamente prejudicada (entre 30 e 40%) em 20% dos pacientes, 8) a cintilografia renal dinâmica com EC – ^{99m}Tc com estímulo do captopril, realizada em 7 pacientes, foi negativa, excluindo a origem renovascular.

O presente estudo sugere que a hipertensão arterial pós-traumática pode ser essencial, embora os pacientes sejam de uma faixa etária relativamente baixa, não havendo dados de prevalência de hipertensão arterial por faixa etária, em nosso meio, que permita a comparação. A etiologia renovascular para a hipertensão arterial pôde ser excluída.

EFEITO DA HIPOTERMIA LEVE NAS LESÕES DA ISQUEMIA CEREBRAL TEMPORÁRIA COM REPERFUSÃO EM GATOS

Hiroshi Nakano

Orientador: Prof.Dr. Benedicto Oscar Colli
Tese de Doutorado apresentada em 29/09/2006

Introdução: O acidente vascular cerebral caracteriza-se pelo aparecimento rápido de sintomas ou sinais de perda localizada da função cerebral (parcial

ou global) aparentemente devido à causa vascular. Cerca de 80% deles são isquêmicos. O neurocirurgião depara-se com a isquemia encefálica no vasoespasm cerebral secundário à hemorragia subaracnóidea, nos traumatismos cranioencefálicos e nos procedimentos cirúrgicos neurovasculares, quando pode ser necessária a clipagem temporária de uma artéria. Vários estudos têm sido realizados visando o melhor entendimento da fisiopatologia dos processos de isquemia e de reperfusão e dos mecanismos de proteção ao cérebro nestas situações. Os modelos experimentais apresentam como vantagens a possibilidade de um melhor controle nas variáveis biológicas, a possibilidade de utilização de métodos invasivos e a mensuração mais rigorosa dos resultados. Como desvantagens, apresentam a dificuldade de se extrapolar os achados obtidos em animais de laboratório para os seres humanos. A hipotermia leve a moderada destaca-se por seu efeito neuroprotetor potente, sem efeitos colaterais graves. Os parâmetros que permitem o melhor aproveitamento do efeito neuroprotetor da hipotermia na isquemia focal temporária ainda não estão bem definidos, especialmente as diferenças entre as espécies animais e não encontramos estudos que mostram o seu possível efeito protetor na isquemia cerebral em gatos. O gato propicia um modelo adequado para o estudo da isquemia cerebral focal temporária, semelhante ao encontrado em algumas situações em seres humanos. Neste estudo pretendemos avaliar, analisando o volume da área isquêmica, o possível efeito neuroprotetor da hipotermia na isquemia e reperfusão cerebral em gatos.

Material e Métodos: Foram estudados 20 gatos divididos em dois grupos de 10: grupo 1 (controle) - animais submetidos à isquemia em normotermia e grupo 2 (hipotermia) - animais submetidos à isquemia sob hipotermia leve. Todos os animais foram submetidos à oclusão temporária da artéria cerebral mé-

dia direita por 60 minutos, com controle de parâmetros hemodinâmicos e respiratórios, seguida de reperfusão por 24 horas. Os cérebros retirados, após o sacrifício dos animais foram corados com solução de cloreto de 2,3,5-trifenil-tetrazólio, fixados em solução de formalina e fatiados em seções coronais que foram fotografadas para as medidas das áreas e dos volumes dos hemisférios e das áreas isquêmicas. A morfometria das imagens foi realizada com auxílio de um programa para cálculo da área das fatias (IMAGE J 1.36 (National Institute of Health - USA), com o periférico WizardPen 4x3 (tablet cordless pen device - Genius). As comparações das frequências de incidência de isquemia entre grupos experimentais foram efetuadas utilizando-se o teste exato de Fisher e entre os volumes das áreas de isquemia empregando-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney-U.

Resultados: A isquemia atingiu áreas corticais em 7 e núcleos da base em 8 animais do grupo 1 e comprometeu áreas corticais e núcleos da base em 5 animais do grupo 2. Não houve diferença significativa entre os grupos 1 e 2 (teste exato de Fisher) em relação ao comprometimento das áreas corticais ($p = 0,6499$) e das áreas do núcleo da base ($p = 0,3498$). Cinco animais do grupo 2 não apresentaram evidências de isquemia após a oclusão temporária da artéria cerebral média, fato este não observado nos animais do grupo 1 (diferença estatisticamente significativa, teste exato de Fisher, $p = 0,0325$). Houve diferença significativa entre as porcentagens dos volumes das áreas isquêmicas nos animais dos grupos 1 e 2 em favor dos animais submetidos à hipotermia ($p = 0,0433$, Mann-Whitney U).

Conclusões: A hipotermia leve não interferiu na localização da isquemia (áreas corticais e núcleos da base, e foi efetiva na redução do volume da isquemia cerebral em gatos submetidos à oclusão temporária da artéria cerebral média.

ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE UM NOVO SUBSTITUTO VASCULAR DERIVADO DO LÁTEX DA SERINGUEIRA (*HEVEA BRASILIENSIS*) E UMA PRÓTESE VASCULAR DE POLITETRAFLUORETILENO EXPANDIDO IMPLANTADAS EM ARTÉRIAS DE CÃES

Marcelo Luiz Brandão

Orientador: Prof.Dr. Carlos Eli Piccinato

Tese de Doutorado apresentada em 30/09/2006

O desenvolvimento de próteses vasculares sintéticas tem sido vital para os avanços e realizações da cirurgia vascular reconstrutora durante as últimas cinco

décadas. Contudo, nenhum destes substitutos vasculares apresenta todas as características de um enxerto autólogo. As limitações e os resultados precários das próteses sintéticas utilizadas para os vasos de pequeno e médio calibre são bem conhecidos, o que sustenta o interesse da pesquisa neste campo da cirurgia vascular. Estes esforços estão direcionados no sentido do potencial uso de novos biomateriais com melhores propriedades de superfície e complacência. Objetivou-se neste trabalho desenvolver e analisar um novo modelo de prótese vascular manufaturada com um tecido constituído de 85% de poliamida e 15% de elastano recoberto com um composto derivado do látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis* e microperfurada com laser, avaliando-se a perviedade, tromboogenicidade, biocompatibilidade e o processo cicatricial estimulado pelo material, comparando-a com a prótese tradicional de politetrafluoretileno expandido (ePTFE). Quinze cães foram divididos em três grupos de cinco animais de acordo com o período de seguimento. Cada cão foi seu próprio controle, sendo implantadas em um dos membros pélvicos a prótese de tecido e látex microperfurada (TLM) e no membro pélvico contralateral a prótese de ePTFE, ambas com 3,5 cm de comprimento e 0,4 cm de diâmetro, em substituição a um segmento de 3,0 cm da artéria femoral comum. O seguimento pós-operatório foi de 4, 8 e 12 semanas (grupos 1, 2 e 3, respectivamente). A análise

dos resultados baseou-se nas avaliações clínicas, arteriografias macroscópicas e eletronicografias de varredura. As perviedades em cada grupo foram de 80% (grupo 1 e 3) e 60% (grupo 2) para o ePTFE e de 60% (grupo 1), 20% (grupo 2) e 40% (grupo 3) para o TLM. Os testes estatísticos não evidenciaram diferenças significativas ($p > 0,05$) em relação às complicações pós-operatórias (colecção líquida, deiscência, granuloma e infecção), presença de pulso e resultado das arteriografias (perviedades dos enxertos). As eletronicografias demonstraram a presença de orifícios produzidos pela ação do laser nas superfícies externa e interna da prótese de TLM. Ambas as próteses integraram-se adequadamente aos tecidos circunvizinhos, com tecido de incorporação formado por fibras colágenas, porém com uma reação fibrosa mais intensa no enxerto de ePTFE. Internamente, as duas próteses foram recobertas por um tecido delicado e translúcido que as revestiam inteiramente. Constatou-se a presença de endotélio em toda a extensão da superfície luminal da prótese de TLM. Ao contrário, na prótese de ePTFE o desenvolvimento endotelial limitou-se às regiões das anastomoses. Conclui-se que a prótese de TLM demonstra qualidades estruturais como substituto vascular, é biocompatível no sistema arterial do cão, apresenta adequada integração tecidual e estimula o crescimento endotelial além das regiões de contato com a artéria nas anastomoses.

CLÍNICA MÉDICA

HIPOGONADISMO HIPOGONADOTRÓFICO CONGÊNITO: ESPECTRO CLÍNICO E O PAPEL DO GENE *KAL1*, DO GENE DO RECEPTOR 1 DO FATOR DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTOS E DO GENE DO RECEPTOR DO HORMÔNIO LIBERADOR DE GONADOTROFINAS

Beatriz Ribeiro Versiani

Orientadora: Profa. Dra. Margaret de Castro
Tese de Doutorado apresentada em 25/07/2006

A base genética da maioria dos casos de hipogonadismo hipogonadotrófico (HH) ainda é desconhecida. O hipogonadismo hipogonadotrófico isolado

(HHI) é geralmente esporádico, entretanto, entre os casos familiares, padrões de herança autossômica recessiva, autossômica dominante e ligada ao cromossomo X já foram descritos. Mutações no gene do receptor do GnRH (GNRHR) são responsáveis pelo quadro de HHI sem anosmia em algumas famílias. A Síndrome de Kallmann (SK) é uma síndrome de hipogonadismo hipogonadotrófico.

gonadismo hipogonadotrófico associado a hipo/anosmia, na qual existe uma grande variabilidade clínica e genética.

Três tipos de herança estão associados a esta síndrome, sendo que dois genes já foram descritos: KAL1, responsável pela SK com herança ligada ao cromossomo X recessiva; e FGFR1 (KAL2), implicado na etiologia da SK com herança autossômica dominante. Os objetivos deste estudo foram avaliar alterações nos genes GNRHR, KAL1 e FGFR1 em pacientes com hipogonadismo hipogonadotrófico congênito isolado; avaliar a correlação genótipo/fenótipo, e o padrão de herança, no caso de história familiar positiva. Neste trabalho foram avaliados vinte e seis pacientes do sexo masculino com diagnóstico clínico e laboratorial de HH. Além do quadro de HH, sinais associados à SK (hipo/anosmia, criptorquidia, fenda labial, fenda palatina, hipoplasia ou agenesia renal, hipocúria neurosensorial, sincinesia, anormalidades oculomotoras e ataxia cerebelar) também foram observados. Os pacientes foram submetidos a exames laboratoriais e exames de imagem (ultra-sonografia renal e RMN de encéfalo). Na presente casuística, observamos que 85% dos pacientes com HH congênito apresentaram hipo/anosmia. Do grupo de pacientes com SK, 38% apresentaram história familiar positiva: uma família com padrão de herança autossômica dominante, uma com padrão de herança autossômica recessiva, quatro com padrão de herança ligada ao X recessiva e duas com padrão de herança indeterminado. Dentre as alterações mais frequentemente associadas à SK, observamos que 83% dos pacientes com SK ligada ao X apresentaram sincinesia, entre-

tanto, este sinal foi também encontrado em pacientes com padrão de herança autossômica dominante. Aproximadamente um terço dos pacientes com SK apresentaram alteração renal, sendo agenesia renal a mais comum, estando associada apenas à forma de herança ligada ao X.

Dos vinte e três pacientes que realizaram RMN de encéfalo, quinze apresentaram hipotrofia ou atresia de bulbos e/ou sulcos olfatórios. Não foram detectadas mutações no gene GNRHR em pacientes com HHI sem hipo/anosmia. Foi observada a presença de duas novas mutações missense no gene KAL1 - a mutação S478X no éxon 10, associada à herança ligada ao X e a mutação N304S no éxon 7 associada a padrão de herança ignorado - além de uma deleção de catorze pares de base no éxon 11, em uma família com padrão de herança ligada ao X. Foi observada, ainda, a presença de duas alterações polimórficas no gene KAL1, previamente descritas: a troca de uma adenina por uma guanina no éxon 11, levando a uma mudança no códon 534 (V534I); e a troca de uma timina por uma citosina no éxon 12, sem alteração de aminoácido (Ile Ile). No gene FGFR1 duas mutações novas foram encontradas em três pacientes de duas diferentes famílias: P722S no éxon 16, encontrada em uma família, e L245P no éxon 6, observada em um caso esporádico. A presença, nesta série, de mutações em apenas 27% dos pacientes com hipogonadismo hipogonadotrófico congênito sugere o envolvimento de outros genes na sua etiologia. A grande variabilidade fenotípica sugere, ainda, que ocorra uma interação entre os produtos protéicos dos genes, não sendo possível descartar a ação de fatores epigenéticos e/ou ambientais.

USO DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES PARA O ESTUDO DA RESPOSTA IGE A ALÉRGENOS DE BARATAS (BLATTELLA GERMANICA E PERIPLANETA AMERICANA) EM PACIENTES COM ASMA E/OU RINITE

Michelle Christiane Rodrigues

Orientadora: Profa.Dra. Luísa Karla de Paula Arruda
Dissertação de Mestrado apresentada em 04/08/2006

Proteínas derivadas de baratas são importantes causa de doenças respiratórias mediadas por IgE, tais como rinite alérgica e asma. Vários alérgenos de *Blattella germanica* e *Periplaneta americana* foram identificados, clonados, seqüenciados e produzidos

como proteínas recombinantes com atividade biológica. Apesar de existir reatividade cruzada para extratos de *B. germanica* e *P. americana* em testes cutâneos, a maioria dos alérgenos é espécie-específico. Previamente nós identificamos tropomiosina como principal alérgeno de *P. americana*. A seqüência de aminoácidos deste alérgeno (per a 7) mostrou 80 a 82% de identidade de seqüência com tropomiosinas de camarão e ácaros, as quais são importantes proteínas de

ligação a IgE. Utilizando primers baseados na sequência conservada de tropomiosina de *P. americana*, nós determinamos a sequência de tropomiosina de *Ascaris lumbricoides*, a qual mostrou 90 a 98% de identidade com tropomiosinas de outros parasitas, incluindo *Anisakis simplex*, e 69 a 74% de identidade com tropomiosinas de baratas e ácaros. Nós expressamos tropomiosina recombinante de *P. americana* e de *A. lumbricoides* no sistema *Pichia pastoris*. Detecção de anticorpos IgE é essencial para confirmar o diagnóstico de alergia, identificar sensibilidade específica e guiar o tratamento. O testes cutâneo é o principal método para identificar a presença de IgE alérgeno-específica. Atualmente extratos comerciais de barata disponíveis para testes cutâneos mostram uma ampla variação no conteúdo e no nível de alérgenos principais, o que poderia estar associado com inconsistência no diagnóstico. Alérgenos recombinantes poderiam apresentar vantagens sobre os extratos comercialmente disponíveis, incluindo o uso de doses conhecidas de alérgenos altamente purificados e a possibilidade de

preparo de uma mistura de alérgenos bem definidos para diagnóstico e tratamento de alergia. Entretanto, a reatividade *in vivo* para alérgenos recombinantes não tem sido investigada em um grande número de pacientes alérgicos a baratas. No presente, nós realizamos testes cutâneos em 57 pacientes com asma e/ou rinite, alérgicos a barata, utilizando um painel de alérgenos recombinantes de *P. americana* e de *B. germanica*. Além disso, nós examinamos presença de IgE específica no soro para Per a 1, Per a 7 e tropomiosina recombinante de *A. lumbricoides*. Nossos resultados confirmaram que tropomiosina de barata (per a 7) é um importante alérgeno no Brasil. Aproximadamente metade dos pacientes apresentaram testes cutâneos positivos e/ou anticorpos IgE Per a 7, enquanto menos de 10% tiveram testes positivos para os outros alérgenos testados (rPer a 1, rBla g 2, rBla g 4 e rBla g 5). Estudos futuros serão necessários para estabelecer um painel de alérgenos de barata, os quais poderão identificar, por testes cutâneos, a maioria dos pacientes alérgicos a barata

ALFA-1 GLICOPROTEÍNA ÁCIDA ISOLADA DO SORO DE PACIENTES SÉPTICOS INIBE A MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS PARA A CAVIDADE PERITONEAL DE RATOS

Fabíola Leslie Antunes Cardoso Mestriner

Orientador: Prof Dr. Lewis Joel Greene

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/09/2006

A falência da migração de neutrófilos, um evento chave da sepse grave é parcialmente mediado por citocinas circulantes dependentes da liberação de óxido nítrico. A identificação de outras substâncias no soro de pacientes em sepse, que inibem a migração de neutrófilos foi o alvo do presente estudo. Um pool de soro de 68 pacientes com sepse grave, inibiu a migração dos neutrófilos para a cavidade peritoneal de ratos induzida por carragenina. Três proteínas com capacidade de inibir a migração de neutrófilos foram isoladas do soro de pacientes sépticos por cromatografia em resina Blue-Sepharose, por HPLC e por eletroforese em gel de poli(acrilamida). Uma das proteínas foi identificada por espectrometria de massa, como sendo alfa-1 glicoproteína ácida (AGP). Dados da literatura mostram que ela é uma proteína de fase aguda, cuja con-

centração está aumentada no soro de pacientes com sepse. A proteína adquirida comercialmente, apresentou a mesma atividade inibitória que a proteína isolada do soro de pacientes sépticos. Análises por microscopia intravital demonstraram que ambas as proteínas, quando administradas na mesma dose, 4,0 µg/rato, inibiram a migração de neutrófilos, bem como o rolamento e adesão dos leucócitos na microcirculação mesentérica. A atividade inibitória de 4,0 µg/rato (equivalente a 95 pico moles/rato) de cada uma das proteínas, foi bloqueada por pré-tratamento dos ratos com 50 mg/kg de aminoguanidina (AG), indicando um provável envolvimento do óxido nítrico neste processo. A administração de AGP (40,0 µg/rato) a ratos submetidos à sepse moderada, induzida por perfuração com ligadura do ceco (CLP), inibiu a migração e reduziu a sobrevivência em 84 horas, de 80% para 20%. Extrapolando nossos resultados para a clínica da sepsis, nós concluímos que uma proteína de fase aguda, a alfa-1 glicoproteína ácida (AGP) é um dos mediadores da falência de migração de neutrófilos na sepse humana.

FARMACOLOGIA

PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES SEROTONINÉRGICO DOS TIPOS 5-HT_{1A} E 5-HT_{2A} DA SUBSTÂNCIA CINZENTA PERIAQUEDUTAL DORSAL NA MEDIÇÃO DO COMPORTAMENTO DE FUGA EM RATOS TRATADOS COM DROGAS PANICOLÍTICAS

Valquíria Camin de Bortoli

Orientador: Prof.Dr. Hélio Zangrossi Júnior

Tese de Doutorado apresentada em 05/07/2006

A estimulação elétrica da substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPD) produz comportamentos de congelamento e fuga em ratos, os quais têm sido associados a ataques de pânico em humanos. Por meio da utilização deste modelo animal, tem sido mostrado que a administração intra-SCPD de serotonina ou de drogas que mimetizam seu efeito inibe estas respostas defensivas induzidas pela estimulação elétrica desta mesma área mesencefálica. O tratamento crônico com o agente panicolítico imipramina aumenta o efeito inibitório da administração intra-SCPD dos agonistas de receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A}, 8-OH-DPAT e DOI, respectivamente, sobre a resposta de fuga induzida pela estimulação elétrica da SCPD. No presente estudo, testamos a hipótese de que receptores 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A} se tornam mais reativos a seus agonistas após o tratamento crônico com diferentes drogas panicolíticas. Para tal, ratos Wistar, tratados subcronicamente (3-6 dias) ou cronicamente (21-24 dias) com fluoxetina (10 mg/Kg, i.p.) receberam a administração intra-SCPD de 5-HT (20 nmoles/0,2µL), 8-OH-DPAT (8 nmoles/0,2 µL), DOI (16 nmoles/0,2 µL) ou de salina (0,2 µL). O limiar de corrente elétrica aplicado na SCPD necessário para induzir os comportamentos de congelamento e de fuga foi medido antes e após a microinjeção dos agonistas. Os efeitos destes agonistas serotoninérgicos administrados na SCPD também foram investigados em ratos tratados cronicamente com buspirona (0,3 mg/Kg, i.p.), uma droga clínica-

mente eficaz no tratamento do transtorno de ansiedade generalizada, porém ineficaz no tratamento do transtorno do pânico. Adicionalmente, investigamos o efeito da administração intra-SCPD dos agonistas serotoninérgicos e do agonista benzodiazepínico midazolam (20 nmoles/0,2 µL) após tratamento sub-crônico e crônico com alprazolam (2 mg/Kg, i.p.), um agonista benzodiazepínico potente que também é eficaz no tratamento do pânico. Finalmente, investigamos os efeitos da administração intra-SCPD dos agonistas serotoninérgicos e do midazolam após tratamento crônico com diazepam (4 mg/Kg, i.p.), um ansiolítico benzodiazepínico que não apresenta efeito no tratamento do transtorno do pânico. Os nossos resultados mostram que a administração intra-SCPD dos agonistas serotoninérgicos aumenta o limiar de corrente elétrica necessário para evocar os comportamentos de congelamento e de fuga e este efeito panicolítico foi mais pronunciado em animais tratados cronicamente, mas não sub-cronicamente, com fluoxetina. Os resultados mostram também que o tratamento crônico, mas não sub-crônico, com alprazolam aumenta o efeito panicolítico do DOI. Por outro lado, o tratamento crônico com buspirona ou com diazepam não altera os efeitos dos agonistas serotoninérgicos, nem do midazolam no caso do tratamento com diazepam. Assim, nossos resultados corroboram a proposição de que receptores serotoninérgicos da SCPD estão envolvidos no efeito terapêutico de drogas utilizadas no tratamento do transtorno do pânico. Neste sentido, as evidências comportamentais obtidas no presente estudo sugerem que receptores serotoninérgicos dos subtipos 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A} da SCPD sejam sensibilizados pelo tratamento crônico com diferentes drogas panicolíticas.

AValiação DA ATIVIDADE ANTIPIRÉTICA DO DICLOFENACO DE SÓDIO

Juliano Manvailer Martins

Orientadora: Profa.Dra. Glória Emília Petto de Souza
Dissertação de Mestrado apresentada em 09/08/2006

A resposta febril além de provocar mal estar e desconforto, pode ser prejudicial em doenças autoimunes controladas ou inativas, como o lúpus e artrite

reumatóide, uma vez que ela aumenta as atividades dos componentes do sistema imune. Assim nestas situações e em outras, onde a temperatura muito alta oferece riscos de precipitação de convulsões, se faz necessário o uso de drogas antipiréticas.

Em vista disso investigamos o efeito antipirético do diclofenaco de sódio sobre as respostas febris induzidas pelo LPS e outros pirogênicos endógenos, uma vez que este fármaco se trata de um anti-inflamatório não-esteroidal largamente prescrito em quadros inflamatórios e infecciosos.

Observamos que o diclofenaco (i.p.), induz uma antipirese dose-dependente sobre a febre induzida pelo LPS (i.v.) e que a dose de 2 mg.kg⁻¹, foi a menor dose que causou inibição desta resposta sem

induzir hipotermia.

A febre induzida por IL-1 β , TNF, RANTES, PGF_{2 α} , PF₂ e ET-1 foram abolidas pelo pré-tratamento com diclofenaco de sódio (2 mg.kg⁻¹). Por outro lado a febre induzida por AA, prostaglandina E₂ (PGE₂) e pelo fator liberador de corticotrofina, não foram alteradas.

Este conjunto de resultados sugere que o diclofenaco de sódio apresenta efeitos antipiréticos pelo seu mecanismo de ação sobre as enzimas ciclooxigenases, principalmente sobre a COX-2. Além desse mecanismo, o diclofenaco pode também apresentar atividade antipirética pela alteração da síntese e liberação de mediadores e pela inibição da ativação dos fatores de transcrição como o NF-kB e AP-1.

PAPEL DA LIX [CXCL5] NO RECRUTAMENTO DE NEUTRÓFILOS NA INFLAMAÇÃO DE ORIGEM IMUNE INDUZIDA POR mBSA: MECANISMOS ENVOLVIDOS

Sílvio Manoel Vieira

Orientador: Prof.Dr. Fernando de Queiroz Cunha

Dissertação de Mestrado apresentada em 31/08/2006

Os neutrófilos são os principais leucócitos recrutados durante os processos inflamatórios, tanto crônicos quanto agudos. No presente estudo, avaliamos a participação das células residentes e de diversos mediadores inflamatórios no recrutamento de neutrófilos para a cavidade peritoneal no modelo de inflamação imune induzida por albumina bovina sérica metilada (mBSA), assim como o mecanismo pelo qual este recrutamento ocorre. Verificamos que a administração intraperitoneal de mBSA em animais imunizados, porém não em animais não-imunizados (grupos-controle), induziu acúmulo de neutrófilos na cavidade peritoneal de maneira dose- e tempo-dependentes, o qual foi inibido pelo antagonista de receptores CXCR1 e CXCR2 repertaxina, por anticorpos anti-LIX (anti-CXCL5) e anti-TNF- α , e pelo antagonista de receptor de PAF BN 50730. Verificamos também que animais imunizados e desafiados com mBSA apresentavam alta concentração de LIX [CXCL5] e TNF- α , e que animais deficientes para o receptor tipo I de

TNF- α (p55^{-/-}) e para o receptor de PAF (PAFR^{-/-}), imunizados e desafiados com mBSA, apresentavam migração de neutrófilos significativamente reduzida em relação ao grupo-controle. Além disso, a administração intraperitoneal destes mediadores quimiotáticos induziu elevada migração de neutrófilos, confirmando a participação destes mediadores. Ainda, a repertaxina inibiu a produção de TNF- α no exsudato peritoneal e o tratamento com anticorpo anti-TNF- α ou com BN 50730 reduziu a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal induzida pela LIX [CXCL5]. Observamos que células residentes estavam envolvidas no processo, uma vez que o aumento da população de macrófagos potencializou o recrutamento de neutrófilos induzido pela LIX [CXCL5], enquanto que, a depleção de mastócitos da cavidade peritoneal, inibiu a migração de neutrófilos induzida por esta quimiocina. Ademais, observamos, por meio de imunocitoquímica, que mastócitos e macrófagos possuem o receptor para LIX [CXCL5] CXCR2, e que linfócitos T CD4⁺ produzem esta quimiocina. Em resumo, a quimiocina LIX [CXCL5], ao interagir com o receptor CXCR2, induz a produção de TNF- α e PAF, os quais estão envolvidos na migração de neutrófilos para cavidade peritoneal no modelo de inflamação imune induzida por mBSA.

CARACTERIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS COM ATIVIDADE INIBITÓRIA SOBRE A MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS PRESENTES NO SORO DE CAMUNDONGOS COM SEPSE GRAVE

Fernando Spiller

Orientador: Prof. Dr. Fernando de Queiroz Cunha
Dissertação de Mestrado apresentada em 22/09/2006

Um dos principais fatores que contribuem para a letalidade durante a sepse é a incapacidade dos neutrófilos migrarem para o foco infeccioso, resultando em disseminação do microorganismo, SIRS e morte. A falência da migração dos neutrófilos na sepse grave é parcialmente mediada por citocinas e quimiocinas circulantes, através de um processo dependente da produção de óxido nítrico. Além de citocinas e quimiocinas, outros mediadores séricos também podem estar participando desse processo de falência. Sustentando essa hipótese, recentemente demonstramos que a administração por via intravenosa de soro de pacientes sépticos inibe a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal de ratos e um dos mediadores responsável por essa inibição é a proteína de fase aguda alfa-1-glicoproteína ácida (AGP). Nesse sentido, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de identificar mediadores protéicos, presentes no soro de camundongos submetidos a sepse grave, com atividade inibitória sobre a migração de neutrófilos. Para isso, um *pool* de soro foi coletado duas horas após a indução de sepse grave por ligação e perfuração do ceco em camundongos Swiss. A administração intravenosa desse soro séptico em camundongos hígidos Swiss inibe a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal, induzida por tioglicolato ou por carragenina. Além dis-

so, esse soro também inibe a migração de neutrófilos induzida em camundongos C57BL/6-TLR2+/+, C57BL/6-TLR2-/-, C3H/HePas (TLR4+/+) e C3H/HeJ (TLR4-/-), sugerindo que o efeito inibitório sobre os neutrófilos seja mediado por algum fator produzido pelo hospedeiro e não devido a produtos bacterianos. O isolamento e identificação das proteínas com atividade inibitória sobre a migração de neutrófilos presentes no *pool* do soro séptico, utilizando resina Blue-Sepharose, HPLC (coluna C₁₈), eletroforese nativa e espectrometria de massa, demonstraram duas proteínas de fase aguda, o cininogênio de alto peso molecular (HK) e a hemopexina (Hx). De fato, tanto o HK como a Hx possuem propriedades antiadesivas para neutrófilos, assim como importantes papéis em controlar o recrutamento excessivo de leucócitos. Por outro lado, seus altos níveis séricos podem ter consequências deletérias, como o possível envolvimento dessas proteínas na falência da migração de neutrófilos durante a sepse grave. A identificação das proteínas séricas AGP em humanos e da Hx e do HK em camundongos como possíveis mediadores da falência da migração de neutrófilos, sugere uma nova função das proteínas de fase aguda na sepse ou em outras doenças nas quais esse processo de falência também é observado. Sendo assim, faz-se importante determinar o papel dessas proteínas durante a sepse com o intuito de descobrir os mecanismos moleculares envolvidos na falência da migração de neutrófilos, bem como, a descoberta de novos alvos terapêuticos.

FISIOLOGIA

ATIVAÇÃO DE NEURÔNIOS VASOPRESSINÉRGICOS E OCITOCINÉRGICOS NOS NÚCLEOS PARAVENTRICULAR E SUPRA-ÓPTICO: EFEITOS DA ADRENALECTOMIA (ADX) E DO ESTRESSE

Maria Theresa Ceravolo Laguna

Orientadora: Profa.Dra. Margaret de Castro
Tese de Doutorado apresentada em 11/07/2006

Introdução: O núcleo paraventricular (NPV) pode ser subdividido em região parvocelular anterior (PaAP), medial (PaMP), posterior (PaPo) e periventricular

cular (Peri) e região magnocelular lateral (PaLM) e medial (PaMM). Neurônios secretores de CRH co-localizam-se com neurônios secretores de vasopressina (AVP) e ocitocina (OT) no PVN. O objetivo deste trabalho foi avaliar a função da AVP e OT na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), após a adrenalectomia (ADX) e estresse de imobilização.

Materiais e Métodos: Em ratos Wistar, determinamos a concentração plasmática de corticosterona (B), ACTH, AVP e OT e o conteúdo de AVP e OT no NPV por RIE. Os animais foram estudados em diferentes períodos (3h, 1, 3 e 14 dias) após ADX, em condição basal e após estresse de imobilização (animais mantidos em cilindro metálico por 1 hora). Em um outro grupo de animais, nas mesmas condições, avaliamos, ainda, a expressão da proteína c-Fos com dupla marcação para AVP ou OT nos núcleos NPV e no supra-óptico (NSO) por imuno-histoquímica. A cirurgia foi realizada sob anestesia com éter. Os ratos ADX receberam salina 0,9 *ad libitum*,

Resultados: Não houve diferença na concentração de AVP plasmática, cuja principal fonte são os neurônios magnocelulares, entre os animais Sham e ADX durante todo o período estudado, em condições basais e após estresse de imobilização. Observamos que o número de duplas marcações para c-fos-AVP nas regiões magnocelulares estudadas não se elevou após ADX. Entretanto, os ratos ADX (1 e 3 dias) mostraram uma diminuição ($p < 0,05$) no conteúdo de AVP no NPV; este conteúdo retornou aos valores do conteúdo dos controles 7 e 14 dias após ADX. O número de duplas marcações para c-Fos-AVP na região PaMP do PVN aumentou ($p = 0,01$) após 3 horas em animais de ADX, em condições basais; aumento ($p < 0,05$) também foi observado em todos os períodos de ADX, após estresse de imobilização. OT plasmática apresentou-se mais elevada, 3h após Sham ($p < 0,02$) e ADX ($p < 0,01$) cirurgias quando comparada aos controles. Animais ADX mostraram concentrações mais

elevadas ($p < 0,03$) que o grupo Sham. A OT plasmática foi liberada após o estresse de imobilização em ambos os grupos. Não houve diferença no conteúdo de OT no NPV nos animais Sham ou ADX, em condições basais e após o estresse, assim como no número de duplas marcações para c-Fos-OT, em nenhuma região do PVN. Entretanto, houve um aumento ($p < 0,05$) no número de duplas marcações c-fos-OT após o estresse nos neurônios do NSO em todos os períodos nos grupos Sham e ADX, sendo o aumento maior no grupo ADX ($p = 0,03$). A expressão da proteína c-Fos aumentou ($p < 0,05$) na região PaMP após 3h, em animais Sham e ADX, com uma maior expressão no grupo ADX ($p = 0,04$); resultados similares foram observados após o estresse de imobilização em ambos os grupos; com maior expressão no grupo de ADX ($p = 0,03$).

Conclusão: Nossos resultados indicam que há diferentes pontos de ajuste do eixo HHA, dependendo do período da retirada do mecanismo de retro-alimentação negativa. A ação dos principais neuro-hormônios na secreção de ACTH secundária à ADX ou ao estresse de imobilização parecem diferir. Enquanto a AVP magnocelular não participa do controle da secreção de ACTH após a ADX, AVP parvocelular parece contribuir. Por outro lado, a OT, hormônio responsivo ao estresse de imobilização em animais Sham ou ADX, é proveniente de neurônios magnocelulares do NSO e pode contribuir para a secreção de ACTH em resposta à ADX. A ativação da proteína c-Fos na região PaMP, em condições basais (3h) e após o estresse, indicam que esta região é a mais importante para a regulação do eixo HHA após ADX e estresse de imobilização. O grande número de neurônios imunopositivos para a proteína c-Fos na região PaMP sem a mesma expressão de dupla marcação para AVP ou OT sugere que outros neuropeptídeos, como o CRH, estão envolvidos na modulação do eixo HHA neste modelo experimental.

PARTICIPAÇÃO DA ANGIOTENSINA II E MAPK(MITOGENIC-ACTIVATED PROTEIN KINASE) NO DESENVOLVIMENTO RENAL PÓS-NATAL DE RATAS WISTAR

Ana Paula Coelho Balbi

Orientadora: Profa. Dra. Terezila Machado Coimbra
Tese de Doutorado apresentada em 03/08/2006

O desenvolvimento renal em ratos e camundongos começa por volta do 11° ou 12° dia de vida intra-uterina e continua até a segunda semana após o

nascimento. A formação de matriz extracelular (MEC) representa um dos eventos-chave na diferenciação de glomérulos. Várias linhas de evidências experimentais mostram que o sistema-renina-angiotensina (SRA) participa do desenvolvimento renal. Muitos sinais são transmitidos da superfície celular para o núcleo através da cascata das MAP (Mitogenic-Activated

Protein) quinases. Esse estudo visa avaliar a expressão das MAP quinases no córtex renal durante o desenvolvimento renal pós-natal e a participação da AII na ativação dessas vias nos filhotes de mães submetidas à uma dieta com conteúdo elevado de sódio ou à exposição ao losartan durante a gestação e amamentação ou somente durante a amamentação. Analisamos também os efeitos desses tratamentos na estrutura e na função renal.

Os filhotes de ratas Wistar de 1, 7, 15 e 30 dias foram divididos em 3 estudos com 2 sub-grupos em cada um: Estudo 1- Controle 1 (C1): filhotes de mães com ingestão normal de NaCl, Experimental 1 (E1): filhotes de mães submetidas à ingestão de solução salina 0,15 M; Estudo 2- Controle 2 (C2): filhotes de mães que receberam solução sacarose 2% durante a gestação e amamentação; Experimental 2 (E2): filhotes de mães que receberam losartan (0,4 g/L) diluído em solução de sacarose 2% durante a gestação e amamentação e Estudo 3- Controle 3 (C3): filhotes de mães que receberam solução sacarose 2% durante a amamentação, Experimental 3 (E3): filhotes de mães que receberam losartan (0,4 g/L) diluído em solução de sacarose 2% durante a amamentação. Os filhotes foram sacrificados em diferentes períodos após o nascimento (1, 7, 15 e 30 dias) e os rins retirados para análise histológica, imunohistoquímica, TUNEL e estudos de Western blot. As avaliações das reações imunohistoquímicas para α -SMA, fibronectina, p-ERK e p-JNK foram feitas através de escores que refletiam a extensão da área com imunorreação. Foram contadas as células PCNA e AII positivas e células apoptóticas por glomérulo e por área de córtex renal de 0,245 mm². A análise da densitometria das bandas obtidas nos estudos de Western blot para AT 1, AT 2, p-p38 e tubulina foi realizada utilizando-se o programa Image J.

As expressões de α -SMA, fibronectina, PCNA, AII e p-ERK no córtex renal foram maiores no primeiro dia após o nascimento e diminuíram com o de-

envolvimento renal. No estudo 1, verificamos redução nas expressões de α -SMA, fibronectina e PCNA no córtex renal dos animais de 1 dia de mães submetidas à dieta com alto conteúdo em sódio quando comparados aos controles de mesma idade. Estas alterações foram acompanhadas por redução no número de células AII positivas no córtex renal desses animais. A expressão de p-ERK foi menor no córtex renal dos animais de 1 dia do grupo E1 comparados aos controles, enquanto que as expressões das MAP quinases p-JNK e p-p38 foram maiores no córtex renal dos animais de 30 dias do grupo E1 quando comparados aos controles. Nestes animais também foi verificado maior número de células apoptóticas. Os animais de 30 dias deste grupo apresentaram redução na taxa de filtração glomerular (TFG) e aumento da pressão arterial quando comparados aos controles de mesma idade. A expressão de receptores AT 1 estava reduzida e a de AT 2 aumentada no córtex renal dos animais de 1 e 30 dias do grupo E1.

O tratamento com losartan durante a gestação e amamentação (Estudo 2), bem como durante a amamentação (Estudo 3) provocou aumento das expressões de α -SMA, fibronectina, PCNA e o número de células apoptóticas no córtex renal dos animais de 15 e 30 dias em relação aos respectivos controles. Os animais de 30 dias do grupo E2 apresentaram também redução da expressão de receptores AT 1 e aumento de receptores AT 2, e alterações na estrutura renal caracterizadas pelo alargamento do espaço intersticial do córtex renal, atrofia e dilatação tubulares. A excreção urinária de albumina estava bastante elevada nos animais de 30 dias do grupo E2. Concluindo, as alterações de estrutura e função renal observadas nos filhotes de mães submetidas a tratamentos que interferem com a atividade do SRA, estavam associadas com as modificações nas expressões dos receptores AT1 e AT2 de AII e de MAP quinases durante o desenvolvimento renal pós-natal.

EFEITO DO JEJUM E DO DIABETES NO METABOLISMO DE CARBOIDRATOS, LIPÍDIOS E PROTEÍNAS EM TILÁPIAS VERMELHAS (*Oreochromis sp*) (TELEOSTEI: CICHLIDAE)

Walter Dias Junior

Orientadora: Profa. Dra. Isis do Carmo Kettelhutt
Tese de Doutorado apresentada em 03/08/2006

As alterações adaptativas no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas induzidas pelo jejum

de 7, 15, 30, 60, 90, 150 e 200 dias de jejum foram investigadas na tilápia vermelha (*Oreochromis sp*), um peixe de água doce bastante comum na região de Ribeirão Preto. Neste estudo foram quantificados nas tilápias os níveis de glicose, ácidos graxos livres e lactato plasmáticos, o conteúdo de glicogênio e lipídios

totais hepáticos e musculares, a liberação de ácidos graxos dos fragmentos do tecido adiposo mesentérico e a degradação de proteína do músculo *protractor hyoidei*. Os níveis plasmáticos de glicose permaneceram constantes até o período de 60 dias de jejum (63 ± 3 mg/100mL) e somente a partir de 90 dias foi observada uma diminuição de 25% da glicemia, a qual foi mantida até 200 dias sem alimento. Os níveis de AGL plasmáticos aumentaram 49, 64 e 90% após 60, 90 e 150 dias sem alimento, respectivamente. O alto conteúdo de glicogênio hepático observado nos animais alimentados ($\approx 15\%$) diminuiu $\approx 50\%$ nos peixes em jejum e se manteve constante até 200 dias sem alimento. Já o glicogênio muscular apresentou uma diminuição de seus valores somente após 60 dias de jejum. O conteúdo de lipídios totais hepáticos aumentou significativamente durante os períodos de jejum atingindo valores de $21 \pm 2\%$ após 200 dias sem alimento e o conteúdo de lipídios totais musculares apresentou uma significativa diminuição após 60 dias sem alimento. Corroborando os níveis de AGL plasmáticos, o jejum provocou um claro aumento na lipólise do tecido adiposo incubado *in vitro*. A adição do IBMX (isobutilmetilxantina, inibidor da fosfodiesterase do AMPc) e do ISO (isoproterenol, agonista β -adrenérgico) ao meio de incubação induziu uma diminuição da lipólise nos peixes alimentados e jejuados, resultado diferente do observado em mamíferos. As tilápias apresentaram uma diminuição de 21% na proteólise total somente após 60 dias de jejum. A via proteolítica dependente de ATP-proteassoma apresentou uma diminuição de aproximadamente 48% nos períodos de 60, 90 e 150 dias de jejum, mostrando uma participação na diminuição da proteólise total, observada principalmente após 60 dias sem alimento. Este dado mostra ocorrer uma importante adaptação do animal para preservação da proteína muscular e sobrevivência do peixe em situa-

ções prolongadas de privação alimentar.

As tilápias que receberam aplicação endovenosa de 150mg de aloxana/Kg PC apresentaram um aumento na glicemia de 5,5 vezes 48 horas após a administração da droga, atingindo valores médios de 330 ± 10 mg/100mL. Já os níveis plasmáticos de AGL aumentaram $\approx 26\%$ em relação aos controles, somente depois de 96 horas da aplicação da aloxana e 60% após 5 dias de diabetes. Os níveis plasmáticos de lactato aumentaram aproximadamente 80% 120 horas após injeção da aloxana. Dentre os parâmetros teciduais quantificados somente o glicogênio hepático dos peixes diabéticos apresentou uma diminuição de 63%. O diabetes experimental estimulou a lipólise do tecido adiposo mesentérico, tanto na condição basal como na presença de IBMX e ISO. Na condição basal o aumento da lipólise foi de 84%. Já os controles, na presença das drogas, surpreendentemente foi observada uma diminuição da lipólise aproximadamente 38% quando comparada com os valores basais. A degradação de proteína do músculo *protractor hyoidei* das tilápias diabéticas teve um significativo aumento de 33% em relação às controle e a participação da via proteolítica dependente de ATP-proteassoma teve um aumento de 49% nos peixes diabéticos.

Esses dados mostram que as alterações do metabolismo energético nesta espécie de peixe são semelhantes às que ocorrem em mamíferos (apesar da menor velocidade e magnitude de resposta), com exceção do controle simpático da lipomobilização, que parece exercer um papel inibitório na lipólise do tecido adiposo da tilápia. Vale a pena ressaltar que este é o primeiro trabalho que demonstrou, com metodologia apropriada, a presença do sistema proteolítico dependente de ATP-proteassoma em músculo de tilápia e ter a insulina um papel inibitório da proteólise muscular nesta espécie de peixe.

CONTROLE DA GERAÇÃO DE GLICEROL-3-FOSFATO NO TECIDO ADIPOSE DE RATOS ADAPTADOS À DIETA HIPERPROTÉICA, LIVRE DE CARBOIDRATOS. PAPEL DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO

Renata Polessi Boschini

Orientador: Prof. Dr. Renato Hélio Migliorini
Dissertação de Mestrado apresentada em 15/08/2006

O objetivo do presente trabalho foi verificar os efeitos da desnervação simpática na geração de gli-

cerol-3-fosfato (G3P) em ratos adaptados a uma dieta hiperprotéica, livre de carboidratos (HP). Foram examinadas as três vias metabólicas de geração de G3P: via glicolítica, estimada pela captação de glicose, via gliceroneogênica, avaliada pela incorporação de piruvato em glicerol de triacilglicerol (TAG) e pela ativi-

dade da fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK), e via fosforilação direta do glicerol, avaliada pela incorporação de glicerol em glicerol—TAG e pela atividade da gliceroquinase (GK). Foram utilizados como controles dos ratos HP, ratos alimentados com uma dieta balanceada, rica em carboidratos. Os dois grupos foram submetidos à desnervação cirúrgica unilateral do tecido adiposo branco (TAB) retroperitoneal, tendo o tecido contralateral intacto como controle. Foi verificado ainda se no TAB, da mesma forma que no tecido adiposo marrom (TAM), a GK é controlada diretamente pelo sistema nervoso simpático (SNS) nos animais adaptados à dieta HP. Para isso, foram também realizados experimentos com infusão prolongada de agonistas adrenérgicos em ratos alimentados com uma dieta comercial.

O peso do TAB retroperitoneal encontrava-se reduzido nos animais HP em relação aos animais controle. A desnervação não alterou este parâmetro. A gliceroneogênese no TAB retroperitoneal intacto (inervado) dos ratos HP estava elevada e a via glicolítica e a GK encontravam-se reduzidas. A desnervação ativou a via glicolítica e inibiu a gliceroneogênese e a

GK. Nos experimentos de infusão, a atividade da GK foi estimulada pela administração prolongada de 72 horas de noradrenalina e agonista β_3 -adrenérgico específico.

Em resumo:

- Os resultados obtidos no TAB retroperitoneal intacto (inervado), nos animais adaptados à dieta HP, confirmam achados prévios da diminuição da utilização de glicose e do aumento da gliceroneogênese nestes animais. Os dados mostram também que a fosforilação direta do glicerol pela GK (que não havia sido ainda avaliada), encontra-se reduzida.
- A redução da atividade da GK observada no tecido desnervado de ratos HP e os resultados dos experimentos de infusão com uma dieta comercial, sugerem que no TAB, como no TAM, a atividade desta enzima está sob controle do SNS, atuando através de receptores β_3 -adrenérgicos no tecido.
- O aumento da produção de G3P pela via glicolítica no TAB retroperitoneal desnervado de ratos HP, que foi acompanhada pela queda da gliceroneogênese, se deve provavelmente a um aumento da sensibilidade do tecido à insulina.

ANÁLISE DA NEURODEGENERAÇÃO PELA HISTOQUÍMICA DE FLUORO-JADE APÓS STATUS EPILEPTICUS INDUZIDO POR PILOCARPINA INTRAHIPOCAMPAL EM RATOS WISTAR

Olagide Wagner de Castro

Orientador: Prof.Dr. Norberto Garcia-Cairasco

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/09/2006

A epilepsia é uma síndrome neurológica que atinge entre 1 a 1,5% da população brasileira. De maneira geral, a epilepsia é caracterizada principalmente pela hiperexcitabilidade e hipsincronismo de estruturas encefálicas correlacionadas com sua etiologia. As crises epilépticas são distúrbios crônicos caracterizados por disfunção cerebral, devido à descarga neural excessiva, com manifestações clínicas que podem variar desde anomalias complexas de comportamento, que incluem convulsões generalizadas ou focais, até crises momentâneas de distúrbio de consciência. Para que possamos compreender os mecanismos subjacentes às síndromes epilépticas que acometem o homem, utilizamos modelos experimentais, cada qual com suas peculiaridades, mimetizando os diferentes tipos de síndromes. Não há dúvidas de que os modelos experi-

mentais nos fornecem somente pistas de como a maquinaria biológica funciona, no entanto eles são as ferramentas mais usadas para a elucidação de mecanismos envolvidos na gênese, manutenção e evolução das diversas epilepsias. Um modelo clássico de indução de epilepsia experimental é o de Status Epilepticus (SE) induzido por injeção sistêmica de pilocarpina (PILO). Após esta injeção, o animal apresenta crises convulsivas repetidas e mantidas durante 60 minutos ou mais, o que leva a diminuição da densidade de células em varias regiões cerebrais principalmente no hipocampo e a crises recorrentes espontâneas (CRE). Recentemente tem-se estudado em nosso laboratório uma variação deste modelo: a injeção central (intrahipocampal) de PILO ao invés da sistêmica, o que permite ação local da droga e diminui assim os danos sistêmicos provocados pela PILO, e diminui também a mortalidade dos animais. Apesar do modelo de injeção central de PILO induzir o mesmo tipo de crise do modelo de injeção sistêmica, até o momento não há relatos detalha-

dos sobre as alterações comportamentais do SE e das mudanças morfológicas no hipocampo após SE induzido pela injeção intrahipocampal de PILO em ratos. Os objetivos do presente trabalho são, então, quantificar a neurodegeneração no hipocampo de animais submetidos à injeção central de PILO, e tentar correlacionar esta variável com a severidade das crises apresentadas durante o SE. Ratos Wistar receberam PILO por via intrahipocampal e foram analisados quanto à gravidade das crises convulsivas durante o SE, segundo a escala de Racine (1972) modificada por Pinel e Rovner (1978). Os animais foram divididos em grupos e sacrificados em diferentes tempos após o SE (12, 24, e 168 horas). Foi feita avaliação histológica das alterações teciduais decorrentes do SE, enfocando áreas límbicas. Para isso, foram utilizadas as histoquí-

micas de Nissl e Fluoro-Jade (FJ), para quantificar neurônios em degeneração. Os animais perfundidos 12 h após SE tiveram maior padrão de neurodegeneração no hilus do giro denteado. Os animais do grupo 24 h tiveram maior padrão de neurodegeneração em CA3 e finalmente o grupo 168 horas pos SE obteve maior padrão de neurodegeneração em CA1. Não houve correlação direta entre a gravidade das crises e a neurodegeneração. A microinjeção intrahipocampal de PILO induz SE comportamental e neurodegeneração detectada 12, 24 e 168 horas após SE no hilus do GD e nas células piramidais das regiões CA1 e CA3, com padrões seletivos de lesão para cada janela temporal. O uso do FJ neste modelo é importante para a caracterização da cinética da neurodegeneração, um dos fatores críticos na ELT.

GENÉTICA

ESTUDO DE GENÉTICA MOLECULAR EM OSTEOCONDRODISPLASIAS E CRANIOSSINOSTOSES SÍNDRÔMICAS COM MUTAÇÕES NO GENE FGFR3

Daniela Ortolan

Orientador: Prof. Dr. João Monteiro de Pina Neto
Tese de Doutorado apresentada em 18/07/2006

O gene FGFR3, o qual está mapeado na região 4p16.3, possui papel importante no desenvolvimento craniofacial e dos membros, associados a uma variedade de fenótipos diferentes. Mutações neste gene resultam em osteocondrodisplasias como a acondroplasia, a hipocondroplasia, a displasia tanatofórica e, também, craniossinostoses como as síndromes de Crouzon, Muenke, Pfeiffer e Saethre-Chotzen. As osteocondrodisplasias são um grupo de patologias clínica e geneticamente heterogêneas, atingindo um número considerável de famílias em todo o mundo. No Brasil a prevalência foi estimada em 2.3 por 10.000 indivíduos. São caracterizadas pelo crescimento e remodelamento anormal das cartilagens e ossos, sendo os indivíduos afetados portadores de baixa estatura desproporcionada e de anormalidades esqueléticas afetando a cabeça, a coluna vertebral e as extremidades em vários graus. Já as craniossinostoses representam um grupo heterogêneo de doenças genéticas

não apenas pelas múltiplas possibilidades de combinação de suturas acometidas, mas também das inúmeras associações com outros desvios do fenótipo morfológico externo que podem acontecer. Este trabalho teve como objetivo estudar as mutações no gene FGFR3 em 111 indivíduos com osteocondrodisplasias, sendo 90 casos esporádicos e 21 pertencentes a 10 famílias e, em 21 indivíduos com craniossinostoses síndrômicas, sendo 12 casos esporádicos e nove casos pertencentes a quatro famílias. Entre os casos com osteocondrodisplasias 80 apresentavam acondroplasia, 22 eram hipocondroplásicos e oito apresentavam displasia tanatofórica. Entre os casos de craniossinostoses, 14 apresentavam a síndrome de Saethre-Chotzen, três apresentavam a síndrome de Crouzon, três apresentavam a síndrome de Pfeiffer e um caso apresentava a síndrome de Muenke. Para a análise das mutações do gene FGFR3, inicialmente utilizou-se amplificação dos segmentos de DNA por PCR e triagem por SSCP do exon 10 para os casos de acondroplasia e exon sete para os casos de displasia tanatofórica tipo I e craniossinostoses. Posteriormente, foi realizada uma análise por RFLP do gene FGFR3 para as

mutações descritas na literatura nessas patologias. Os casos de hipocondroplasia e displasia tanatofórica tipo II, foram estudados inicialmente pela técnica de RFLP para o gene FGFR3. Nos casos de acondroplasia e hipocondroplasia em que não encontramos a mutação pelas técnicas de SSCP e RFLP, o gene FGFR3 foi totalmente sequenciado. Nos 80 casos de acondroplasia estudados molecularmente, foram encontradas em 79 casos a mutação, onde 75 apresentaram a mutação G1138A, dois apresentaram a mutação G1138C, um paciente apresentou a mutação G1123T e outro paciente apresentou a mutação C1150T, todas as mutações localizadas no domínio transmembrânico da proteína. Dos 22 casos de hipocondroplasia estudados, encontramos 14 pacientes com mutação C1620G e sete pacientes com a mutação C1620A, ambas resultando na troca de lisina em asparagina no códon 540 (N540K) no domínio de tirosina-quinase. Os casos de displasia tanatofórica perfazem sete casos de displasia tanatofórica tipo I, sendo todos com a mutação C742T e dois casos de displasia tanatofórica tipo II com a mutação A1948G. Entre os 21 propósitos com craniossinostoses síndromicas estudados molecularmente, foram identificadas três mutações heterozigotas (14,3%) detectadas no exon sete do gene FGFR3, sendo uma mutação encontrada em um paciente com a síndrome de

Muenke e três mutações encontradas em pacientes com síndrome de Saethre-Chotzen. A amostra estudada indica que as mutações encontradas em pacientes brasileiros com osteocondrodisplasias, são semelhantes à descrita para pacientes europeus e de alguns países asiáticos, sendo que as mutações G1138A e G1138C são as mais frequentes entre os casos de acondroplasia e as mutações C1620G e C1620A são as mais frequentes entre os casos de hipocondroplasia. Como também a mutação C742T é a mais frequente entre os casos de displasia tanatofórica tipo I. Nos casos de osteocondrodisplasias, sendo um caso de acondroplasia e um caso de hipocondroplasia, em que não foram detectadas a mutação nesse gene, não se pode descartar a hipótese de mutações situadas em regiões de introns que, dependendo da amplitude da PCR, não são amplificadas e escapam a qualquer análise por sequenciamento. Como também, o envolvimento de outros genes ainda não descritos, resultando no fenótipo clínico. Nos pacientes com síndrome de Crouzon, Pfeiffer e Saethre-Chotzen, sugerimos o estudo molecular do gene FGFR2 principalmente das regiões IgIIIa e IgIIIc, em que se concentra o maior número de mutações relacionados a craniossinostoses. Recomendamos, também, a análise do gene TWIST em pacientes com a síndrome de Saethre-Chotzen.

POLIMORFISMOS GENÉTICOS, SUSCEPTIBILIDADE E RESPOSTA AO TRATAMENTO EM CRIANÇAS PORTADORAS DE LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA

Vanessa da Silva Silveira Andrade

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Tone

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/08/2006

As leucemias constituem o câncer mais comum da infância, representando 30% de todas as neoplasias infantis. Dentre elas, a leucemia linfoblástica aguda (LLA) é a mais frequente, atingindo 75% dos casos pediátricos de leucemias. A ocorrência da LLA tem sido relacionada com a exposição a alguns fatores ambientais (químico, físico e biológicos) e maternos (uso de drogas e dieta) tanto no desenvolvimento intra-útero como após o nascimento. No entanto, o processo de leucemogênese, particularmente com relação à importância da susceptibilidade genética herdada e fatores ambientais, ainda não foi elucidado. As enzimas do citocromo P450 (CYP), assim como outras

enzimas das fases I e II do metabolismo estão envolvidas na biotransformação de uma variedade de xenobióticos presentes na alimentação, no cigarro, nas drogas, nas bebidas alcoólicas e nos poluentes ambientais. Polimorfismos em genes responsáveis por codificar essas enzimas de metabolismo têm sido associados com um aumento na susceptibilidade a diferentes tipos de câncer e a doenças hematológicas em adultos e crianças. Similarmente, a capacidade diferencial de crianças portadoras de leucemia aguda para metabolizar carcinógenos e drogas quimioterápicas, a qual é influenciada pelos polimorfismos dos genes que codificam enzimas de metabolização, podem modificar a resposta à terapia. Sendo assim, é importante a realização de investigações epidemiológicas moleculares em crianças portadoras de leucemia, pois estes estudos poderão fornecer informações sobre a etiologia e os mecanismos que levam a esta doença, e so-

bre as respostas adversas ou inadequadas a certos agentes terapêuticos, com o intuito de buscar tratamentos mais específicos e eficazes. O presente trabalho teve por objetivo estimar a frequência dos polimorfismos dos genes *CYP2D6*, *EPHX1*, *MPO* (responsáveis pelo metabolismo de xenobióticos) e *TS* (associado à síntese de DNA) e investigar a associação destes polimorfismos com o efeito do tratamento quimioterápico. Foram genotipados através da técnica de PCR-RFLP 132 pacientes portadores de LLA e 300 indivíduos controles. Analisando o gene *CYP2D6* foi observada uma prevalência significativa do alelo *CYP2D6**3 no grupo dos pacientes. Em relação ao gene *EPHX1*, o alelo polimórfico *2 foi mais frequen-

te no grupo de indivíduos controles, assim como a repetição tripla (3R) do gene *TS*. O genótipo heterozigoto para o gene *TS* e o homozigoto selvagem para o gene *MPO* foram mais frequentes em indivíduos do sexo feminino, sugerindo uma associação destes genótipos com o sexo. Não foi encontrada nenhuma associação dos polimorfismos estudados com a resposta ao tratamento quimioterápico. Com base nestes dados, é possível sugerir uma associação destes polimorfismos com a susceptibilidade ao desenvolvimento da LLA, destacando a importância da sua determinação para o prognóstico bem como para o caráter preventivo relacionado ao risco aumentado de doenças associadas à exposição ambiental.

EXPRESSÃO GÊNICA EM *XANTHOMONAS AXONOPODIS* PV *CITRI* CONTROLADA POR PROMOTORES INDUZIDOS PELA PLANTA HOSPEDEIRA

Flávia Maria de Souza Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Jesus Aparecido Ferro

Tese de Doutorado apresentada em 21/08/2006

O cancro cítrico, causado pela bactéria Gram negativa *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (*Xac*) é considerado uma das principais doenças da citricultura nacional e mundial, devido à susceptibilidade do hospedeiro e por não existirem métodos de controle eficientes. Dados da literatura relatam que alguns genes de bactérias fitopatogênicas possuem uma sequência consenso de nucleotídeos (TTCGC...N15...TTCGC) denominada "PIP box" ou "plant-inducible-promoter box", localizada na região promotora e responsável pela ativação da expressão de fatores de patogenicidade e virulência quando o patógeno entra em contato com a planta hospedeira. O objetivo deste trabalho foi mapear e investigar no genoma da *Xac* a expressão de genes contendo seqüências do tipo "PIP box", a 5' da ORF ou internamente na região codificadora, através da técnica de macroarranjo. Com auxílio de uma ferramenta de bioinformática (script PERL), 208 seqüências consenso para o elemento cis-regulatório "PIP box" foram mapeados no genoma da *Xac*, e clones contendo seqüências codificadoras associadas aos promotores do tipo "PIP box" foram recuperados do banco de clones gerado pelo projeto de seqüenciamento da bactéria e validados por seqüenciamento. Os DNAs plasmidiais representando cada clone foram preparados e imobilizados em membranas de ná-

ilon (macroarranjo), as quais foram hibridadas com sondas de cDNAs marcadas com [³²P] dCTP e obtidas a partir de RNA total extraído da bactéria em estágio não infectante (cultivada em meio de cultura Caldo Nutriente – meio CN) e da bactéria infectante (cultivada por 12 horas ou 20 horas em meio XAM1 indutor de patogenicidade e virulência, ou coletada por exsudação 3 dias ou 5 dias após inoculação em folhas de laranjeira). A análise da expressão dos genes contendo promotores "PIP box" putativos revelou 67 genes diferencialmente expressos quando a bactéria teve o seu programa de infecção disparado (indução "in vitro" ou "in vivo"). A validação dos resultados de macroarranjo foi realizada para alguns dos genes por meio de RT-PCR semi-quantitativo e a funcionalidade da sequência "PIP box" para alguns promotores foi demonstrada através do gene repórter GUS. Os genes com expressão diferencial foram classificados segundo a função biológica das respectivas proteínas codificadas e estão envolvidos em processos tão distintos quanto sistema de secreção tipo III, metabolismo de membrana e parede celular, sistema de captação de ferro, metabolismo de açúcares e degradação da parede vegetal, transdução de sinais, metabolismo de flagelo, formação de biofilme e adesividade, metabolismo de ácidos nucléicos, transportadores de membrana, metabolismo energético e resposta a estresse ambiental. O possível papel destas modificações para a interação planta-patógeno e a instalação do cancro cítrico é discutida.

APLICAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES NA CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DE DOIS GRUPOS DE MACACOS-PREGO (*CEBUS APELLA NIGRITUS*) DA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DE RIBEIRÃO PRETO – MATA DE SANTA TERESA – RIBEIRÃO PRETO, SP

Jeanne Margareth Jimenes Amaral

Orientador: Prof. Dr. David De Jong

Tese de Doutorado apresentada em 31/08/2006

Há vários trabalhos utilizando-se microsatélites para a caracterização genética de espécies de primatas do Velho Mundo. Entretanto, as espécies do Novo Mundo são pouco estudadas e não há nenhum trabalho com *Cebus apella* de vida livre. Esta ausência se deve, em parte, à falta de polimorfismos descritos para esta espécie. O objetivo deste trabalho foi caracterizar dois grupos de macacos-prego, *Cebus apella nigrinus*, que habitam a Estação Ecológica de Ribeirão Preto, Mata Santa Teresa, um fragmento de 156ha inserido na zona semi-urbana no município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. Os resultados mostram que os alelos PEPC8*4 (0,411), PEPC3*2 (0,357), SB19*2 (0,343) são os mais freqüentes no grupo A, os alelos PEPC8*1 (0,469), PEPC3*4 (0,316) e SB19*3 (0,50), no grupo B e os alelos PEPC59*1 (0,557 e 0,55, respectivamente) e SB38*8 (0,343 e 0,40, respectivamente) são freqüentes em ambos os grupos. O grupo

A apresentou desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg em todos os *loci* analisados. O grupo B apresentou desvio do equilíbrio de nos *loci* SB38 e SB 19 e foi encontrado déficit de heterozigotos no *loci* SB19 e SB38. A diversidade gênica (H_s) variou de 0,619 no *locus* PEPC59 a 0,787 no *locus* SB38 no grupo A e de 0,612 no *locus* PEPC59 a 0,778 no *locus* PEPC3 no grupo B. Considerando-se os dois grupos para todos os *loci*, a diversidade gênica média (H_s) foi de 0,718. Os valores encontrados para os coeficientes de endogamia F_{IS} (dentro de uma população) para os grupos A e B foram de 0,395 e 0,245, respectivamente, ambos significativos. O valor de F_{IS} também foi significativo (0,342) quando os indivíduos dos dois grupos foram considerados como uma única população. Embora os grupos se comportem como populações diferentes, apenas os *loci* PEPC3 e SB19 foram capazes de diferenciar os dois grupos entre si na comparação gênica e genotípica. Estes resultados são corroborados pelo índice de diferenciação interpopulacional (F_{ST}) e pelo coeficiente de diferenciação genética (G_{ST}'), que também não diferenciaram os dois grupos (0,022 e 0,015, respectivamente).

DIVERSIDADE DO DNA MITOCONDRIAL DE POPULAÇÕES BRASILEIRAS AMERÍNDIAS E AFRODESCENDENTES

Luzitano Brandão Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Aguinado Luiz Simões

Tese de Doutorado apresentada em 01/09/2006

A população brasileira apresenta grande diversidade genética, devido à sua formação, que contou com a participação de três grandes grupos étnicos (europeus, africanos e ameríndios), cuja contribuição se fez de forma desigual pelas diferentes regiões do País. No Brasil, ainda hoje, existem populações semi-isoladas de ameríndios e afrodescendentes que preservam, em graus variados, seus aspectos culturais e genéticos. Estas populações constituem-se importantes fontes de informação sobre estes grandes grupos étnicos fundadores da população brasileira. Com o intuito de verificar a diversidade do mtDNA e o grau de miscigenação de populações brasileiras ameríndias e

afrodescendentes, foram analisadas amostras de 392 indivíduos não aparentados pertencentes a seis comunidades ameríndias Pataxó (Boca da Mata, n=61; Barra Velha, n=39; Águas Belas, n=20; Pires, n=21; Imbiriba, n=17; Coroa Vermelha, n=26) e quatro remanescentes de quilombos (Kalunga, n=60; Mocambo, n=51; Rio das Rãs, n=71 e Riacho de Sacutiaba, n=26). Foram examinados ao todo 23 RSPs e uma inserção/deleção, responsáveis pela caracterização dos principais haplogrupos ameríndios, africanos e europeus do DNA mitocondrial. Com relação aos ameríndios, os resultados obtidos demonstram haver uma homogeneidade entre as aldeias Pataxó, 12,5% de contribuição africana e uma maior proximidade com populações ameríndias do Brasil Central, especialmente a tribo Kraho, que possui a mesma afiliação lingüística dos Pataxó. Já as comunidades afrodescendentes demonstraram heterogeneidade entre si e 15,6% de contribuição amerín-

dia. Os dados genéticos obtidos no presente estudo corroboram os dados históricos que sugerem a formação destas comunidades a partir de indivíduos provenientes das regiões Centro-Oeste e Sudeste africanas. Mais especificamente, Kalunga e Rio das Rãs a partir de indivíduos provenientes de Angola e Riacho de Sacutiaba a partir de indivíduos de Moçambique. Ao analisarmos os resultados do presente estudo com dados da literatura, percebe-se grande heterogeneidade entre as diferentes regiões brasileiras com relação ao componente africano do mtDNA e uma origem pre-

dominante a partir de indivíduos oriundos da região Centro-Oeste africana. Estimativas de mistura étnica (baseadas em Y-STRs), realizadas por outros pesquisadores, nestas mesmas comunidades ameríndias e afrodescendentes, demonstraram grande contribuição européia. Assim, ao compararmos estes últimos resultados com os do presente estudo, verificou-se que nestas comunidades ocorreram os mesmos padrões relacionados em populações urbanas, onde foram observadas uniões preferenciais entre homens europeus e mulheres ameríndias ou africanas.

ESTUDO DOS GENES DE RESISTÊNCIA ÀS DROGAS *MDR1*, *MRP1*, *MRP3*, *BCRP* E *LRP* EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES PORTADORES DE LEUCEMIA AGUDA POR MEIO DA TÉCNICA DE PCR EM TEMPO REAL

Maria Angélica A. de Freitas Cortez

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Tone

Dissertação de Mestrado apresentada em 01/09/2006

Uma das causas mais importantes da falha no tratamento das leucemias agudas em crianças é a resistência intrínseca ou adquirida aos quimioterápicos estruturalmente e funcionalmente não relacionados. Vários mecanismos celulares podem levar a resistência à multidrogas. O mecanismo mais bem estudado é o efluxo de compostos citotóxicos mediado por proteínas transmembrana que levam a diminuição do acúmulo celular da droga e da sua toxicidade. Várias bombas de efluxo relacionadas à MDR foram caracterizadas. A maioria delas pertencem à superfamília de transportadores ABC. Dos membros dessa família, a proteína MDR melhor caracterizada é P-glicoproteína (P-gp) codificada pelo gene *MDR1* (*ABCB1*). Outros membros da família de transportadores ABC relacionados ao fenótipo de MDR foram descritos, como *MRP1* (*ABCC1*), *MRP3* (*ABCC3*) e *BCRP* (*ABCG2*). A *LRP* (*MVP/VAULT*) é uma proteína que não pertence à superfamília de transportadores ABC, mas também está relacionada à resistência celular as drogas em alguns tumores. Contudo, o exato valor clínico das proteínas MDR nas leucemias agudas infantil não está claro. Os objetivos do trabalho foram avaliar e comparar a expressão dos genes *MDR1*, *MRP1*, *MRP3*, *BCRP* e *LRP* em crianças e adolescentes com LLA e LMA ao diagnóstico e na recidiva, através da

técnica de PCR quantitativo em tempo real (RQ-PCR) e correlacionar seus níveis de expressão gênica com prognóstico e variáveis clínicas. Foram analisadas, retrospectivamente, 58 amostras de medula óssea de pacientes de zero à dezoito anos portadores de LLA ao diagnóstico e 8 amostras obtidas na recidiva da doença. Adicionalmente, foram analisadas 19 amostras de medula óssea de pacientes de zero à dezoito anos portadores de LMA ao diagnóstico e 7 amostras na recidiva da doença. Não houve correlação entre a presença do antígeno de superfície CALLA, doença residual mínima no vigésimo oitavo dia da indução, resposta ao tratamento, grupo de risco na LLA e a expressão dos genes *MDR1*, *MRP1*, *MRP3*, *BCRP* e *LRP*. A expressão dos genes de resistência às drogas avaliados não apresentaram associação com a sobrevida livre de eventos tanto nas amostras de pacientes com LLA e LMA. Os pacientes com LMA apresentaram valores de expressão gênica significativamente superiores aos de LLA para os genes *MDR1* ($P=0,001$), *MRP3* ($P=0,02$) e *LRP* ($P=0,001$). O estudo das recidivas mostrou padrões variáveis de expressão dos genes de resistência, demonstrando que possivelmente vários eventos em nível molecular estão envolvidos na aquisição do fenótipo de MDR. Na avaliação estatística entre os níveis de expressão dos genes *MDR1*, *MRP1*, *MRP3*, *BCRP* e *LRP* entre as amostras de diagnóstico e de recidiva na LMA foi observado diferença significativa para o gene *MRP3* ($P=0,03$). A expressão do gene *MRP3* pode estar envolvida na resistência às drogas na LMA.

DIVERSIDADE DO mtDNA EM REGIÃO COM MALÁRIA ENDÊMICA DA AMAZÔNIA OCIDENTAL BRASILEIRA

Maria Izabel Ovellar Heckmann

Orientador: Prof. Dr. Aguinaldo Luiz Simões

Tese de Doutorado apresentada em 15/09/2006

Historicamente, a dinâmica demográfica da região Amazônica esteve sempre condicionada aos períodos de prosperidade e decadência econômica por ela experimentado, que eram acompanhados de fluxos e refluxos de migrações, o que ocasionou diversos gargalos populacionais. Considerada uma das áreas de mais antiga ocupação européia no Brasil (Ribeiro, 1995), os primeiros relatos sobre a ocupação dessa região datam de 1650 (Teixeira e Ribeiro da Fonseca, 1998), instalando-se ali jesuítas, soldados portugueses, escravos e colonos portugueses, formando núcleos de ocupação permanente (Pinto, 1993). Entretanto, esta colonização ocorreu de maneira pouco significativa à época, vindo realmente a ser ocupada através de novas fronteiras de civilização em meados da década de 70 (Martine, 1994). Em um país com proporções Continentais, como o Brasil, os estudos preliminares que determinaram frequências de linhagens do mtDNA são poucos, sobretudo os referentes a populações urbanas são raros. Portanto, os resultados obtidos não refletem a história de povoamento do território brasileiro como um todo. Foram estimadas as frequências de linhagens comuns de mtDNA, foram analisadas cinco amostras da população urbana da cidade de Porto Velho: (1) 67 indivíduos de Candelária que são descendentes de trabalhadores da Estrada de Ferro Madeira Mamoré, (2) 30 indivíduos de Bate Estaca bairro vizinho a Candelária, (3) 30 indivíduos de São Carlos, distrito ribeirinho de Porto Velho, (4) 306 mulheres que procuraram o serviço da maternidade do Hospital de Base e (5) 31 doadores aceitos ou não pelo banco de sangue (Hemeron), e duas amostras de remanescentes de quilombos: 24 de Pedras Negras e

11 de Santo Antônio. Foram analisados 18 haplogrupos do mtDNA pelo técnica de PCR-RFLP, que caracterizam as linhagens mais frequentes do entre ameríndios, europeus e africanos. As frequências dos haplogrupos do mtDNA indicam que a contribuição Ameríndia é predominante tanto na região de Porto Velho (62,5%) quanto nos remanescentes de quilombos do Vale do Guaporé (57,2%). É seguida pela contribuição africana, e em poucas proporções a contribuição européia, tanto em Porto Velho quanto entre os Remanescentes de quilombos. Os valores de F_{ST} revelam que as amostras são homogêneas entre si. Já o teste de diferenciação populacional indicou diferenças entre as amostras de Porto Velho e os remanescentes de quilombos do Vale do Guaporé. As proporções relativas dos haplogrupos característicos de ameríndios mostraram similaridade entre as amostras do presente estudo e os ameríndios Parakanãs, Wai Wai e Kanamarí da Amazônia, Quéchuas do Peru, Yurucarés da Bolívia e os Krahos do Brasil Central. A presença dos haplogrupos H, J e K evidenciam a contribuição européia, provavelmente Portuguesa e Espanhola, para a formação das populações desta região, mas as análises não revelaram similaridade entre as proporções relativas dos haplogrupos considerados marcadores europeus com aquelas das populações européias atuais. Os valores de F_{ST} e os testes de diferenciação apresentaram similaridade entre as amostras do presente estudo e populações da Angola, São Tomé e Príncipe e Moçambique. Do mesmo modo indicam ausência de similaridade com populações da região Norte da África. As estimativas de diferenciação populacional e os valores de F_{ST} indicaram que os remanescentes do Vale do Guaporé são mais similares aos remanescentes do estado do Pará. Em relação aos remanescentes revelam que as contribuições ameríndias e africanas são predominantes.

ALTERAÇÕES CELULARES E MOLECULARES OBSERVADAS EM RESPOSTA AO QUIMIOTERÁPICO TEMOZOLOMIDA EM LINHAGEM ASTROCÍTICA (U343 MG-a) TRANSFECTADA COM O GENE *CDKN2A* (*P16^{INK4A}*)

Marcelo de Oliveira Bahia

Orientadora: Profa Dra. Elza Tiemi Sakamoto-Hojo

Tese de Doutorado apresentada em 22/09/06

A quimioterapia, junto com a radioterapia, são os tratamentos adjuvantes mais comuns para o tratamento de pacientes com gliomas, havendo, portanto,

um grande interesse na investigação da influência desses agentes em várias classes de genes e de como esta relação pode contribuir para a iniciação e progressão dos gliomas. Atualmente, os microarranjos de DNA têm sido largamente utilizados para estudos de expressão gênica em grande escala. Assim sendo, objetivamos com o presente estudo, analisar os perfis de expressão gênica, induzidos pelo quimioterápico temozolomida (TMZ), em uma linhagem celular de astrocitoma, U343 MG-a (U343), transfectada com um sistema de regulação transcricional do gene *CDKN2A* (*p16^{ink4a}*) controlado por tetraciclina, que permite a análise sob condições do gene ativado ou reprimido. Além disto, outros parâmetros, tais como: citotoxicidade, sobrevivência celular, cinética do ciclo celular e indução de apoptose também foram avaliados.

A linhagem transfectada mostrou uma elevada resistência ao tratamento com TMZ independentemente da expressão do gene *p16*, com níveis de sobrevivência clonogênica se mantendo em torno de 49% (com *p16* não-expresso) e 85% (com *p16* expresso) na maior concentração testada (320 µM). No entanto, o tratamento com concentrações variando de 20 a 320 µM induziu uma redução significativa na capacidade reprodutiva das linhagens U343 e clone 88 (linhagens-controle). A indução de apoptose não foi verificada em nenhuma das concentrações e tempos de coleta avaliados e em nenhuma das linhagens. A TMZ ainda induziu na linhagem U343 um significativo bloqueio nas fases S do ciclo celular já nas primeiras 24 h pós-tratamento em todas as concentrações testadas, efeito não observado na linhagem transfectada no estado *p16* induzido.

A análise de expressão gênica diferencial por micro-arranjos de cDNA em resposta à ativação de *CDKN1A* (*p16*) mostrou a inibição de diversos genes ligados à cascata de sinalização WNT (*FZD6*, *RYK*,

CTNNB1 e *WNT10*), envolvida na transcrição de muitos genes que induzem a proliferação celular, além da repressão de genes com atividades pró-apoptóticas (*BCL2L*, *GZMB*, *PDCD10* e *SEMA3A*). Além disso, vários genes relacionados com alterações no citoesqueleto também foram diferencialmente expressos, o que está de acordo com as alterações morfológicas observadas nas células após a indução de *p16*.

Adicionalmente, a análise de expressão gênica em resposta ao quimioterápico TMZ em células com o gene *p16* ativado mostrou a repressão de genes, direta ou indiretamente relacionados com a proliferação celular, no tempo de 24 h (*EIGF41*, *CDCA5*, *PTOVI* e *SHC1*) e 48 h (*CDC40*, *CCNG1* e *CTNNB1*) pós-tratamento. Genes de resposta ao dano (*H2AX*) foram reprimidos em 24 h pós-tratamento, enquanto genes inibidores da proliferação celular (*ING1* e *IGFBP4*) foram induzidos em 48 h.

De forma global, a expressão diferencial de múltiplos genes, juntamente com os outros parâmetros avaliados, evidenciam que o bloqueio em G1 imposto por *p16* permanece mesmo após o tratamento com a TMZ, impedindo seu efeito citotóxico, conseqüentemente tornando as células refratárias à droga. Tais informações apresentam importante implicação terapêutica.

Múltiplas vias de sinalização celular e molecular podem desencadear o processo de tumorigênese, bem como direcionar os mecanismos de respostas das células tumorais aos agentes anticâncer. Em consequência, os eventos mutacionais ocorridos no desenvolvimento das neoplasias são fatores determinantes das respostas a terapias, além do *background* genético dos pacientes. O presente estudo sobre as vias de sinalização celular e molecular em linhagens de glioma fornece importantes informações e implicações direcionadas ao desenvolvimento e aprimoramento de terapias para os pacientes com gliomas.

GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

PAPEL DO ENDOTÉLIO NA REATIVIDADE VASCULAR DE RATAS COM HIPERTENSÃO ESPONTÂNEA AO TÉRMINO DA GESTAÇÃO

Ricardo Barbelli Feitosa

Orientadora: Profa.Dra. Maria Cristina de O. Salgado
Dissertação de Mestrado apresentada em 15/09/2006

A gravidez normal está associada a alterações hemodinâmicas como o aumento gradual do volume sanguíneo e o decréscimo da pressão arterial. Tal fato

ocorre devido à diminuição da resistência periférica pelo “shunt” placentário e pela diminuição da resposta vasoconstritora nos diferentes territórios vasculares. Este fenômeno é atribuído a uma modulação mediada pelo endotélio vascular. Em circunstâncias patológicas a diminuição da resistência vascular não ocorre, propiciando o aparecimento das síndromes hipertensivas gestacionais.

Avaliamos as alterações da função endotelial ao término da gravidez de ratas espontaneamente hipertensas utilizando anéis de aorta na presença e ausência do endotélio vascular. A pressão arterial média no grupo das grávidas (G, 19^o-20^o dias de gestação) se mostrou marcadamente menor (114±5 mmHg) quando comparadas à de não grávidas na fase estro do ciclo estral (NG, 164±3 mmHg). As respostas constritoras a uma concentração fixa de fenilefrina (FE, 10⁻⁷ M) a diferentes tensões passivas iniciais (0,25 a 2 g) a que o anel de aorta foi submetido foram de-

pendentes do aumento do estiramento do tecido em G e NG e mostraram comportamento semelhante. A adição de concentrações cumulativas de FE em anéis de aorta de G e NG submetidos à tensão passiva de 2,0 g não demonstrou hiporeatividade associada à gestação, diferentemente do que ocorre nas ratas normotensas. No entanto, em aorta sem endotélio, as respostas de G foram menores que as de NG. Na presença de inibidor de sintase de NO, acetilcolina induziu respostas constritoras significativamente maiores em aorta com endotélio de G que em NG, cuja diferença era abolida pela remoção do endotélio.

Os resultados sugerem que em anéis de aorta de ratas espontaneamente hipertensas não há hiporeatividade à FE ao término da gestação, que só aparece após a remoção do endotélio, sugerindo a participação de fatores contráteis derivados do endotélio associado à gravidez em ratas com hipertensão espontânea.

IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIVIRAL DO INTERFERON-ALFA E DE INIBIDORES DA INOSINA MONOFOSFATO DESIDROGENASE SOBRE *ORTHO-BUNYAVIRUS* BRASILEIROS

Márcia Cristina Livonesi

Orientador: Prof. Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo
Tese de Doutorado apresentada em 05/07/2006

Oropouche (OROV), Caraparu (CARV), Guamá (GMAV), Guaroa (GROV) e Tacaiuma (TCMV) são vírus de RNA que pertencem ao gênero *Orthobunyavirus*, família *Bunyaviridae*. Estes vírus são transmitidos por mosquitos e causam doença febril e encefalite em seres humanos, tendo importância em saúde pública no Brasil. Objetivando tratar ou amenizar os sintomas destas doenças, testou-se *in vitro* e/ou *in vivo* os compostos ribavirina (RBV), ácido micofenólico (MPA) e interferon-alfa (IFN- α) sobre os vírus supracitados. Os resultados mostraram que a RBV (50 μ g/mL) possui atividade antiviral *in vitro* sobre TCMV quando o tratamento é realizado precocemente e esta atividade, relacionou-se à redução nos

níveis de GTP intracelular. MPA (10 μ g/mL) mostrou atividade antiviral *in vitro* sobre os vírus GMA e TCM, quando adicionado precocemente à cultura celular. Esta atividade também, se relacionou com redução nos níveis de GTP intracelular. IFN- α (10⁵UI/mL) mostrou atividade antiviral *in vitro* sobre todos os *Orthobunyavirus* em estudo, quando adicionado à cultura celular antes da infecção viral e logo após o início da mesma. A atividade antiviral observada *in vitro* pela ação do IFN foi confirmada *in vivo* sobre os vírus ORO e GRO em tratamento realizado antes da infecção viral. Além disso, IFN- α (10⁵UI/mL) mostrou atividade antiviral sobre GROV em tratamento iniciado 3 horas após a infecção dos camundongos lactentes. Portanto, os resultados sugerem que o IFN- α é um medicamento potencialmente utilizável na prevenção e/ou tratamento das doenças ocasionadas pelo OROV e GROV.

PARTICIPAÇÃO DAS β_2 INTEGRINAS NA HISTOPLASMOSE PULMONAR MURINA

Walter Miguel Turato

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Helena Faccioli

Dissertação de Mestrado apresentada em 07/07/2006

A histoplasmose é uma doença granulomatosa crônica, cujo agente etiológico é o fungo dimórfico *Histoplasma capsulatum*. As vias aéreas superiores são rotas para infecção nos mamíferos e a inalação de microconídios e fragmentos de micélio leva a intensa reação inflamatória nos bronquíolos e alvéolos pulmonares. Em pacientes imunocompetentes, na maior parte dos casos, a infecção é limitada ou assintomática. Em indivíduos imunossuprimidos, o fungo pode causar formas pulmonares graves da doença ou se disseminar, atingindo outros órgãos e podendo levar o paciente a óbito. A imunidade celular do hospedeiro determina o grau das manifestações clínicas na histoplasmose, sendo a interação entre células T e macrófagos, fundamental para o controle da infecção e erradicação do *H. capsulatum*. Dados anteriores da literatura mostram a participação da cadeia β_2 das integrinas, também denominada CD18, em interações entre *H. capsulatum* e células hospedeiro. No presente trabalho, utilizamos animais geneticamente deficientes para expressão de CD18, para avaliar a função desta mo-

lécua na infecção por *H. capsulatum*. Dessa forma, demonstramos que animais deficientes de CD18 são menos eficientes no desenvolvimento de resposta imune na infecção por *H. capsulatum*, tendo menor reação de hipersensibilidade do tipo tardio, maior carga fúngica nos pulmões e baço e menor sobrevivência em relação a animais selvagens. Nossos resultados demonstram ainda que a deficiência de CD18 resulta em reação inflamatória exacerbada, com recrutamento pulmonar de neutrófilos aumentado em relação a animais selvagens. Através da análise histopatológica de cortes de pulmão, demonstramos que animais deficientes de CD18 apresentam maior comprometimento deste órgão durante a infecção em relação a animais selvagens. Durante a fase tardia da infecção, a produção de mediadores fundamentais na imunidade durante a histoplasmose, como LTB₄, IL-10, TNF- α , IL-12 e IFN- γ , está diminuída no pulmão de animais deficientes de β_2 -integrina em relação aos selvagens. Finalmente, determinamos que macrófagos alveolares de animais deficientes de CD18 são menos eficientes para fagocitar leveduras de *H. capsulatum*. Desta maneira, este trabalho mostra o envolvimento da molécula CD18 na infecção por *H. capsulatum*, demonstrando sua importante participação durante esta infecção.

ESTUDO SOROEPIDEMIOLÓGICO E DIAGNÓSTICO MOLECULAR DO HERPESVÍRUS HUMANO 8 EM PACIENTES INFECTADOS PELO HIV COM E SEM SARCOMA DE KAPOSI DE RIBEIRÃO PRETO E REGIÃO, SÃO PAULO

Paula Renata Lima Machado

Orientador: Prof. Dr. Benedito A. Lopes da Fonseca

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/07/2006

O *Herpesvirus humano 8* (HHV-8) é o agente etiológico de todas as variantes do sarcoma de Kaposi (SK), incluindo o SK-AIDS, SK-clássico, SK-endêmico e SK-iatrogênico e determinante de doenças raras como o linfoma de efusão primária e a doença multicêntrica de Castleman. O objetivo deste trabalho foi a avaliação da soroprevalência da infecção pelo HHV-8 em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana com e sem manifestações do sarcoma de Kaposi, e a padronização da detecção

do DNA do HHV-8 por *nested*-PCR em lesões de pele do SK, sangue periférico e soro de indivíduos HIV positivos assistidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Anticorpos contra antígenos líticos foram detectados por ensaio de imunofluorescência indireta. A extração do DNA foi realizada pelo QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN, USA) e sua detecção através da *nested*-PCR para a região ORF-26 do genoma do HHV-8. O gene da β -globina foi amplificado para confirmar a presença de DNA. Em pacientes HIV-positivo/SK-negativo a prevalência foi 30% (15/50) e em HIV-positivo/SK-positivo, com confirmação histopatológica para SK, foi de 96,1% (49/51). As taxas de detecção do DNA do

HHV-8 em pacientes HIV-positivo/SK-positivo foi de 41,2% (21/51) no soro, 95,4% (21/22) em amostras de sangue periférico e 100% (13/13) em biópsias lesões de pele. Em pacientes HIV-positivo/SK-negativo foi 4% (2/50) em amostras de soro. Nossos resultados demonstraram que a soroprevalência do HHV-8 em pacientes HIV-positivo é alta, independente da presença de lesões; a porcentagem de positividade do

HHV-8 em homens e mulheres é similar, sugerindo que a eficiência de transmissão em ambos os sexos seja igual. A detecção do DNA do HHV-8 tanto em PBMC e quanto no soro sugere que tanto a viremia associada a células quanto a plasmática pode contribuir para a disseminação viral. Finalmente, o trabalho aqui descrito fornece uma base para o desenvolvimento de outros estudos com HHV-8 em nosso hospital.

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA VACINA DE DNA-HSP65 NA INDUÇÃO OU MODULAÇÃO DE DIABETES EXPERIMENTAL

Rubens Rodrigues dos Santos Junior

Orientador: Prof.Dr. Célio Lopes Silva

Tese de Doutorado apresentada em 01/08/2006

Nos últimos anos nosso grupo tem descrito o efeito profilático e terapêutico de uma vacina de DNA que codifica o gene de 65-kDa da proteína de choque térmico de *Mycobacterium leprae* (DNA-hsp65) na tuberculose experimental murina. Entretanto, o alto grau de homologia da hsp65 micobacteriana com outras hsps de diferentes espécies de seres vivos inclusive com hsp humana, juntamente com os motivos de CpG característicos do DNA plasmidial (DNA_v), poderiam desencadear ou exacerbar os processos envolvidos no desenvolvimento de doenças autoimunes, como por exemplo, diabetes autoimune. Neste contexto, é razoável se pensar que o processo de inoculação com DNA-hsp65 possa desencadear diabetes autoimune. O Diabetes Mellitus Dependente de Insulina (IDDM) é uma doença autoimune caracterizada pelo aumento da resposta immune celular (Th1) a vários autoantígenos, incluindo entre eles a hsp60, o GAD

(glutamic acid decarboxilase), e a insulina. É fundamental, portanto, para garantir a segurança desta vacina de DNA-hsp65 contra TB que a mesma seja investigada quanto ao seu potencial em induzir ou acelerar doenças autoimunes. Assim, este projeto tem como ênfase especial estudar o efeito da vacinação com DNA-hsp65 em modelos experimentais de diabetes.

Nossos dados nos permitem sugerir que a inoculação de DNA-hsp65 nos modelos experimentais de diabetes espontâneo ou induzido não está acelerando o desenvolvimento da doença nestes animais, visto que o grau de insulite nestes animais é significativamente menor em comparação ao grupo controle (não recebeu DNA). Os animais imunizados com DNA-hsp65 apresentam quantidades menores de células CD8+ no infiltrado celular com indicativos da presença de células T reguladoras no pâncreas destes animais. Além disso, nossos resultados mostram a produção de IL-10 e TGF-beta no pâncreas dos animais vacinados sugerindo o possível efeito modulador envolvido com a proteção destes animais durante o desenvolvimento de diabetes autoimune.

NEUROLOGIA

DISTÚRBIOS RESPIRATÓRIOS DO SONO EM PACIENTES COM NEUROPATIA HEREDITÁRIA SENSITIVO-MOTORA DESMIELINIZANTE

Daniela Vianna Pachito

Orientadora: Profa.Dra. Regina Maria F. Fernandes

Dissertação de Mestrado apresentada em 24/07/2006

Estudo prévio de uma família de pacientes com neuropatia hereditária sensitivo-motora (NHSM) desmielinizante ou doença de Charcot-Marie-Tooth

tipo 1a suscitou a hipótese de que esta condição pode associar-se a distúrbios respiratórios do sono. No presente estudo, foram selecionados aleatoriamente quinze pacientes oriundos de oito famílias, com realização de polissonografia assistida de noite inteira e aplicação de questionário. O grupo controle foi composto por quatorze pessoas, sendo pareado para sexo, idade, índice de massa corpórea (IMC) e medida da circunferência do pescoço (MCP). Em relação ao grupo controle, os pacientes apresentaram maior frequência de apnéia do sono, definida por índice de apnéia/hipopnéia (IAH) maior ou igual a cinco (odds ratio = 11,7), maior IAH, maior duração máxima das apnéias/hipopnéias, maior grau de dessaturação e maior porcentagem de tempo total de sono em respiração paradoxal. Os pacientes também referiram roncar mais freqüente e intensamente. Houve grande predomínio de apnéias/hipopnéias obstrutivas, sendo que apenas um paciente apresentou apnéia central. Não houve registro de padrão sugestivo de hipoventilação alveolar, porém não houve utilização de capnógrafo. Não houve diferença estatisticamente significativa em relação à arquitetura

do sono. Nenhum paciente apresentou movimentos periódicos de membros. As características clínicas preditivas para apnéia do sono nesta amostra foram idade avançada, aumento do IMC e da MCP, relato de roncos freqüentes e de alta intensidade. A presença de acometimento de nervos faríngeos, interferindo com a função contrátil da musculatura dilatadora da faringe, pode representar mecanismo fisiopatológico para a maior freqüência de apnéia obstrutiva do sono em pacientes com NHSM desmielinizante. Pacientes com NHSM desmielinizante devem ser atentamente avaliados em relação a sintomas sugestivos de DRS, especialmente pacientes mais idosos, que apresentem roncos freqüentes e altos, ou aumento do IMC e da MCP. Nestes casos específicos, a realização de polissonografia é especialmente importante, e pode revelar apnéia do sono, mesmo em pacientes sem queixas de sonolência diurna excessiva. A detecção precoce e o tratamento são particularmente importantes nesta população, posto que a hipóxia intermitente crônica decorrente pode ser fator agravante potencial para a poli-neuropatia pré-existente, por induzir a lesão axonal.

ANÁLISE ESTRUTURAL, QUALITATIVA E QUANTITATIVA, DO NERVO LARÍNGEO RECORRENTE DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS: COMPARAÇÃO ENTRE MACHOS E FÊMEAS

Adriana Borges Genari

Orientadora: Profa. Dra. Valéria Paula Sassoli Fazan
Dissertação de Mestrado apresentada em 14/08/2006

Os ratos espontaneamente hipertensos (SHR) são considerados um dos melhores modelos da hipertensão essencial humana. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo sobre a morfologia e a morfometria do nervo laríngeo recorrente (NLR) de ratos da linhagem SHR, fêmeas e machos, com hipertensão bem estabelecida (20 semanas de idade), uma vez que é sabido que o NLR possui fibras barorreceptoras que são parte alça aferente do barorreflexo. Os SHR foram pesados, anestesiados e tiveram a pressão arterial (PA) e freqüência cardíaca (FC), aferidas por via direta. Em seguida, os NLR foram retirados e preparados com as técnicas histológicas de rotina para inclusão em resina. Secções transversais dos nervos direito e esquerdo, segmentos proximal e distal, foram analisadas em microscopia de luz e a morfometria re-

alizada com o auxílio de um sistema analisador de imagens computacional. Nossos resultados mostraram que o peso corporal dos machos foi significativamente maior que nas fêmeas, bem como a PA média e a FC. Os dados morfométricos mostram que existem diferenças significativas entre os segmentos proximais e distais, quando analisados os parâmetros área fascicular, diâmetro mínimo e número de fibras. Tais diferenças apareceram em ambos os grupos. As demais comparações não apresentaram diferenças significativas entre lados no mesmo grupo, assim como entre grupos. Nossos resultados mostraram diferenças importantes nos níveis de PA e FC entre os grupos, sendo que essas diferenças não se refletiram na morfometria dos nervos estudados. Outros trabalhos em andamento em nosso laboratório estão investigando essas características morfológicas e morfométricas dos nervos de SHR, somáticos e autonômicos, para elucidar se os resultados são decorrentes da hipertensão arterial desenvolvida por esses animais ou se são características intrínsecas dessa linhagem.

O NERVO VAGO DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS MACHOS E FÊMEAS: ANATOMIA MICROSCÓPICA

Adriana Cristina Licursi de Alcantara

Orientadora: Profa.Dra. Valéria Paula Sassoli Fazan
Dissertação de Mestrado apresentada em 29/09/2006

Resultados anteriores do nosso laboratório demonstraram alterações morfológicas na alça aferente do barorreflexo em animais hipertensos. O nervo vago é parte importante da alça eferente desse reflexo (parte parassimpática) e é amplamente conhecido que os níveis de pressão arterial (PA) e frequência cardíaca (FC) são significativamente diferentes entre ratos espontaneamente hipertensos (SHR) machos e fêmeas. Assim sendo, nosso objetivo é de descrever a morfologia do nervo vago em SHR e investigar, nesse nervo, a existência de diferenças entre machos e fêmeas. SHR machos (N=5) e fêmeas (N=5), com idade de 20 semanas, foram anestesiados para a medida direta da PA e FC, em um sistema computadorizado. Após os registros, os animais foram perfundidos via intra-cardíaca com solução fixadora e os nervos vagos direitos e esquerdos foram dissecados e preparados com técnicas histológicas convencionais para in-

clusão em resina epóxi. Secções transversais semifinas dos segmentos proximais e distais dos nervos vagos foram morfometricamente avaliadas com o auxílio de um sistema computacional. Comparações estatísticas foram realizadas entre os segmentos de um mesmo lado, entre o mesmo nível (proximal ou distal) em lados diferentes, e entre machos e fêmeas. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Nossos resultados evidenciaram que os SHR machos apresentaram níveis de PA e FC significativamente maiores que as fêmeas. Os resultados morfológicos mostram que o nervo vago cervical é monofasciculado e sua estrutura morfológica geral não difere daquela de outros nervos em geral. Não houve diferenças morfométricas entre segmentos de um mesmo lado ou entre o mesmo nível entre os lados. Mais ainda, não houve diferença morfométrica quando comparamos machos e fêmeas. Essa é a primeira descrição morfométrica completa do nervo vago em SHR e esses dados fornecerão a base morfológica para futuros estudos envolvendo o braço eferente do barorreflexo na hipertensão.

EXPRESSÃO DA SINTASE NEURONAL DO ÓXIDO NÍTRICO E DE MOLÉCULAS RELACIONADAS COM O SISTEMA NO-ÉRGICO EM HUMANOS COM MALFORMAÇÕES NEOCORTICAIS ASSOCIADAS COM EPILEPSIA FÁRMACO-RESISTENTE

Cesar Augusto Bueno Zanella

Orientador: Prof.Dr. Antonio Roberto Martins
Tese de Doutorado apresentada em 29/09/2006

O desenvolvimento normal do córtex cerebral ocorre através de um programa coordenado de eventos celulares, que incluem divisão celular, migração, morte celular seletiva e diferenciação. A complexidade dos eventos celulares durante o desenvolvimento do SNC o faz particularmente vulnerável para um grande número de condições adversas à ontogênese. Malformações neocorticais têm sido relacionadas com desordens da migração neuronal e associadas a epilepsias farmacologicamente intratáveis atingindo crianças e adultos com envolvimento dos sistemas GABAérgico e glutamatérgico.

O NO é um mensageiro molecular biológico presente nos sistemas nervoso, vascular e imune, e exibe atividades anti- e pró-convulsivantes. No SNC, o NO age como um neurotransmissor/neuromodulador não convencional, sendo que, sua síntese e concentração são diretamente dependentes da atividade da enzima nNOS. O alvo principal do NO é a sGC que cataliza a formação de cGMP, que por sua vez regula a atividade de algumas proteínas e canais iônicos. O NO pode modular a liberação de neurotransmissores e pode participar da sincronização neuronal.

Nesse contexto, foi apresentada uma caracterização histopatológica de heterotopias neuronais e displasias corticais focais tipo IIB, e a expressão imunohistoquímica de nNOS, sGC, NMDAR e parvalbumina, além de marcadores neuronal e glial, compara-

das com córtex controle sem história de patologia neurológica. Nas heterotopias neuronais, os achados histopatológicos incluem a presença de nódulos heterotópicos de substância cinzenta, com ausência da laminação cortical e colunar, na região periventricular e/ou subcortical além de neurônios dismórficos. Nota-se neurônios nNOS-IR distribuídos por todo o nódulo heterotópico e nas regiões próximas e distantes do nódulo, e um grande número de fibras com varicosidade nNOS-IR com padrão de orientação variado. A presença de neurônios sGC-IR foi marcante em toda a extensão do córtex heterotópico, e nos córtices próximo e distante do nódulo heterotópico.

Neurônios NMDAR1-IR mostraram-se presentes nos nódulos heterotópicos e nas regiões próximas e distantes do nódulo heterotópico, sendo que os córtices controle apresentaram baixa intensidade de marcação. A presença de neurônios PV-IR foi detec-

tada na heterotopia neuronal assim como nos córtices controle.

Nas DCF IIB, os achados histopatológicos mostram desorganização cortical laminar e colunar, neurônios gigantes e dismórficos, e células balonizadas. Neurônios nNOS-IR estão distribuídos por todo o córtex displásico com tipos celulares bastante variáveis. Grande número de fibras e processos neuronais com varicosidades são nNOS-IR por toda a extensão do córtex. sGC-IR foi detectada em um grande número de neurônios de tipos diferentes em todas as camadas corticais.

A presença de neurônios e fibras nNOS-IR nos córtices displásicos e nas heterotopias neuronais concomitante com o aumento da detecção de neurônios NMDAR1-IR sugerem a participação do NO na epileptogênese via aumento da excitabilidade do tecido e sincronização neuronal

OFTALMOLOGIA, OTORRINOLARINGOLOGIA E CIRURGIA DA CABEÇA E PESCOÇO

ANÁLISE HISTOLÓGICA DA INJEÇÃO DE LÁTEX E HIDROXIAPATITA EM PREGAS VOCAIS - ESTUDO EXPERIMENTAL EM CÃES

Daniel Salgado Küpper

Orientador: Prof. Dr. José Antonio A. de Oliveira

Dissertação de Mestrado apresentada em 06/07/2006

Introdução: Insuficiência glótica pode ser definida como a perda de coaptação adequada entre as pregas vocais. Disfonia e aspiração de líquidos e sólidos são os sintomas mais comuns. As principais causas são: paralisia, paresia, atrofia e cicatriz de prega vocal. Existem dois tipos de cirurgia para correção de insuficiência glótica: tireoplastia e injeção de substâncias. Esta última técnica tem-se mostrado mais fácil de executar, com menor custo e menor taxa de morbidade. Porém, a substância ideal para realizar o procedimento ainda não existe. Vários materiais foram tentados ao longo do último século como: parafina, cartilagem, Teflon®, colágeno, gordura, fásia muscular e ácido hialurônico. Todavia, dificuldades foram encontradas com essas substâncias, ora havendo absorção,

ora ocorrendo formação de granulomas de corpo estranho. A hidroxiapatita é o principal componente de ossos e dentes, e já vem sendo utilizada na área da saúde, para reparação de defeitos ósseos ou odontológicos, com boa aceitação. Não tendo sido observado toxicidade, reação de corpo estranho ou absorção. O látex é a substância natural da árvore *Hevea brasiliensis* e tem mostrado boa biocompatibilidade com tecido animal em vários experimentos já realizados, como: timpanoplastias, reparação de esôfagos em cães, próteses vasculares e encapsulamento de ilhotas de Langerhans submetidas a transplante.

Objetivo: O objetivo deste estudo é avaliar histologicamente as consequências da injeção de hidroxiapatita e látex em pregas vocais caninas, previamente paralisadas, avaliando a resposta inflamatória obtida, migração tecidual e viabilidade do implante.

Materiais e Métodos: Dezoito cachorros foram divididos em seis grupos de três animais cada:

Grupo 1A: injeção de látex e sacrifício em 24 horas. Grupo 1B: Injeção de látex e sacrifício em 14 dias. Grupo 1C: Injeção de látex e sacrifício em 180 dias. Grupo 2A: Injeção de Hidroxiapatita e sacrifício em 24 horas. Grupo 2B: Injeção de Hidroxiapatita e sacrifício em 14 dias. Grupo 2C: Injeção de hidroxiapatita e sacrifício em 180 dias. O pó de cimento de HÁ foi dissolvido em solução salina e injetado. O látex foi obtido diretamente da árvore *Hevea brasiliensis*, filtrado, esterilizado e então injetado na prega vocal paralisada. O local da injeção foi o mesmo para as duas substâncias, no 1/3 posterior da prega vocal, diretamente no músculo tireoaritenóideo, lateralmente ao processo vocal.

Resultados: A injeção de látex ocasionou intenso infiltrado inflamatório em 24 horas e em 14 dias

e foi observada disseminação da substância ao longo das fibras musculares e tecidos cervicais. Em 6 meses a inflamação declinou, porém não havia sinais do látex injetado, que foi reabsorvido. A hidroxiapatita levou à inflamação intensa em 24 horas que declinou para grau moderado em 14 dias e discreta em 6 meses. Não houve sinais de reabsorção importante do enxerto e sua posição de injeção foi mantida, não induzindo reação de corpo estranho ou disseminação tecidual.

Conclusão: O látex não preenche os critérios para substância a ser injetada, devido à disseminação tecidual. A hidroxiapatita manteve o sítio de injeção, não migrou pelos tecidos cervicais e mostrou boa viabilidade, sem reação de corpo estranho, o que a candidata à substância ideal.

REPARO EM DEFEITO ÓSSEO DA PAREDE ALVEOLAR DO SEIO MAXILAR UTILIZANDO MEMBRANAS DE COLÁGENO E FÁSCIA TEMPORAL. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA EM MACACOS

Adalberto Novaes Silva

Orientadora: Profa. Dra. Wilma T. Anselmo-Lima
Tese de Doutorado apresentada em 07/07/2006

Defeitos na parede óssea do seio maxilar ocasionando comunicação buco-sinusal ocorrem por uma variedade de razões. Podem ser secundários a procedimentos cirúrgicos odontológicos, tais como extração de dentes superiores posteriores, terapia endodôntica, doença periodontal crônica, implantodontia, cirurgia ortognática, traumatismos faciais, cirurgias para tratamento de neoplasias que envolvam a maxila e seio maxilar, infecções sinusais e procedimentos cirúrgicos otorrinolaringológicos.

A utilização de membranas tem sido descrita por mais de uma década para melhorar a regeneração de defeitos ósseos de diferentes origens e localizações da região maxilo-mandibular. O princípio da regeneração tecidual guiada utiliza uma membrana microporosa com a finalidade de permitir que células desejáveis invadam o coágulo, impedindo que células indesejáveis migrem para o local do defeito ósseo, isolando a área a ser reparada do tecido conjuntivo frouxo situado ao seu redor.

O presente estudo teve como finalidade avaliar o processo de reparo ósseo em defeitos cirúrgicos

realizados na parede alveolar do seio maxilar comunicando-se com a cavidade sinusal utilizando membranas de colágeno Gen-derm – Genius Baumer, Pro-tape – Proline e fásia temporal autóloga. Foram empregados quatro macacos pregos (*Cebus apella*). As análises histológicas com microscopia convencional e com luz polarizada dos cortes corados com hematoxilina-eosina e com *picro sirius red* foram feitas após 180 dias da comunicação experimental. Os resultados mostraram que no defeito experimental sem cobertura com métodos de barreira houve predomínio de proliferação óssea em dois animais e nos outros dois a comunicação foi preenchida com tecido conjuntivo fibroso; no grupo em que foi utilizado fásia temporal houve predomínio de tecido conjuntivo fibroso em três animais e de proliferação óssea em um animal; nos grupos em que foram utilizadas membranas de colágeno Gen-derm e membrana de colágeno Pro-tape houve completa proliferação óssea em três animais e predomínio de tecido conjuntivo fibroso em um animal. Como conclusões podemos afirmar que o defeito cirúrgico pode ser reparado tanto por tecido ósseo como por tecido conjuntivo fibroso e que o uso de membranas de colágeno (Gen-derm, Pro-tape) trouxeram benefícios ao processo de reparo ósseo quando comparadas ao uso de fásia temporal e ao não uso de métodos de barreira.

MEDIDA DO SENSO CROMÁTICO NA ORBITOPATIA DE GRAVES

Lúgia Cristina Bruni

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Velasco e Cruz
Tese de Doutorado apresentada em 10/07/2006

A literatura sobre distúrbios do senso cromático em pacientes portadores da orbitopatia de Graves é muito escassa. O objetivo desse estudo foi avaliar a sensibilidade cromática dos pacientes com orbitopatia de Graves (OG) através de três testes impressos (Ishihara, SPP-Parte 2 e AO-HRR) e do teste de arranjo de Farnsworth-Munsell 100Hue (FM100), além de correlacionar esses achados com a campimetria visual computadorizada. Foram avaliados 91 olhos de pacientes com OG e 90 olhos de sujeitos normais. Os controles foram divididos em um grupo com nível universitário e outro grupo sem nível universitário. Os testes foram aplicados em ambiente com iluminação padronizada. Houve diferença significativa nos esco-

res de erros do teste de FM 100 entre os grupos-controles universitários e não universitários, porém, sem diferenças inter-oculares. Foram encontradas alterações campimétricas em cerca de 30% dos pacientes com OG. O teste de FM100 encontrou-se alterado em muitos pacientes que apresentavam campimetria normal. Os testes SPP2 e AO-HRR foram estatisticamente associados à campimetria. Nos 2 testes, a maioria dos resultados anormais ocorreu quando o campo visual também foi anormal. O teste do FM 100 foi extremamente sensível e forneceu um grande número de resultados anômalos em olhos aparentemente sem déficits funcionais do NO e os testes impressos, ao contrário, falharam em apontar defeitos em campos anômalos. Os resultados mostraram que o exame do sentido cromático não deve substituir a campimetria na caracterização da neuropatia óptica dos pacientes com OG.

ACOMETIMENTO ORBITÁRIO NA DISPLASIA FIBROSA

Márcio Alberto Costanzi

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Velasco e Cruz
Dissertação de Mestrado apresentada em 11/07/2006

Objetivo: Com o intuito de avaliar as características clínicas do acometimento orbitário em pacientes com displasia fibrosa, foram avaliados 17 pacientes (24 órbitas) com idade variando entre 2 e 60 anos, atendidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto USP, no período de janeiro de 1980 a setembro de 2005.

Métodos: Os pacientes foram identificados por avaliação retrospectiva dos casos atendidos, tendo sido os sujeitos convocados para exame oftalmológico e radiológico. Foram incluídos no estudo apenas os pacientes com acometimento craniofacial. Os critérios de exclusão foram: história insuficiente, diagnóstico de displasia fibrosa não comprovada clínica ou radiologicamente. Todos os pacientes foram submetidos a exame oftalmológico completo, campimetria computadorizada, tomografia de seios da face e documenta-

ção fotográfica digital.

Resultados: A parede orbitária superior (17 órbitas) e o ápice (16 órbitas) foram as regiões orbitárias mais afetadas pela displasia fibrosa. O osso frontal foi o mais acometido (18 órbitas). O padrão de acometimento circunferente incompleto esteve presente em 11 órbitas.

Em cinco olhos houve evidência de disfunção visual. Dois olhos amauróticos e outros três com diminuição de sensibilidade na campimetria, com manutenção de acuidade visual normal.

Dos pacientes submetidos à descompressão do nervo óptico (dois), um ficou amaurótico com a cirurgia, e o outro não teve o seu estado visual modificado.

Conclusões: Considerando a dificuldade e a complexidade dos procedimentos craniofaciais envolvidos no tratamento cirúrgico da displasia fibrosa, e levando-se em conta que a função visual se mantém estável por um longo período de tempo, acredita-se que a cirurgia deve ser dirigida unicamente para a correção das distorções induzidas pela doença.

EXPRESSÃO DOS GENES DE RECEPTORES DE GLICOCORTICÓIDES GR α E β E DOS FATORES DE TRANSCRIÇÃO AP-1 E NF κ B EM PACIENTES COM POLIPOSE NASOSSINUSAL: AVALIAÇÃO DE MECANISMOS DE RESISTÊNCIA AO CORTICOSTERÓIDE

Fabiana Cardoso Pereira Valera

Orientadora: Profa. Dra. Wilma T. Anselmo-Lima
Tese de Doutorado apresentada em 28/09/2006

Introdução: A importância das citocinas pró-inflamatórias na polipose nasossinusal (PNS) ainda é um tópico pouco estudado, assim como sua importância no prognóstico e na resposta terapêutica. Mecanismos de resistência aos glicocorticóides especificamente na PNS ainda são muito pouco conhecidos.

Objetivos: Avaliar a resposta clínica e molecular da PNS ao tratamento com budesonida tópica. Associar esta resposta à intensidade de expressão das isoformas de receptor de glicocorticóide (GR α e GR β) e dos fatores de transcrição NF- κ B e AP-1.

Pacientes e Métodos: 20 pacientes com PNS foram tratados com budesonida por 2 meses. Eles foram submetidos a questionário clínico e biópsias dos pólipos antes e após o tratamento. Foram analisados por Western-Blotting as proteínas p65, c-fos, GR α e GR β e por PCR em tempo real a expressão gênica de IL-1 β , TNF- α , ICAM-1, b-FGF, eotaxina-2, GM-CSF, p65, c-fos, GR α e GR β . Estes resultados foram comparados a amostras controles.

Resultados: Houve maior expressão nos pacientes com PNS sem tratamento quando comparados aos controles para as citocinas IL-1 β , eotaxina-2

e b-FGF e para o fator de transcrição p65; GR α esteve significativamente menos expresso neste grupo. Após o tratamento, houve diminuição significativa dos sintomas de PNS, associada à diminuição do tamanho dos pólipos, sendo significativamente maior nos pacientes com menor extensão tomográfica da PNS ao diagnóstico. Esta melhora clínica esteve associada à diminuição significativa da expressão de p65, TNF- α e eotaxina-2. Pacientes com pior resposta clínica (G1) apresentaram maior expressão de p65, IL-1 β , e ICAM-1 ao diagnóstico quando comparados aos com boa resposta clínica (G2); após o tratamento, os pacientes do G1 mantiveram alta expressão de IL-1 β e apresentaram maior expressão de GR β do que pacientes do G2.

Conclusões: as citocinas pró-inflamatórias são importantes na gênese do processo inflamatório. O GC tópico foi capaz de diminuir a dimensão dos pólipos nasais, de melhorar parcialmente os sintomas dos pacientes com PNS e de diminuir a expressão das citocinas, em especial do TNF- α e da eotaxina-2. A relação entre os receptores de GC GR α /GR β , assim como a expressão de fatores de transcrição, em especial o NF- κ B estiveram alterados nos pacientes com PNS. Pacientes com resposta desfavorável ao tratamento com GC tópico possuem maior expressão de p65, ICAM-1 e IL-1 β ao diagnóstico, e de IL-1 β e GR β após exposição ao GC.

ORTOPEDIA

CONFIABILIDADE DOS VALORES DE AMPLITUDE DA ELETROMIOGRAFIA DE SUPERFÍCIE DURANTE EXERCÍCIOS PARA MEMBRO SUPERIOR COM CARGA AXIAL E SUPERFÍCIE ESTÁVEL E INSTÁVEL

Rodrigo Cappato de Araújo

Orientadora: Profa. Dra. Anamaria Siriani de Oliveira
Dissertação de Mestrado apresentada em 28/07/2006

O objetivo deste estudo foi avaliar a confiabilidade intradia e interdias dos valores de amplitude da

eletromiografia de superfície, dos músculos da cintura escapular e membro superior, durante a realização de 3 exercícios isométrico com a extremidade distal do segmento fixa em uma superfície estável e outra superfície instável, com descarga de peso axial controlada para o membro superior. Para tanto, 20 adultos

saudáveis realizaram os exercícios *push-up*, *bench-press* e *wall-press* em diferentes níveis de carga (80 e 100% da carga máxima). Os valores de carga produzida por cada um dos exercícios foram registrados de maneira simultânea à eletromiografia. Os sujeitos realizaram três contrações voluntárias máximas (CVM) na posição de prova de função muscular de cada músculo, para obtenção do valor de referência para normalização dos valores de *root mean square* (RMS) e da integral do envoltório linear (*fenv*). Os sujeitos foram instruídos, a realizarem de forma aleatória, 3 séries de contrações isométricas por 6 segundos em cada exercício, com intervalo de 2 minutos entre as séries e exercícios. Os sinais eletromiográficos dos músculos deltóide porção anterior e posterior, trapézio fibras superiores, serrátil anterior, peitoral maior porção clavicular, bíceps braquial porção longa e tríceps braquial porção longa foram captados por eletrodos de superfície ativos simples diferenciais, realizados em dois testes com intervalo de sete dias. Os dados foram coletados com frequência de amostragem de 4000Hz e aplicados filtros digitais de passa baixa de 500Hz e passa alta de 20Hz. Os valores de RMS e *fenv* foram

normalizados pelo valor máximo da amplitude eletromiográfica obtida em 1 das 3 CVM do músculo correspondente. As confiabilidades intradia e interdias foram calculadas através do coeficiente de correlação intraclasse (ICC), erro padrão da medida (SEM) e coeficiente de variação (CV). Os resultados indicaram excelente confiabilidade intradia dos valores de amplitude eletromiográfica ($ICC \geq 0,75$). A confiabilidade interdias dos valores normalizados de RMS apresentou valores variando entre bom e excelente ($ICC 0,52-0,98$), já os valores normalizados de *fenv* apresentaram valores pobres a excelente de confiabilidade ($ICC 0,06-0,93$). Os valores de carga produzidos durante os exercícios apresentaram excelente confiabilidade intradia e interdias ($ICC \geq 0,97$). Por fim, os resultados do presente estudo sugerem que a confiabilidade dos valores normalizados de amplitude eletromiográfica dos músculos analisados apresentam valores mais confiáveis durante os exercícios realizados com superfície estável. Já os níveis de carga empregados (80 e 100%) durante os exercícios parecem não ter influenciado nos níveis de variabilidade, talvez por serem cargas muito próximas.

INFLUÊNCIA DO DIÂMETRO DA PERFURAÇÃO DO ORIFÍCIO PILOTO NA RESISTÊNCIA MECÂNICA AO ARRANCAMENTO DO PARAFUSO

Célia Regina Galloro Wicher

Orientador: Prof. Dr. Helton Luiz Aparecido Defino
Dissertação de Mestrado apresentada em 08/08/2006

Foram realizados ensaios mecânicos com o objetivo de avaliar a influência do diâmetro do orifício piloto em relação ao diâmetro interno do parafuso na resistência ao arrancamento dos implantes aplicados nos corpos de prova. O estudo foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa foram utilizados corpos de prova de poliuretano para a colocação de parafusos de 5,0mm; 6,0mm e 7,0mm de diâmetros externos. Na segunda etapa foram utilizados corpos de prova de vértebras de suínos para a colocação de parafusos pediculares de 5,0mm, 6,0mm de diâmetros externos. O orifício piloto foi realizado com brocas de diâmetro menor, igual e maior que o diâmetro interno do parafuso. Os parafusos foram inseridos nos corpos de prova de poliuretano após a realização de orifícios pilotos de 2,5mm; 2,7mm; 3,0mm; 3,2mm; 3,5mm; 3,8mm; 4,0mm; 4,5mm de diâmetros para os parafu-

sos de 5,0mm. Foram realizados perfurações de 3,5mm; 4,0mm; 4,5mm; 4,8mm; 5,0mm e 5,5mm de diâmetros para os parafusos de 6,0mm. Para o parafuso de 7,0mm os orifícios foram de 4,0mm; 4,5mm; 4,8mm; 5,0mm; 5,5mm; 6,0mm e 6,5mm de diâmetros. Os parafusos inseridos nos corpos de prova em vértebras de suínos seguiram os padrões referentes ao diâmetro menor, igual e maior que o diâmetro interno do parafuso. Para o parafuso de 5,0mm os orifícios pilotos foram de 2,5mm; 3,5mm e 4,5mm de diâmetros e para os parafusos de 6,0mm os orifícios pilotos foram de 3,8mm; 4,8mm e 5,5mm de diâmetros. Foram realizados ensaios mecânicos de arrancamento em máquina universal de teste para a avaliação da força máxima e rigidez para o arrancamento dos implantes. Os resultados obtidos com o parafuso 5,0mm; 6,0mm e 7,0mm na poliuretano e os parafusos de 5,0mm e 6,0mm nas vértebras de porco, quando foram aumentados os valores referentes ao diâmetro interno do parafuso houve uma diminuição da força máxima de arrancamento. A rigidez do parafuso

5,0mm, 6,0mm e 7,0mm na poliuretana houve diferença estatística das brocas acima dos valores referentes ao diâmetro interno dos parafusos. Na rigidez do parafuso de 5,0mm e 6,0mm das vértebras de suínos mostrou que as brocas maiores em relação ao

diâmetro interno do parafuso não foram satisfatórias para o arrancamento. Conclui-se que, o diâmetro do orifício piloto em relação ao diâmetro interno do parafuso influencia na resistência ao arrancamento dos implantes.

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS DO GESSO UTILIZADO PARA CONFEÇÃO DE ÓRTESES

Gustavo Cardoso Vieira

Orientadora: Profa.Dra. Marisa de Cássia R. Fonseca
Dissertação de Mestrado apresentada em 14/08/2006

A utilização de órteses na reabilitação é de grande importância. Atualmente, o gesso permanece como um dos materiais mais usados para a confecção de órteses, devido às boas propriedades de moldagem e baixo custo. Este estudo teve como objetivo a avaliação das propriedades mecânicas do gesso utilizado para a confecção de órteses. Inicialmente, como primeira etapa para seleção de marcas, foram avaliadas as propriedades de três diferentes fabricantes de atadura gessada, sendo A= CREMER®, B= MEDI HOUSE® e C= POLAR FIX®. A partir desses resultados prévios, foi realizada a segunda etapa de avaliação das propriedades mecânicas com diferentes números de camadas de atadura gessada, sendo 6, 8, 10, 12 e 14. Para isso foram confeccionados corpos de prova (CDPs) de dois tipos: placas e cilindros. A confecção dos CDPs foi feita através do desenvolvimento de moldes específicos para cada grupo, proporcionando uma padronização adequada ao estudo. Os CDPs foram mantidos em umidade e temperatura ambiente por 72 horas. Após esse período, esses foram submetidos aos

ensaios mecânicos, sendo ensaio de flexão em três pontos para o grupo das placas e ensaio de compressão para o grupo dos cilindros. Os ensaios foram realizados na máquina: universal de ensaios (EMIC®, modelo DL 10000) do Laboratório de Bioengenharia da FMRP - USP. Foram avaliadas três propriedades mecânicas: carga no limite máximo, carga no limite de proporcionalidade e rigidez, nas duas etapas, para todos os grupos. Além disso, o peso dos CDPs também foi avaliado com o objetivo de complementar a análise dos resultados. Os dados foram analisados através dos gráficos carga x deflexão de cada ensaio e os resultados foram submetidos aos testes estatísticos Kruskal-Wallis e DMS. Os resultados mostraram que o fabricante A (CREMER®) foi superior aos demais em relação às propriedades avaliadas e também em relação ao manuseio do material. Em relação ao número de camadas verificou-se um aumento proporcional direto no valor das propriedades sempre que houve aumento no número de camadas. Entretanto, o peso dos corpos de prova também aumentou em função do aumento do número de camadas. Dessa forma, os resultados sugerem que 10 camadas de atadura gessada seria um valor de equilíbrio entre o peso e a resistência final do material.

ESTUDO BIOMECÂNICA DA INFLUÊNCIA DO SUPORTE E FIXAÇÃO ANTERIOR NA ESTABILIDADE MECÂNICA DA FIXAÇÃO VERTEBRAL

Gisele Kristina Ale dos Santos

Orientador: Prof.Dr. Antônio Carlos Shimano
Dissertação de Mestrado apresentada em 01/09/2006

O sistema de fixação tem sido muito utilizado na cirurgia moderna da coluna vertebral, com a finalidade de proporcionar estabilidade ao segmento vertebral e/ou corrigir deformidades. Neste trabalho, fo-

ram realizados ensaios mecânicos para avaliar a participação do enxerto e do estabilizador lateral na estabilidade mecânica das fixações vertebrais com fixador interno. O modelo experimental foi constituído por dois blocos de madeira mogno, que simularam o segmento vertebral estabilizados por fixador interno. Foram utilizados 3 grupos experimentais com 10 modelos cada. Grupo 1: montagem somente com fixador interno; Grupo 2: montagem com enxerto; Grupo 3: montagem

com enxerto e estabilizador lateral. Foram realizados ensaios mecânicos do tipo flexão-compressão, flexão lateral e torção, sendo realizados somente na fase elástica de resistência das montagens utilizando deflexões de 1,5mm; 2,0mm e deformação angular de 9,5°, respectivamente. A estabilidade mecânica das montagens foi estudada por meio de três propriedades mecânicas para os limites de deflexões e deformação angular definidas: o momento fletor, momento torsional e a rigidez, que foram obtidas a partir da curva carga x deflexão resultante de cada ensaio mecânico. Os testes foram realizados na Máquina Universal de Ensaio, utilizando acessórios específicos para cada um dos ti-

pos de ensaios. Considerando o uso do enxerto para montagens, observamos que houve um aumento significativo, ($p < 0,001$) do momento fletor e da rigidez nos ensaios mecânicos de flexo-compressão assim como associado ao estabilizador lateral, para os ensaios de flexão lateral, porém não apresentou nenhum efeito significativo ($p > 0,05$) sobre os respectivos parâmetros estudados nos ensaios de torção. Portanto, concluímos que o enxerto aumenta a estabilidade mecânica para os ensaios de flexo-compressão e associado ao estabilizador lateral para os ensaios de flexão lateral, porém não exerce influência no aumento da estabilidade para os ensaios de torção.

INFLUÊNCIA DA PROFUNDIDADE E DO PREPARO DO ORIFÍCIO NO TORQUE DE INSERÇÃO E NA FORÇA DE ARRANCAMENTO DE PARAFUSOS PEDICULARES

Vânia Custódio Leite

Orientador: Prof.Dr. Antônio Carlos Shimano

Dissertação de Mestrado apresentada em 01/09/2006

Os parafusos pediculares são à base de alguns sistemas de fixação vertebral. Estes implantes ultimamente são utilizados no tratamento de diversas patologias, como fraturas, deformidades, tumores e doenças degenerativas da coluna vertebral, dentre outras. A proposta deste trabalho foi avaliar a influência da profundidade de inserção do parafuso variando-se o tamanho do orifício, no torque de inserção e na força de arrancamento dos parafusos pediculares. Neste trabalho, foi realizado um estudo experimental utilizando vértebras de suínos jovens (lombares e torácicas), como modelo experimental. Foi utilizado o parafuso do tipo USS (Synthes) com 5,0 mm de diâmetro externo e 3,8 mm de diâmetro interno (alma do parafuso), para inserção nos pedículos das vértebras. Para realização dos orifícios foram utilizados três diferentes tamanhos de brocas: 2,5mm; 3,8mm (correspondente à alma do parafuso) e 4,5mm. Após a realização do orifício no pedículo, utilizando um sistema de guia acoplado a um torquímetro, foram realizadas as medidas dos torques de inserção. Foram divididos em 06 grupos experimentais, com 10 modelos cada. Grupo 01: uso de broca 2,5mm e inserido até a cabeça do parafuso. Grupo 02: uso de broca 2,5mm e inserido somente a parte da rosca. Grupo 03: uso de broca 3,8mm e inserido até a cabeça. Grupo 04: uso de bro-

ca 3,8mm e inserido a parte da rosca. Grupo 05: uso de broca 4,5 mm e inserido até a cabeça. Grupo 06: uso de broca 4,5mm e inserido a parte da rosca. Os ensaios mecânicos de arrancamento foram realizados em Máquina Universal de Ensaio. Os testes foram realizados bilateralmente, utilizando-se os dois pedículos. Os torques de inserção média máxima para os grupos foram: para o Grupo 01 foi de $(138,9 \pm 21,4)10^{-2}$ N.m; para o Grupo 02 foi de $(87,3 \pm 21,7)10^{-2}$ N.m, para o Grupo 03 foi de $(100,6 \pm 21,0)10^{-2}$ N.m; para o Grupo 04 foi de $(52,6 \pm 11,6)10^{-2}$ N.m; para o Grupo 05 foi de $(77,8 \pm 18,4)10^{-2}$ N.m e para o Grupo 06 foi de $(32,4 \pm 11,5)10^{-2}$ N.m. As forças médias máximas de arrancamento para os grupos foram: para o Grupo 01 foi de $(1014,6 \pm 153,3)$ N; para o Grupo 02 foi de $(909,9 \pm 109,9)$ N; para o Grupo 03 foi de $(996,9 \pm 107,4)$ N; para o Grupo 04 foi de $(884,8 \pm 165,5)$ N; para o Grupo 05 foi de $(862,6 \pm 141,1)$ N e para o Grupo 06 foi de $(669,6 \pm 176,9)$ N. Os resultados mostraram que quando os parafusos foram inseridos até próximos de sua cabeça, tanto os torques de inserção quanto as forças de arrancamento do parafuso foram superiores aos inseridos somente até o final da rosca do parafuso. Com relação ao tamanho do orifício, observou-se maior torque de inserção com o furo de broca 2,5 mm, tanto quando inserido somente até o final de sua rosca quanto até a cabeça do parafuso; já na força de arrancamento observou-se forças similares com os orifícios utilizando brocas com 3,8 mm e 2,5 mm, nos dois modelos ensaiados.

ESTUDO EXPERIMENTAL DO SEQÜENCIAMENTO DAS MANOBRAS PARA LIGAMENTOTAXIA NAS FRATURAS VERTEBRAIS DO TIPO EXPLOSÃO

Ilton José Carrilho de Castro

Orientador: Prof.Dr. Helton Luiz A Defino

Dissertação de Mestrado apresentada em 15/09/2006

As fraturas da coluna, possivelmente, projetam fragmentos da parede posterior do corpo da vértebra para o interior do canal vertebral. Esses fragmentos ósseos podem comprimir as estruturas nervosas localizadas no interior do canal. A descompressão realizada por meio da ligamentotaxia é um método indireto. A técnica implica a realização de distração e correção da cifose do segmento vertebral fraturado. O objetivo do trabalho foi analisar a influência da ordem de realização dessas manobras (distração + lordose versus lordose + distração), durante a ligamentotaxia, relativa à descompressão do canal vertebral. Foram utilizadas no estudo, vértebras da transição tóracolumbar de suínos híbridos, derivados da raça Landrace, com idade de cinco meses e média de peso de $102,05 \pm 3,47$ kgf. Após a produção da fratura do tipo explosão, por meio de equipamento especialmente desenvolvido para esta finalidade, as vértebras foram submetidas à tomografia computadorizada e foram selecionados 10 espécimes que apresentavam fraturas do tipo explosão. Os segmentos vertebrais foram estabilizados por meio do fixador interno (Synthes), uma vértebra acima e outra, abaixo da vértebra fraturada. Os 10 modelos foram divididos em dois grupos com cinco cada. O primeiro grupo foi denominado (Ior+dis), no qual foi rea-

lizada a correção da cifose (Iordose) e depois a distração. Finalizada a seqüência de manobras desse grupo, os mesmos foram submetidos à nova compressão, por meio de morsa, até o retorno à posição inicial da fratura. Esses modelos reposicionados, denominados (R:dis+lor) foram novamente submetidos à seqüência de manobras, iniciando com a distração e depois correção da cifose. No segundo grupo denominado (dis+lor) foi realizada a distração e depois a lordose. Após cada manobra, era realizado o exame tomográfico, para a mensuração do diâmetro do canal vertebral. O deslocamento do fragmento do corpo vertebral fraturado foi mensurado e os valores obtidos, comparados por meio de estudo estatístico, pelo teste t de Student, com nível de significância de 5%. Os resultados de ligamentotaxia desse trabalho mostraram que o deslocamento dos fragmentos, percentualmente, foi maior na seqüência que inicia com a correção da cifose (Iordose). Mas a análise estatística em que se usou um nível de significância de $p=5\%$, mostrou que não houve diferença entre as seqüências. O nível de significância obtido nesta comparação foi de $p=0,06$. Esse resultado é próximo ao nível adotado. Isto sugere uma forte tendência, demonstrando a eficácia superior da seqüência, quando se inicia pela realização da correção da cifose (Iordose), seguida de distração. Com os resultados qualitativos e quantitativos encontrados neste trabalho, sugerimos que a ligamentotaxia deva ser iniciada pela correção da cifose, seguida da distração do segmento vertebral fraturado.

ENSAIOS MECÂNICOS E ESTUDO HISTOLÓGICOS DA INTERFACE DOS IMPLANTES VERTEBRAIS

José Roberto Benites Vendrame

Orientador: Prof.Dr. Helton Luiz Aparecido Defino

Tese de Doutorado apresentada em 26/09/2006

A cirurgia da coluna vertebral tem se desenvolvido muito nos últimos anos em decorrência da evolução dos sistemas de fixação. O comportamento da interface do parafuso com o osso continua sendo um aspecto não muito dominado. Como o parafuso é a âncora de sustentação, o trabalho procura investigar as técnicas de introdução do parafuso pedicular. Para

atingir esse objetivo desenvolvemos o trabalho por meio de estudo com ensaios mecânicos de arrancamento e estudo histológico. Dois tipos de parafusos pediculares foram utilizados: parafuso pedicular do sistema USIS (Ulrich) e parafuso pedicular do sistema USS (Synthes). Os ensaios de arrancamento foram realizados em corpos de prova de madeira e poliuretano. O estudo histológico foi realizado em vértebras lombares de cadáver humano. No estudo envolvendo o parafuso USIS, foram testados os seguintes parâmetros: orifícios feitos com sonda e orifícios feitos com

broca, todos do mesmo diâmetro do diâmetro interno do parafuso. Também foi testado o efeito do macheamento em relação ao não macheamento, nos orifícios feitos com broca. No estudo com os parafusos USS foram testados o efeito do diâmetro do orifício piloto tanto no estudo histológico como no arrancamento. No arrancamento destes parafusos também foi testado o efeito do tipo de orifício feito com sonda e com broca. O trabalho foi dividido em etapas: Primeira etapa foi o estudo de arrancamento do parafuso USIS; segunda etapa, estudo histológico de vértebra instrumentada com parafuso USIS, esta parte do trabalho foi constituída por análise de microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura; terceira etapa foi o arrancamento do parafuso USS; e quarta etapa foi o estudo histológico de vértebra instrumentada com parafuso USS. Os resultados da primeira etapa demonstraram que sonda teve efeito melhor do que broca, porque o resultado dos ensaios de arrancamento nos orifícios feitos com sondas teve maior força de arrancamento do que nos orifícios feitos por brocas. Na segunda etapa, análise histológica, verificou-se que os orifícios feitos por sonda apresentaram-se menores e com menor índice de fragmentação ao redor dos orifícios. Esses feitos tiveram diferença estatística significativa, tanto na primeira, quanto na segunda etapa. Com relação ao macheamento não foi constatada di-

ferença entre o não macheamento, em nenhuma das duas etapas. Na terceira etapa foi observado que, quando o orifício piloto ultrapassa o diâmetro interno do parafuso, ocorre tendência de queda na força de arrancamento de modo significativo, enquanto que orifício menor que o orifício piloto não tende a causar muita diferença na força de arrancamento em relação ao orifício correspondente ao diâmetro interno do parafuso. Também foi observado que o orifício feito com sonda oferece melhor força de ancoragem do que orifício feito com broca. Na quarta etapa foi constatado que quanto menor a broca para abrir o orifício piloto, menor o diâmetro do orifício, e não houve diferença significativa quanto ao índice de fragmentação ao redor do orifício entre os diferentes tamanhos de broca. Como conclusão pode-se dizer que sonda é melhor para se fazer o orifício piloto, uma vez que alarga menos o orifício, lesa menos as trabéculas ao redor do orifício e proporciona maior força de ancoragem do que broca. Também se pode concluir que o instrumental de menor diâmetro para abertura do orifício piloto é melhor, e o ponto crítico seria o diâmetro interno do parafuso. Não se deve fazer orifício piloto com instrumento de diâmetro maior que o diâmetro interno do parafuso. Não se constatou vantagem em relação ao fato de realizar ou deixar de realizar o macheamento.

PATOLOGIA

MODELO EXPERIMENTAL DE RETALHO PRÉ-FABRICADO COM VASOS GASTROEPIPLÓICOS EM ARCO E PELE ABDOMINAL EM COELHO: ANÁLISE ANATOMOPATOLÓGICA E IMUNOHISTOQUÍMICA

Mateus da Costa Kawasaki

Orientador: Prof.Dr. Sérgio Britto, Garcia

Dissertação de Mestrado apresentada em 24/07/2006

Os objetivos deste estudo foram desenvolver um modelo experimental e avaliar o período bem como a viabilidade de retalhos cutâneos pré-fabricados com área cutânea de 100cm² em parede abdominal lateral em coelhos. Os retalhos cutâneos foram confeccionados através da implantação direta de vasos gastro-

epiplóicos em arco com fluxo contínuo abaixo do subcutâneo da parede lateral em coelhos. Foram utilizados 18 animais da linhagem de coelhos New Zealand divididos em três Grupos: Grupo I (grupo controle), sem implantação de vasos gastroepiplóicos, e Grupo II e Grupo III nos quais foram realizados os implantes de vasos gastroepiplóicos em arco no subcutâneo da parede abdominal lateral dos animais, os quais foram submetidos posteriormente a cirurgia para confecção de retalho axial, pediculado exclusivamente nos vasos

gastroepilóicos transpostos. O período entre a primeira cirurgia e a segunda foi de duas semanas no Grupo II e seis semanas no Grupo III. Quatorze dias após a segunda cirurgia os animais foram sacrificados e os retalhos avaliados. Nos animais do Grupo I, controle, foi observado 100% de área de necrose no tecido descolado, não preservando conexão vascular com o mesmo, e suturado novamente no leito original; nos animais do Grupo II foi observada área de necrose média de 56,83% e nos animais do Grupo III, ausência total de necrose nos retalhos. Amostras dos retalhos dos animais dos Grupos II e III foram avaliados histologicamente através de protocolo padrão para coloração por hematoxilina-eosina e através de estudo imunohistoquímico para avaliação de viabilidade do tecido através da quantificação da atividade de divisão celular, considerando índice de células mar-

casadas para o Antígeno Nuclear de Células em Proliferação (iPCNA) como parâmetro. Foi observado aumento significativo no iPCNA ($p < 0,01$, teste bicaudal de Mann-Whitney) entre os Grupos II e III, com índice mais alto no Grupo III; a avaliação da coloração por hematoxilina-eosina confirmam a maior viabilidade dos retalhos do Grupo III. O estudo demonstra a possibilidade de criar e transferir um pedículo vascular em arco para o subcutâneo e, depois de certo tempo, confeccionar e transpor um retalho com dimensões consideráveis cuja circulação seja exclusiva deste novo pedículo. Este estudo traz informações adicionais para elaboração de retalhos pré-fabricados microcirúrgicos ou em ilha para o reparo de defeitos complexos que precisam de grandes áreas de cobertura cutânea e pedículos longos, com mínima morbidade à área doadora.

FATORES REGULADORES DA ANGIOGÊNESE E INFILTRAÇÃO TUMORAL NOS CARCINOMAS MAMÁRIOS POSITIVOS PARA A CITOCERATINA 5

Fabiana Ribeiro do Vale

Orientador: Prof. Dr. Alfredo Ribeiro-Silva

Dissertação de Mestrado apresentada em 01/09/2006

O reconhecimento de subtipos de carcinomas mamários baseados em suas características moleculares trouxe novas perspectivas na investigação do câncer de mama. Algumas proteínas chaves reguladoras da angiogênese e da infiltração tumoral foram avaliadas em carcinomas de mama de fenótipo basal (CK5+). Foi realizado estudo Imunoistoquímico com 14 anticorpos primários em 100 casos de carcinoma ductal. A positividade para citoqueratina 5 correlacionou-se com indicadores de mau prognóstico, incluindo

idade precoce, alto grau histológico, linfonodos positivos, estágio patológico avançado, negatividade para receptores hormonais, e uma alta taxa de proliferação celular, avaliado pelo Ki67. A positividade para a CK5 também se correlacionou com a expressão do VEGF, mas não com a densidade da microvascularização. Considerando que a superexpressão de VEGF pelas células neoplásicas da mama leva a um aumento da atividade proliferativa *in vitro* independente de seu efeito angiogênico, a expressão diferencial do VEGF pode contribuir para o comportamento mais agressivo da neoplasia. Houve correlação do CK5 com TIMP1, mas não com MMP1, MMP2, EMMPRIN, TIMP2 and PAI, indicando que o estímulo antiproteolítico pode ser preponderante nesta neoplasia.

EXPRESSÃO PRECOCE DE CD34, CD68, Á-ACTINA DE MÚSCULO LISO E COX-2 NO ESTROMA PERICRIPTAL DURANTE CARCINOGENESE COLÔNICA INDUZIDA QUIMICAMENTE EM RATOS

Aline Turatti

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/09/2006

Diversos estudos têm demonstrado que a atividade coordenada das células epiteliais com o estroma

é fundamental no crescimento e diferenciação em situações fisiológicas e patológicas, inclusive no câncer. Vários relatos acentuam a importância do compartimento estromal nos tumores malignos e indicam fortemente que interações contínuas entre o carcinoma e as células estromais (resultando em regulamento e

modulação recíproca) são condições prévias para desenvolvimento e progressão de carcinomas. Comparativamente, pouca informação está disponível sobre as características e o papel do estroma durante o processo carcinogênico e a maioria dos dados são baseados em estudos isolados. Nos animais tratados com o carcinógeno Dimetilhidrazina foi identificado na mucosa colônica o aparecimento de “Focos de Estroma Ativado” (FEA) que diferem do foco inflamatório esporádico encontrado na mucosa normal dos animais controles devido à imuno-expressão aumentada de células CD34, CD68, α -actina de músculo liso (ASMA), COX-2 positivas e densidade microvas-

cular. Além disso, o FEA cercou um número aumentado de criptas colônicas em fissão que frequentemente apresentavam células epiteliais com núcleos hiper cromáticos. Este último achado pode sugerir correlação entre as alterações estromais e epiteliais dentro dos FEA. Embora esses achados sejam novos, são consistentes com observações prévias que o estroma tem um papel significativo na carcinogênese. Juntamente com dados da literatura, este trabalho sugere que, no cólon, a “*field cancerization*” epitelial pode ser acompanhada através de alterações estromais e isto pode apontar novos marcadores de transformação neoplásica.

ASSOCIAÇÃO DO DIABETES EXPERIMENTAL E ETANOL NA PROLE DE CAMUNDONGOS SWISS

Camila Nunes de Moraes Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cesar Peres

Tese de Doutorado apresentada em 26/09/2006

Cerca de 2 a 3% dos recém nascidos mostram pelo menos uma anomalia congênita reconhecível, sendo as mais comuns as cardiovasculares e as do Sistema Nervoso Central, cuja etiologia pode envolver agentes ambientais como o etanol e a hiperglicemia. O objetivo deste estudo foi investigar a ação do diabetes mellitus aloxânico, do etanol e a associação de ambos nos fetos de camundongo. Foram usadas 36 fêmeas de camundongo Swiss, pesando 40 a 50 gramas, 24 das quais receberam injeção de aloxana (40mg/Kg) em salina estéril via endovenosa quatro dias antes do acasalamento, enquanto que as 12 restantes receberam salina estéril. As glicemias foram medidas antes da administração da aloxana, três dias após esta e no 18º dia gestacional. Os animais foram separados nos seguintes grupos com 6 animais cada: Controle (C), Etanol (E), Diabetes (D) e Diabetes e Etanol (DE) (glicemia ≥ 200 mg/dL), Diabetes de baixa glicemia (Dbg) e Diabetes Etanol baixa glicemia (DEbg) (glicemia $> 126 < 195$ mg/dL). Os animais dos grupos D e DE receberam 0.5 unidade de insulina por dia até o acasalamento. No 7º dia gestacional, animais dos grupos E, DE e DEbg, receberam 4g/Kg de etanol (25% v./v.) via intraperitoneal, enquanto os grupos C, D, e Dbg receberam salina. A eutanásia foi realizada no 18º dia gestacional e os implantes foram retirados por cesárea. Anomalias congênitas foram encontradas apenas nos grupos E, DE e DEbg, representadas

por exencefalia (DE= 9,7%, DEbg= 1%), *situs inversus totalis* (DE=1,35%) e *partialis* (DE=1,35%), sindactilia (DEbg= 1,25%), apêndice cutâneo sobre pálpebra (DE= 1,35%), hidropisia e hérnia umbilical (DEbg= 1,25%) e hipoplasia da artéria pulmonar (E= 0,97%). Reabsorções foram encontradas em todos os grupos (C=6,7%, E=8,49%, D=21,35%, DE=11,8%, Dbg=13%, DEbg=6,25%), bem como as mortes fetais tardias (C=0,8%, E=2,8%, D=4,5%, DE=8,6%, Dbg=42%, DEbg=1,4%). Houve variação no diâmetro placentário (C=0,88cm, E=0,63cm, D=0,54cm, DE=0,63cm, Dbg=0,65cm, DEbg=0,60cm), no peso placentário (C=0,110g, E=0,17g, D=0,12g, DE=0,12g, Dbg=0,13g, DEbg=0,11g), no peso corporal fetal (machos/fêmeas: C=1,57/1,48g, E=1,35/1,33g, D=1,09/0,98g, DE=1,19/1,16g, Dbg=1,38/1,26g, DEbg=1,45/1,28g), no comprimento vértice-sacral fetal (machos/fêmeas: C=2,54/2,46cm, E=2,36/2,38cm, D=2,1/1,97cm, DE=2,25/2,12cm, Dbg=2,21/2,13cm, DEbg=2,33/2,26cm) e no comprimento caudal (machos/fêmeas: C=1,30/1,28cm, E=1,34/1,31cm, D=1,16/1,13cm, DE=1,3/1,26cm, Dbg=1,26/1,3cm, DEbg=1,33/1,26cm). Os resultados indicam que o diabetes é mais deletério do que o etanol no início da gestação, determinando maior número de reabsorções. A associação do etanol ao diabetes aumenta o número de MFT, possivelmente por aumentar os danos celulares. O etanol melhorou o peso fetal de machos do grupo DEbg e a redução da sua cauda em DE e DEbg e induziu o aparecimento de anomalia cardiovascular em E. Apesar de certa proteção aos fetos de matrizes diabéticas, a associação do etanol levou ao surgimento

de anomalias congênitas, principalmente DFTNs, mostrando efeito somatório destes co-teratógenos. Tanto o etanol quanto o diabetes isolada ou associadamente induziram redução do diâmetro placentário, possivelmente por danos ao tecido placentário. A interação entre etanol e diabetes aumentou a suscetibilidade dos embriões às malformações congênitas e RCIU, e esse

sinergismo é um fator relevante que deve servir de alerta à população humana, já que há tendência mundial de desenvolvimento cada vez mais precoce do diabetes bem como do uso do etanol, demandando melhor entendimento das suas causas e mecanismos de interação, necessários para adoção de medidas preventivas.

ESTIRAMENTO OU FLUXO TURBILHONAR E BAIXA TENSÃO DE CISALHAMENTO INFLUEM DIFERENTEMENTE NO REMODELAMENTO AÓRTICO EM RATOS

Cibele Maria Prado

Orientador: Prof.Dr. Marcos A. Rossi

Tese de Doutorado apresentada em 29/09/2006

O presente estudo foi realizado para investigar a relação entre forças hemodinâmicas locais e remodelamento intimal e medial nos segmentos pré-estenose e pós-estenose da parede da aorta abdominal de ratos submetidos à estenose acentuada. Foram utilizados ratos Wistar machos divididos em dois grupos: *sham*-operado, grupo controle em que a aorta foi apenas manipulada, e grupo estenosado, animais submetidos à cirurgia de estenose da aorta abdominal. As aortas demonstraram duas respostas remodeladoras distintas e diferentes ao estímulo hemodinâmico induzido pela coarctação infra-diafragmática. A primeira é o remodelamento no segmento pré-estenótico hipertensivo com tensão circunferencial da parede aumentada associada com estresse tensional normal, fluxo laminar e tensão de cisalhamento normal. As células endoteliais eram heterogêneas, aumentadas em tama-

no e alongadas em direção ao fluxo. Além disso, observou-se conspícuas placas neointimais difusamente distribuídas e espessamento medial. Nossos achados sugerem que a tensão circunferencial da parede aumentada devido a hipertensão tem papel fundamental no remodelamento desse segmento através de efeitos biomecânicos sobre o estresse oxidativo e expressão aumentada de TGF- β . A segunda é o remodelamento no segmento pós-estenótico normotenso com fluxo turbilhonar e baixa tensão de cisalhamento na parede associados a tensão circunferencial da parede e estresse tensional normais. As células endoteliais apresentavam-se semelhantes aos controles, exceto por alterações fenotípicas focais associadas à presença de conspícuas placas neointimais focalmente distribuídas, similares mas muito maiores que as encontradas no segmento pré-estenose. Mais estudos são necessários para se determinar como as forças mecânicas do fluxo turbilhonar e da baixa tensão de cisalhamento na parede são detectadas e traduzidas em sinais bioquímicos para as células e convertidas em alterações fenotípicas patofisiologicamente relevantes.

SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO PARA DISFUNÇÃO MIOCÁRDICA E MORTALIDADE INTRA-HOSPITALAR EM NEONATOS E LACTENTES SUBMETIDOS A CIRURGIA CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Fabio Carmona

Orientador: Profa.Dra. Ana Paula de C. P. Carlotti
Dissertação de Mestrado apresentada em 11/08/06

Crianças submetidas à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea (CEC) apresentam disfunção miocárdica pós-operatória (PO), que contribui para

elevada morbi-mortalidade. A reação inflamatória sistêmica secundária à CEC e as condições clínicas pré-operatórias têm papel relevante na gênese dessa disfunção, sobretudo em neonatos e lactentes. A detecção precoce da disfunção miocárdica é difícil nessa idade, devido à manifestação tardia de alterações nos exames clínicos e laboratoriais, ressaltando a importância de instrumentos para diagnóstico e atuação precoce, visando melhor evolução pós-operatória. Os objetivos deste estudo foram identificar fatores de risco peri-operatórios para disfunção miocárdica e morte intra-hospitalar em crianças submetidas a cirurgia cardíaca com CEC. Objetivos secundários incluem a avaliação da reação inflamatória sistêmica e sua associação com os marcadores de disfunção miocárdica troponina I cardíaca (cTnI) e fração amino-terminal do peptídeo natriurético tipo B (NT-proBNP). Foram estudados 52 pacientes, com idade entre 5 dias e 20 meses. Foram coletadas amostras de sangue antes da cirurgia, no início da CEC, após remoção do *clamp* aórtico, no final da CEC e 4, 12, 24 e 48 horas após a cirurgia, para dosagem das concentrações de citocinas pró [interleucina (IL)-6, IL-8 e fator de necrose tumoral (TNF)- α] e antiinflamatórias (IL-10), cTnI e NT-proBNP. Dados clínicos, demográficos, cirúrgicos e laboratoriais foram coletados. Os pacientes foram divididos em 2 grupos, de acordo com a presença (grupo D+) ou ausência (grupo D-) de disfunção miocárdica pós-operatória, detectada por critérios clínicos ou ecocardiográficos. Trinta e quatro (65%) pacientes apresentaram disfunção miocárdica pós-operatória (grupo D+), e dezoito (35%) evoluíram sem disfunção (grupo D-). Os pacientes do grupo D+ foram significativamente mais jovens (1,6 *versus* 8,1 meses,

$p=0,0002$), apresentaram escore PRISM mais elevado na admissão à UTI (11 *versus* 3,5, $p=0,002$) e maior incidência de cardiopatias cianosantes (67 *versus* 16%, $p=0,001$) do que os pacientes do grupo D-. Não houve diferença quanto a parâmetros clínicos pré ou intra-operatórios entre os grupos. Antes da cirurgia, os pacientes do grupo D+ apresentaram maiores concentrações séricas de creatinina (0,8 *versus* 0,3 mg/dl, $p=0,02$) e NT-proBNP (708 *versus* 303 fmol/ml, $p=0,004$). Após a cirurgia, os pacientes do grupo D+ apresentaram elevação significativamente maior da concentração de NT-proBNP, IL-6, IL-8 e IL-10, mas não de cTnI. As concentrações máximas de cTnI e NT-proBNP apresentaram associação significativa com as concentrações máximas de IL-6, IL-8 e IL-10 ($p<0,05$). A análise de regressão logística multivariada mostrou que contagem de plaquetas 4 horas PO $<114 \times 10^3/\text{mm}^3$ (OR 28,9, $p=0,006$), presença de cianose pré-operatória (OR 51,3, $p=0,011$), idade <6 meses (OR=50,8, $p=0,012$), concentração de IL-8 4 horas PO >128 pg/ml (OR 32, $p=0,003$) e concentração pré-operatória de NT-proBNP >450 fmol/ml (OR 7, $p=0,022$) foram preditores independentes de disfunção miocárdica pós-operatória. A duração da CEC >102 minutos foi o único preditor independente de morte intra-hospitalar (OR 7,4, $p=0,027$). Em conclusão, a contagem de plaquetas 4 horas PO, presença de cardiopatia cianosante, idade, concentração de IL-8 4 horas PO e concentração pré-operatória de NT-proBNP foram preditores independentes de disfunção miocárdica, e a duração da CEC foi preditor independente de morte intra-hospitalar em crianças submetidas a cirurgia cardíaca com CEC.

SAÚDE MENTAL

DOR EM NEONATOS PRÉ-TERMO EM UNIDADE DE TERAPIA INTENSIVA NEONATAL: AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO COM SACAROSE

Cláudia Maria Gaspardo

Orientadora: Profa.Dra. Maria Beatriz M. Linhares
Dissertação de Mestrado apresentada em 11/08/2006

A dor encontra-se inerente aos procedimentos de tratamento intensivo dos recém-nascidos pré-termo em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. As

experiências precoces e repetidas de dor podem ter efeitos a longo prazo para os recém-nascidos vulneráveis. A Academia Americana de Pediatria e a Sociedade Pediátrica Canadense recomendam o uso da solução de sacarose como rotina para alívio da dor em Unidade de Terapia Intensiva Neonatal, durante os procedimentos invasivos e dolorosos. O presente estudo teve por objetivo avaliar as reações de dor de neonatos pré-termo durante procedimento de coleta de sangue, analisando o momento da punção, assim como os efeitos do manuseio dos neonatos para a antisepsia e o curativo e avaliar a eficácia da intervenção com solução de sacarose a 25% no alívio da dor administrando-a em dose única de 0,5ml/Kg. Trinta e três neonatos foram distribuídos randomicamente em dois grupos: Grupo Sacarose (n=17) e Grupo Água (n=16). Os neonatos foram avaliados durante dois dias consecutivos. Na primeira avaliação, os neonatos de ambos os grupos não receberam nenhuma substância antes do procedimento doloroso. Na segunda avaliação, o Grupo Sacarose recebeu sacarose oral e o Grupo Água recebeu água estéril, dois minutos antes do procedimento invasivo e doloroso de punção para coleta de sangue. Cada avaliação foi dividida em cinco fases: Linha de Base, Preparação para Punção (antisepsia), Punção, Recuperação com Manuseio (curativo) e Recuperação sem Manuseio. O indicador de dor foi avaliado pela atividade facial, que foi mensurada pelo Neonatal Facial Coding System. O nível de ati-

vação dos neonatos foi medido pelo estado de vigília e sono e pela frequência cardíaca. A análise entre grupos e intra-grupo dos dados revelou que no primeiro dia de avaliação os neonatos anteciparam a reação ao estímulo doloroso de punção, apresentando elevação significativa dos indicadores atividade facial, estado de vigília e sono e frequência cardíaca avaliados na Preparação para Punção. Ambos os grupos mostraram alta reatividade comportamental e fisiológica na fase de Punção, em comparação à Linha de Base. Durante a recuperação, o indicador fisiológico de frequência cardíaca continuou elevado. No segundo dia de avaliação os neonatos que receberam 0,5ml/Kg de solução de sacarose a 25% apresentaram menores escores de atividade facial, indicativo de menos dor, em comparação aos neonatos que receberam água estéril, antes, durante e após o procedimento de punção para coleta de sangue. Entretanto, o indicador fisiológico de frequência cardíaca não apresentou diferença significativa entre os grupos. Conclui-se que a dose de 0,5ml/Kg de solução de sacarose a 25%, recomendada para a administração da substância em doses repetidas, foi eficaz no alívio de dor, avaliada por meio da redução de indicadores comportamentais. Entretanto, o indicador fisiológico continuou elevado, sugerindo a necessidade de outras medidas de conforto associadas à sacarose, com a finalidade de atenuação do estado de ativação e irritabilidade do sistema nervoso central.

INDICADORES DE RISCO E PROTEÇÃO AO DESENVOLVIMENTO DO ESCOLAR: CRIANÇAS E FAMÍLIAS ATENDIDAS EM UM PROGRAMA DE ATENÇÃO PRIMÁRIA E SAÚDE DA FAMÍLIA

Silvia Helena Tortul Ferrioli

Orientadora: Profa. Dra. Edna Maria Marturano
Tese de Doutorado apresentada em 23/08/2006

Considerando-se a proposta do Programa de Saúde da Família, que enfatiza ações de proteção e promoção à saúde de maneira integral e contínua, é necessária a realização de pesquisas que identifiquem os indicadores de risco e de proteção ao desenvolvimento da criança em fase escolar, que representa a maior parte da clientela para atendimento psicológico em serviços públicos de saúde. Para que essas crianças possam entrar na adolescência sem comprometimento no seu desenvolvimento, compete aos contextos familiar e escolar atuar como fontes de suporte

para a realização de uma série de tarefas importantes (adaptação/desempenho escolar, competência nas relações interpessoais e aprendizado da leitura, entre outras). Baseado nessas concepções, o presente trabalho teve por objetivos: identificar, na população de seis a 12 anos cadastrada em um Núcleo de Atenção Primária e Saúde da Família, crianças em risco para transtornos emocionais/comportamentais, sinalizado pela presença de sintomas acima do limite da variabilidade normal; verificar a associação entre condições adversas e condições protetoras para o desenvolvimento, presentes no contexto familiar, e o risco de transtornos emocionais/comportamentais nas crianças; investigar, após um período mínimo de seis meses da avaliação das crianças e do contexto familiar, a per-

sistência dos sintomas emocionais/comportamentais identificados e a associação entre as condições do contexto familiar e a persistência dos sintomas emocionais/comportamentais. Para alcançar esses objetivos, foram avaliadas 100 famílias e suas respectivas crianças, em um delineamento longitudinal, quanto aos indicadores de risco e de proteção que podem interferir no desenvolvimento saudável da criança em fase escolar, sendo eles: nível intelectual, desempenho escolar e competência nas relações interpessoais; problemas de comportamento internalizantes e/ou externalizantes e estresse da criança e no ambiente escolar; nível sócio-econômico-educacional, recursos e eventos adversos do ambiente familiar, além estresse e depressão materna. Os dados foram analisados através de modelos de análises de regressão logística univariada e multivariada e do teste U de Mann-Whitney. Trinta e uma crianças foram classificadas no grupo clínico, segundo o instrumento de rastreamento - SDQ. Os problemas de comportamento externalizantes foram os melhores preditores de transtornos emocionais/comportamentais, enquanto que a competência nas relações interpessoais mostrou-se o fator de pro-

teção mais forte. A instabilidade financeira e problemas de saúde mental parental foram as condições do contexto familiar mais fortemente associadas ao risco para transtornos emocionais/comportamentais. A organização das atividades da criança quando esta não está na escola e a organização da rotina dos hábitos diários foram, nesta ordem, os melhores fatores de proteção. Quanto à persistência do risco para transtornos emocionais/comportamentais, observou-se que as crianças com evolução favorável têm melhor desempenho escolar e são avaliadas pelas mães como mais competentes nas relações interpessoais. O presente trabalho, através da investigação dos indicadores de risco e proteção ao desenvolvimento da criança escolar, forneceu indícios para a identificação precoce dos indivíduos em situação de vulnerabilidade, essencial no atendimento primário à saúde mental da criança. Os resultados deste estudo poderão fornecer subsídios para programas de capacitação dos profissionais que atendem a criança e sua família, além de destacar a possibilidade de utilização do instrumento de rastreamento (SDQ) pelas equipes do Programa de Saúde da Família.

ADAPTAÇÃO PSICOSSOCIAL E QUALIDADE DE VIDA DE VÍTIMAS DE ACIDENTES DE TRÂNSITO

Sílvia Helena Tenan Magalhães

Orientadora: Profa. Dra. Sonia Regina Loureiro
Tese de Doutorado apresentada em 15/09/2006

Os acidentes de trânsito tem sido apontados como um importante problema de saúde pública, sendo identificados como uma das principais causas de morte não natural e como responsáveis por seqüelas com implicações físicas e psicossociais para os envolvidos. Objetivou-se caracterizar as condições de saúde mental de condutores de veículos, vítimas de acidentes de trânsito que foram atendidos junto a uma Unidade de Emergência e que, do ponto de vista clínico, no momento da alta hospitalar foram considerados como apresentando condições de boa recuperação. Para tal foram realizados dois delineamentos. No delineamento 1 (D1) procedeu-se a avaliação psicossocial de 40 pessoas que sofreram acidentes de trânsito há cinco anos, comparando-se um grupo de pessoas com um único evento (N=20) a outro com reincidência em acidentes de trânsito (N=20). No delineamento 2 (D2) procedeu-se a avaliação psicossocial de 20 pessoas que sofreram acidente de trânsito ime-

diatamente após a alta hospitalar e seis meses depois. Os participantes dos dois delineamentos eram condutores por ocasião do acidente de trânsito, do sexo masculino, com idade entre 18 e 50 anos, procedentes de Ribeirão Preto. Procedeu-se nos dois delineamentos a avaliação da adaptação psicossocial por meio das condições de saúde mental (Questionário de Saúde Geral de Goldberg - QSG), dos indicadores de ansiedade (Inventário de Ansiedade de Beck - BAI), e depressão (Inventário de Depressão de Beck - BDI) e da qualidade de vida (Escala de Avaliação de Qualidade de Vida da Organização Mundial de Saúde – versão reduzida - WHOQOL-bref) e de um Questionário Complementar. Procedeu-se a avaliação individual em duas sessões. Os dados das diferentes técnicas foram codificados de acordo com as recomendações técnicas e posteriormente quantificados. No D1 procedeu-se a comparação dos grupos entre si (Teste T para amostras independentes) e destes a dados normativos recentes (Teste T para uma única amostra). No D2 procedeu-se a comparação das avaliações entre si (Teste T para amostras pareadas) e posteriormente cada avaliação foi comparada a dados normati-

vos recentes (Teste T para amostras independentes). Nos dois delineamentos procedeu-se a integração das variáveis por meio de análise correlacional. Adotou-se o nível de significância de $p \leq 0,05$. Os principais resultados apontaram que o grupo com recorrência em acidentes de trânsito (D1) apresentou mais prejuízos na adaptação psicossocial e na qualidade de vida, com mais indicadores de ansiedade e depressão e de impulsividade auto voltada, caracterizando uma situação de vulnerabilidade e risco psicossocial. Os condutores que se envolveram com acidentes de trânsito (D2) seis meses após a alta hospitalar, continuaram apresentando dificuldade quanto as condições psicológicas com manutenção dos indicadores de ansiedade e depres-

são e com risco de manifestação da impulsividade caracterizando prejuízos quanto à adaptação psicossocial. Tais dados indicam que a avaliação de boas condições de recuperação física no momento da alta não está associada a boas condições de saúde mental, chamando a atenção para a necessidade da avaliação das condições psicológicas pós acidente de trânsito no sentido de oferecer suporte psicológico para condutores que se envolveram com acidentes de trânsito, especialmente para aqueles que apresentaram recorrência ou indicadores de impulsividade e ansiedade, dada a possibilidade aumentada de novas ocorrências e o impacto negativo dos acidentes de trânsito para o indivíduo e para a sociedade.

ALTAS POR TRANSFERÊNCIA ENTRE PACIENTES PSIQUIÁTRICOS DE LONGA PERMANÊNCIA HOSPITALAR

Maria Valéria Scatolini Hernandez

Orientador: Prof. Dr. José Onildo Betioli Contel

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/09/2006

Introdução. O presente trabalho tem por objetivo estudar a difícil questão da pressão que o destino de pacientes de longa permanência hospitalar exerce sobre o sistema de atendimento à Saúde Mental. Entre os subprodutos dessa pressão sobressai a superlotação hospitalar. Uma solução comum para esse problema, no passado, recomendava a ampliação do número de leitos no sistema, seja no mesmo hospital ou pela transferência desses pacientes para novos hospitais, ou antigos hospitais, remodelados para esse fim. A partir de 1992, no entanto, políticas oficiais modernas de redução dessa clientela internada, passaram a proibir a abertura de novos leitos e a redirecionar esses pacientes para a comunidade.

Método. Em 1998, procurou-se caracterizar, em estudo descritivo exploratório, em amostra de conveniência de 78 pacientes adultos de ambos os sexos, as peculiaridades da transferência de um hospital de origem para várias instituições de destino. Os dados foram obtidos através de protocolo especial para caracterizar longa permanência hospitalar, hospital de origem e instituições de destino das transferências. O tratamento dos dados foi qualitativo e quantitativo para estudarem-se semelhanças e diferenças na amostra e comparações com a literatura.

Resultados. Observou-se uma amostra envelhecida com idade entre 50 e 69 anos (49%), de longa

permanência com duração de internação entre 16 e 25 anos (51 %), com diagnóstico prevalente de esquizofrenia (56%) e na qual 69% dos pacientes chegaram, no passado, ao hospital de origem, transferidos de outros hospitais psiquiátricos. Verificou-se nas instituições de destino que 35,2 % dos pacientes estavam inseridos em programas alternativos, enquanto a expectativa, durante os encaminhamentos de transferência era de 66,7%.

Discussão. Os resultados mostraram que persistência da prática das transferências continua na atualidade em notável contraste com o novo ideal da política de assistência à saúde mental da moderna legislação de 1992, que pretendia bani-la como técnica de manejo de hospitais superlotados. Resultados mostram que a persistência da prática das transferências continua na atualidade em notável contraste com o novo ideal da política de assistência à saúde mental da moderna. Mostra também que o paradigma assistencial centrado no hospital psiquiátrico precisa muito mais que uma legislação e muito mais tempo para ser mudado em seus alicerces centenários, pois mais da metade da amostra (70,1 %) de pacientes estudados foram submetidos, mais uma vez, a uma nova transferência.

Conclusão. A persistência das transferências comprova dados da literatura sobre a gravidade da psicopatologia, o difícil manejo dessa clientela e a insuficiência quantitativa e qualitativa dos recursos para reabilitá-la, fora das tradicionais longas internações em hospitais psiquiátricos tradicionais.

DOENÇA DE CHAGAS: INDICADORES COGNITIVOS DE TRANSTORNO ORGÂNICO CEREBRAL, DE USO DE ÁLCOOL E QUALIDADE DE VIDA

Martha Franco Diniz Hueb

Orientadora: Profa.Dra. Sonia Regina Loureiro
Tese de Doutorado apresentada em 28/09/2006

A doença de Chagas é decorrente de uma infecção parasitária produzida pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*, que se reproduz no organismo humano. A associação de comprometimento psicológico à doença de Chagas e a sua influência no comportamento e na vida dos portadores já foram reconhecidas, embora pouco estudadas. Objetivou-se avaliar o funcionamento cognitivo, a memória, a qualidade de vida, a presença de indicadores de transtorno orgânico cerebral e de problemas com o uso de álcool, por meio de testes psicológicos específicos, em um grupo de soropositivos para doença de Chagas, em comparação a um grupo de soronegativos para doença de Chagas, residentes na mesma comunidade, visando analisar o impacto psicossocial da doença na vida dos portadores. Para tal, foram avaliados, 80 participantes, distribuídos em dois grupos G1-sorologia positiva e G2-sorologia negativa balanceados por idade, sexo e escolaridade, excluindo aqueles com deficiências sensoriais e problemas psiquiátricos previamente diagnosticados. Procedeu-se a avaliação individual dos participantes, atendo-se a um critério duplo cego quanto à alocação nos grupos, por meio dos seguintes instrumentos: Inventário de Inteligência Não Verbal - INV, Memória Auditiva e Visual - da Bateria CEPA, Escala de Avaliação da Qualidade de Vida - WHOQOL-bref,

Teste Gestáltico Visomotor de Bender e do Teste de *screening* de alcoolismo - CAGE. Os dados foram tratados por procedimentos estatísticos procedendo-se a comparação dos grupos, e destes aos dados normativos. ($p < 0,05$). Observou-se na comparação dos grupos, com significância estatística, maior prejuízo cognitivo para o grupo com doença de Chagas. Quanto à memória visual, auditiva, indicadores de transtorno orgânico cerebral e de problemas com o uso de álcool os grupos não apresentaram diferença com significância estatística. Em comparação aos dados normativos ambos os grupos apresentaram com significância estatística, maior prejuízo cognitivo geral e específico, menor qualidade de vida nos domínios físico e psicológico e mais indicadores de problemas com o uso de álcool. Dentre as variáveis avaliadas o nível intelectual foi o que apresentou maior significância estatística e melhor poder discriminativo na comparação dos grupos, apontando que os participantes com doença de Chagas tendem a ter valores inferiores na avaliação cognitiva. Ao se comparar grupos de uma mesma comunidade, constatou-se que o impacto da doença de Chagas na vida dos portadores expresso em prejuízos de ordem cognitiva e na qualidade de vida é relativo, evidenciando que as condições de precariedade de recursos a que ambos estão expostos os diferencia negativamente dos parâmetros normativos, apontando para a necessidade de políticas públicas que instrumentem práticas de saúde favorecedoras do desenvolvimento psicossocial em comunidades carentes de recursos.

VIOLÊNCIA DOMÉSTICA : RECURSOS E ADVERSIDADES DE CRIANÇAS E FAMÍLIAS PÓS AÇÕES DO CONSELHO TUTELAR

Rute Grossi Milani

Orientadora: Profa.Dra. Sonia Regina Loureiro
Tese de Doutorado apresentada em 29/09/2006

A violência doméstica tem sido considerada uma condição de risco psicossocial ao desenvolvimento infantil. Em nosso meio, é obrigatória a notificação dessa forma de violência ao Conselho Tutelar. Objetivou-se avaliar as variáveis pessoais de crianças que, há três anos, foram identificadas como estando em risco psicossocial, associado à violência doméstica, o que

implicou em medidas legais junto ao Conselho Tutelar. Propôs-se analisar os elementos de proteção a tal situação de risco, integrando as informações relativas às crianças com as do ambiente familiar, enquanto recursos e adversidades. Foram avaliadas 40 crianças, de ambos os sexos, de nove a 12 anos, que residem com pelo menos um dos pais biológicos, divididas em dois grupos. G1: 20 crianças (grupo com história de risco psicossocial associado à violência doméstica), que receberam medidas do Conselho Tutelar há três anos; G2: 20 crianças (grupo de comparação), sem

história de risco psicossocial relatada. Para a seleção dos participantes, foi aplicado às crianças o Teste das Matrizes Progressivas Coloridas de Raven e, com os pais, realizou-se, individualmente, uma entrevista semi-estruturada visando a investigar aspectos do cuidado com a criança e história prévia de atendimento pelo Conselho Tutelar. Para a coleta de dados junto às crianças, foram aplicadas a Escala de Stress Infantil, a Escala Infantil Piers-Harris de Autoconceito e o Teste de Desempenho Escolar. Os responsáveis responderam à Escala Comportamental Infantil de Rutter, ao Inventário de Recursos no Ambiente Familiar, à Escala de Eventos Adversos e ao Critério de Classificação Socioeconômica. Procedeu-se às análises de comparação dos grupos, através do teste paramétrico t de student ou do teste não-paramétrico U de Mann-Whitney, Teste Exato de Fisher e/ou Teste do Qui-quadrado (X^2), e a integração dos dados, pelos testes de correlação univariada e análise de regressão logística, considerando um $p < 0,05$. Observaram-se diferenças significativas entre os grupos tanto para as variáveis das crianças como para as do ambiente familiar. Com relação às variáveis pessoais das crianças, as do G1 foram referidas pelas mães como apresen-

tando maior dificuldade de comportamento e maior necessidade de cuidados especializados do que as do G2. As crianças do G1 se autoperceberam com um auto conceito mais negativo na área comportamento e apresentaram mais dificuldade no desempenho escolar na área de escrita. Quanto às características do ambiente familiar, observaram-se diferenças significativas quanto à ocorrência de adversidades, particularmente, a adversidade parental. Com relação aos recursos do ambiente familiar, observaram-se, para ambos os grupos, recursos semelhantes, entretanto, as correlações entre recursos do ambiente familiar e variáveis da criança sugeriram um melhor aproveitamento destes recursos pelas crianças sem história de risco psicossocial relatada. Concluiu-se que as crianças e as famílias se encontram em condições de vulnerabilidade, o que pode estar dificultando, para as crianças, a realização das tarefas evolutivas próprias da idade escolar. A atuação do Conselho Tutelar teve um caráter pontual, como um disparador de ações da rede de serviço de apoio. Contudo os dados evidenciam a necessidade de dar continuidade às medidas de saúde mental, preventivas e de seguimento, para as crianças e famílias.

SAÚDE NA COMUNIDADE

SAÚDE BUCAL E TRATAMENTO ODONTOLÓGICO: REPRESENTAÇÕES SOCIAIS DE MÃES USUÁRIAS DE UM SERVIÇO DE SAÚDE

Sidney Marcel Domingues

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos D. de Carvalho
Dissertação de Mestrado apresentada em 06/07/2006

A figura da mãe no interior do ambiente familiar é de extrema importância, devido ao fato de que ela é a personagem principal da família, com voz decisória, no trato de questões de saúde e doença, sendo, também, responsável pelo equilíbrio no binômio saúde-doença, podendo, portanto, estar sendo a porta de entrada para uma boa ou má educação em saúde bucal para seu filho. O presente estudo teve por objetivo investigar quais as representações sociais de mães de crianças da faixa etária de 0 a 5 anos de idade do Núcleo de Saúde da Família IV, em Ribeirão Preto – SP,

procurando saber qual o pensamento das mesmas em relação à saúde bucal e ao tratamento odontológico. Com a análise das entrevistas, constatamos uma grande dificuldade, por parte das mães, em se expressar a respeito do que seria saúde. Para elas a saúde bucal está relacionada com normas de higiene, dietéticas e a ida ao dentista, restringindo-se na preocupação com a estética e pouco com a função. Já em relação ao tratamento odontológico, verificou-se que a grande maioria das mães entrevistadas demonstrou apresentar medo, causado pela sua experiência anterior com o tratamento. Para essas mães o tratamento odontológico particular está associado à pontualidade e ao atendimento da maneira desejada e o tratamento oferecido pelo setor público à demora e à falta de equipamentos/materiais.

Pode-se perceber que duas questões são importantes para elas e podem estar determinando a decisão de ir ou não ao dentista: humanização e competência. Esta pesquisa contribui para o diagnóstico em saúde bucal e para o desenvolvimento de ações públicas voltadas

à melhoria das condições de saúde da população e busca subsidiar possíveis mudanças nas ações dos cirurgiões-dentistas, seja na promoção de saúde ou mesmo na ação curativa e na superação das desigualdades que, ainda hoje, estão presentes na área.

SISTEMAS DE INFORMAÇÃO EM SAÚDE: A PERCEPÇÃO E A AVALIAÇÃO DOS PROFISSIONAIS ENVOLVIDOS NA ATENÇÃO BÁSICA DE RIBEIRÃO PRETO / SP

Débora Cristina Modesto

Orientadora: Profa. Dra. Aldaísa Cassanho Forster
Dissertação de Mestrado apresentada em 07/07/2006

Para que um serviço de saúde tenha um conhecimento atualizado e estruturado das condições de saúde da população do seu território, é necessário um adequado planejamento de suas ações e utilização de instrumentos viáveis e factíveis no seu cotidiano. Assim, a análise das informações disponíveis é importante, especialmente aquelas referentes e provenientes de indicadores locais. Estas, na sua maioria, são oriundas de algum sistema de informação em saúde (SIS). Os SIS têm a intenção de facilitar a formulação e avaliação das políticas, planos e programas de saúde, subsidiando o processo de tomada de decisões, a fim de contribuir para melhorar a situação de saúde individual e coletiva. Descreveu-se a percepção dos diferentes atores integrantes dos Núcleos de Saúde da Família envolvidos no manuseio dos SIS utilizados nestas unidades no município de Ribeirão Preto. Estudo exploratório e descritivo com abordagem qualitativas utilizando-se de entrevistas semi-estruturadas, individuais e gravadas, com 37 profissionais de saúde, dentre médicos, enfermeiros, auxiliares de enfermagem e agentes comunitários de saúde de cinco equipes de Saúde da Família de Ribeirão Preto. Foram realizadas entre janeiro e março de 2006. Utilizou-se do método de análise de conteúdo para alcançar os resultados esperados. Na atenção básica temos o Sistema de In-

formação da Atenção Básica – SIAB como o principal SIS utilizado nas Unidades de Saúde da Família, quando não o único informatizado. É dele que provem a maioria dos instrumentos e fichas que a equipe preenche e tem como fonte de informações. Os profissionais de saúde, em sua maioria, o tem como uma ferramenta de trabalho poderosa para melhoria de perfil epidemiológico, mas que é subutilizado. Esta subutilização na visão deles se dá devido a: limitações e falhas do sistema; por ser puramente quantitativo; pela fragilidade no conhecimento da equipe e despreparo para extrair toda sua capacidade; por uma ausência de treinamentos; e pela falta de incentivo para análise dos dados em nível local. Um bom SIS depende da periodicidade do fluxo de fornecimento dos dados e de um criterioso preenchimento dos instrumentos de coleta. Além disto, que proporcione relatórios e resultados viáveis para utilização no planejamento de atividades das unidades. Mas é necessário que as pessoas envolvidas na sua manutenção tenham clareza sobre suas possibilidades para assim conseguir extrair o seu potencial e transformar em uma realidade local, detectando focos prioritários, levando a um planejamento das suas atividades e a um norteamento e execução das ações da equipe de forma adequada. O SIAB apresenta debilidades e deficiências, mas alguns profissionais também apresentam dificuldades na hora de manipulá-lo, tanto na alimentação do SIS quanto na análise crítica de seus relatórios, pois isto não é adotado como rotina nas unidades.

REESTRUTURAÇÃO PRODUTIVA E SAÚDE DO TRABALHADOR: UM ESTUDO COM OS TRABALHADORES DE UMA INDÚSTRIA AVÍCOLA

Marcos Acácio Neli

Orientadora: Profa. Dra. Vera Lucia Navarro
Dissertação de Mestrado apresentada em 11/07/2006

As mudanças na organização, nos processos e nas relações de trabalho, que estão no bojo do processo de reestruturação produtiva capitalista, se intensi-

ficaram a partir das últimas décadas do século XX, resultando em um quadro de agravamento das condições de trabalho que interfere diretamente nas condições de saúde dos trabalhadores de forma geral. Esta pesquisa se debruça sobre estas questões, tomando como objeto de investigação a atividade laboral dos trabalhadores do setor de alimentos empregados em uma unidade de processamento de aves, pertencentes a uma das maiores empresas deste ramo no país, localizada na região oeste do Estado do Paraná. A metodologia adotada para esta pesquisa foi de cunho qualitativo e foram utilizadas como instrumento de coleta de dados, entrevistas abertas. Ao todo foram entrevistados dez trabalhadores, de ambos os sexos, que foram contatados através da técnica de indicação sucessiva, somando aproximadamente 5h e 30m de gravação. Foram também realizadas entrevistas com a psicóloga e com o presidente do sindicato a qual

estão vinculados os trabalhadores desta indústria avícola. A partir das informações obtidas com os trabalhadores foi realizada a reconstituição do processo de trabalho observando a sua dinâmica (destacando as questões referentes à organização e divisão do trabalho e aquelas relacionadas ao uso de tecnologias), e a descrição do ambiente de trabalho; visando compreender como são as condições de trabalho para saber se as mesmas interferem na saúde dos trabalhadores. A análise dos conteúdos das entrevistas revelou que a organização do trabalho fundada nos preceitos taylorista/fordista predominante naquele setor, foi acrescida por outras técnicas de organização da produção e do trabalho, inspiradas no modelo japonês ou toyotista, e que estão interferindo nas condições de saúde dos trabalhadores tanto física quanto psíquica. O crescimento de casos de LER na categoria aparece de forma destacada nos depoimento colhidos.

PREVALÊNCIA DE SOBREPESO E OBESIDADE EM CRIANÇAS DE ESCOLAS PÚBLICAS E PRIVADAS DO ENSINO FUNDAMENTAL DA CIDADE DE FRANCA-SP E ALGUNS FATORES DE RISCO ASSOCIADOS

Daniela Elias Goulart de Andrade

Orientador: Prof. Dr. Amaury Léllis Dal Fabbro

Dissertação de Mestrado apresentada em 26/07/2006

Nas últimas décadas houve aumento significativo na prevalência da obesidade nos países desenvolvidos e vem crescendo também naqueles em desenvolvimento, tornando-se um dos principais problemas de saúde pública. A importância do diagnóstico e tratamento da obesidade em fases precoces da vida justifica-se, pois ela favorece alterações metabólicas que se tornam mais graves quanto maior o grau de obesidade e o tempo de sua instalação. O objetivo deste trabalho é avaliar o estado nutricional de escolares do ensino fundamental de escolas da rede pública e privada da cidade de Franca-SP e conhecer a prevalência de sobrepeso/obesidade, investigando possíveis associações entre componente alimentar, atividade física e nível sócio-econômico dos mesmos, fatores considerados como possíveis influentes da obesidade, tornando-se necessário intervir com um programa de educação alimentar antes que a doença se agrave. Foram avaliados 492 alunos de ambos os sexos com idades entre 6 e 10 anos matriculados da 1ª a 4ª séries do ensino fundamental de escolas particulares, esta-

duais e municipais da cidade de Franca-SP, através de avaliação nutricional com coleta de dados antropométricos (peso e altura) e aplicação de um questionário sobre hábitos alimentares, atividade física e condição sócio-econômica elaborado pelos pesquisadores. Foi encontrado que 59,6% das crianças estudadas são eutróficas; 15,8% se encontram nas classificações de baixo peso e 24,6% foram classificadas como excesso de peso, onde 11,6% possuem sobrepeso e 13,0% obesidade. Os dados vão de encontro à literatura, porém, a prevalência da obesidade parece ser maior que os últimos achados. Houve uma associação do nível sócio-econômico com a prevalência de excesso de peso, com predominância nas escolas particulares (37,4%), em relação às escolas estaduais (23,7%) e municipais (18,9%) ($p=0,004$). Destaca-se que 28,0% dos sujeitos obesos estão matriculados em escolas particulares. Das 492 crianças avaliadas, 56,5% realizam apenas a prática desportiva oferecida no currículo escolar. Os sujeitos classificados como eutrófico/baixo peso realizam uma frequência mais adequada de atividade física (68,6%), se comparados com os classificados como sobrepeso/obesidade (34,4%). No que se refere aos hábitos alimentares, a preferência alimentar de 38,4% é de alimentos do grupo energético

extra e 72,9% tem como alimentos que menos gostam aqueles do grupo de reguladores. A informação que o excesso de peso está instalado em aproximadamente 25% da população estudada, que o sedentarismo é a realidade da maioria das crianças, que a preferência em sua alimentação são os alimentos fontes de energia extra, enquanto, aqueles que são fontes de vitami-

nas, sais minerais e fibras são os de menor preferência, traz grande preocupação, tornando-se necessário desenvolver um programa de incentivo a prática de atividade e de reeducação alimentar com as crianças estudadas e suas respectivas famílias, com o objetivo de reduzir as taxas de obesidade encontradas e prevenir que esta instale nesta população.

ESTUDO DO COTIDIANO E QUALIDADE DE VIDA DE PESSOAS COM INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA (IRC), EM HEMODIÁLISE

Karina Viviani Bezerra

Orientador: Prof. Dr. Jair Lício Ferreira Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 16/08/2006

A insuficiência renal crônica (IRC) é considerada um grande problema de saúde pública, devido às altas taxas de morbidade e mortalidade. Os insuficientes renais crônicos (IRCs) apresentam várias dificuldades em seu cotidiano, como: constantes visitas ao médico, sessões de hemodiálise e restrições alimentares; fatores que desestruturam seu cotidiano e comprometem sua qualidade de vida. Essa pesquisa tem como objetivo avaliar a percepção das pessoas com IRC com relação a atividades cotidianas e ocupacionais, junto a dois serviços públicos de saúde em Ribeirão Preto; assim como avaliar a percepção da qualidade de vida dentro dos seguintes domínios: Físico, Psicológico, Social e Meio Ambiente. A amostragem analisada foi composta por 70 indivíduos adultos que recebiam hemodiálise, de ambos os sexos (35 homens e 35 mulheres), com idades variando entre 17 e 60 anos. Os dados foram coletados através da aplicação de três questionários: o primeiro estruturado para a caracterização de dados sócio-demográficos, o segundo para a auto-avaliação do Funcionamento Ocupacional (SAOF) e o terceiro para a Avaliação de

Qualidade de Vida da Organização Mundial da Saúde (WHOQOL-bref). Os instrumentos foram úteis e de importância para avaliar a qualidade de vida e o desempenho ocupacional dessas pessoas: observou-se na aplicação do SAOF que, embora a predominância dos resultados possa ser considerada satisfatória, a área com maior escolha da alternativa “necessidade de melhora” foi a de hábitos e valores (20% e 20,5%, respectivamente). Apesar da porcentagem não ser muito alta, é aqui que as dificuldades com relação à organização do cotidiano são mais evidentes, principalmente frente às mudanças de rotinas e expectativas quanto ao futuro. Na aplicação do WHOQOL-bref, constatou-se que os pacientes que se auto-avaliaram com menor média de qualidade de vida são os que têm cônjuge (54.6%), os que estão há mais de um ano em hemodiálise (52.6%), e os pacientes do sexo masculino (58.6%). A variável “anos de escolaridade” mostrou que as pessoas com menos instrução apresentam menor avaliação de sua qualidade de vida nos domínios Físicos (51.1%), Social (61.0%) e Meio Ambiente (61.1%). Entende-se, portanto, que a Terapia Ocupacional apresenta recursos instrumentais para a reestruturação do cotidiano desses pacientes, podendo constituir-se em valiosa contribuição para a assistência.

ÍNDICE DE SAÚDE APLICADO AO MUNICÍPIO DE ARARAQUARA, SP: UM INSTRUMENTO PARA O ACOMPANHAMENTO DA ATENÇÃO BÁSICA

Augustus Tadeu Relo de Mattos

Orientadora: Profa.Dra. Maria do Carmo Gullaci Guimarães Caccia-Bava

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/08/2006

O aprimoramento do processo de avaliação e monitoramento da Atenção Básica vem sendo almeja-

do pelos gestores das diversas esferas no contexto do Sistema Único de Saúde - SUS. Nesse sentido, buscou-se identificar alguns aspectos da assistência à saúde no município de Araraquara, SP, a partir das características particulares presentes nas áreas de adscrição de cada unidade de saúde. A adoção de um indicador composto permitiu contemplar a emergência de fenô-

menos a partir de uma visão mais abrangente. Valeu-se da metodologia desenvolvida no Índice de Saúde de Drumond Jr, cujo valor final do Índice é obtido pela média dos valores dos componentes de cada Distrito de Saúde. Aos componentes adotados originalmente - Coeficiente de Mortalidade Infantil, Coeficiente de Incidência de Tuberculose, Coeficiente de Mortalidade por Causas Externas e Coeficiente de Mortalidade Precoce por Doenças Crônicas, agregou-se ainda nes-

se estudo, a Taxa de Alfabetização e o Rendimento Médio Nominal Mensal de Pessoas Responsáveis pelos Domicílios. As 24 Unidades de Saúde foram classificadas segundo os valores obtidos na relação entre seus componentes. Os resultados apontam diferenciais intra-urbanos para a maioria dos componentes e menores valores das Unidades de Saúde da periferia do município.

AUTO-PERCEPÇÃO DA VOZ E INTERFERÊNCIAS DE PROBLEMAS VOCAIS: UM ESTUDO COM PROFESSORES DA REDE MUNICIPAL DE RIBEIRÃO PRETO/SP

Adriana Pereira Defina-Iqueda

Orientador: Prof.Dr.Jair Lício Ferreira Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 31/08/2006

A maior incidência de disfonia em profissionais que utilizam a voz falada como instrumento de trabalho está entre os professores. O distúrbio da voz relacionado ao trabalho é caracterizado como qualquer alteração vocal diretamente relacionada ao uso da voz durante a atividade profissional que diminua, comprometa ou impeça a atuação e/ou a comunicação do trabalhador. Fatores ambientais e organizacionais podem atuar como atores principais ou coadjuvantes ao desenvolvimento da doença, que freqüentemente ocasiona incapacidade laboral temporária ou permanente; pode ou não haver lesão nas pregas vocais secundária ao uso vocal. Evidências científicas abundantes mostram a contribuição da saúde geral para a qualidade de vida das pessoas ou de populações. Da mesma forma, é sabido que muitos componentes da vida social contribuem para uma vida com qualidade. No caso dos professores, esses componentes envolvem questões muito além do uso excessivo da voz, como problemas de adaptação profissional, condições ruins de trabalho, espaço físico inadequado devido a higiene do ambiente e ao número de alunos ou à má condição acústica da classe, violência, pouco tempo de preparo para as aulas e o estresse gerado pela má remuneração e pelas más condições gerais de trabalho e saúde, entre outros. Muito pode ser evitado se houver atenção à saúde vocal do professor, que deveria ser iniciada durante a formação profissional, visto que muitos professores apresentam episódios de disfonia antes do término da graduação. Com essa mudança, os prejuí-

zos com o absenteísmo dos professores às salas de aulas, que em 2004 ultrapassaram duzentos milhões de reais, poderão ser diminuídos. É preciso ouvir o educador para a elaboração de leis que garantam ao professor o direito de ter o seu distúrbio vocal, quando relacionado ao trabalho, reconhecido como uma doença ocupacional. O objetivo do presente é observar a influência da alteração vocal nos aspectos profissional, pessoal e emocional dos professores da rede pública municipal da cidade de Ribeirão Preto. Participaram da amostra 118 professores, atuantes em salas de aula, da rede municipal de Ribeirão Preto, ambos os sexos, do ensino infantil, fundamental e médio e 96 sujeitos não-professores (controle). Todos foram solicitados a responder o protocolo Vapp - Voice Activity and Participation Profile e o questionário de caracterização da amostra. Os resultados mostraram que a prevalência de 93% de queixa de disfonia entre os professores da rede pública municipal da cidade de Ribeirão Preto/SP e baixos escores de auto-percepção quanto à severidade do problema vocal, como também para a influência dos efeitos da alteração vocal no trabalho, na comunicação diária, na comunicação social e nas emoções. Os valores do PLA revelaram que no momento da entrevista, os professores consideravam-se pouco limitados em suas atividades devido ao problema vocal. Os valores do PRP mostraram que nos últimos seis meses os professores foram pouco restritos em participar de atividades profissionais e de vida diária devido ao problema vocal. Pode ser concluído que os professores da rede municipal de Ribeirão Preto apresentaram baixa influência de problemas vocais nos aspectos profissional, pessoal e emocional no momento da entrevista como também nos últimos seis meses.

ALEITAMENTO MATERNO E PROGRAMA SAÚDE DA FAMÍLIA - A PRÁTICA DO ALEITAMENTO MATERNO DE CRIANÇAS DE 0 A 6 MESES CADASTRADAS EM NÚCLEOS DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO PRETO

Renata Giannecchini Bongiovanni

Orientador: Profa.Dra.Maria do Carmo Gullaci Guimarães Caccia-Bava

Dissertação de Mestrado apresentada em 31/08/2006

O aleitamento materno é um dos principais instrumentos para a promoção da saúde infantil. O leite materno é o alimento completo para o crescimento e desenvolvimento das crianças até os 6 meses. O objetivo deste estudo foi avaliar as práticas do aleitamento materno entre as crianças de 0 a 6 meses cadastradas em Núcleos de Saúde da Família da cidade de Ribeirão Preto (SP) e caracterizar as mães quanto a variáveis socioeconômicas e demográficas, assistência pré-natal e natal, às características dos recém-nascidos;

verificar a associação do aleitamento materno exclusivo com as variáveis e analisar a duração do aleitamento materno exclusivo. Foi realizado inquérito domiciliar com uma amostra de 53 crianças, através de questionários, para caracterizá-las de acordo com as variáveis e verificar a duração do aleitamento materno exclusivo. Na análise da duração do aleitamento materno exclusivo e suas variáveis foi utilizada a curva de Kaplan-Meier. A duração mediana do aleitamento materno exclusivo foi de 70 dias. Encontramos associação positiva entre duração do aleitamento materno exclusivo e as seguintes variáveis: crianças nascidas em Hospital Amigo da Criança, não uso de chupeta, não uso de mamadeira, realização de puericultura em unidade de saúde da família.

AVALIAÇÃO DOS SERVIÇOS DE ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE NO MUNICÍPIO DE UBERABA: ACESSIBILIDADE, UTILIZAÇÃO E LONGITUDINALIDADE DA ATENÇÃO

Gisele Paula Martins

Orientadora: Profa.Dra.Aldaísa Cassanho Forster

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/09/2006

A atenção primária é recomendada como um princípio organizador para os sistemas de saúde, preconizando, dentre outros aspectos, a acessibilidade, a utilização e longitudinalidade nos serviços de atenção primária, que este trabalho buscou conhecer no município de Uberaba. Para tanto, foram avaliadas: a acessibilidade dos serviços de atenção primária; a utilização do serviço de referência de atenção primária pela população adstrita; a capacidade de a população adstrita identificar qual é o serviço de referência de atenção primária da área onde mora; a opinião do usuário sobre a capacidade dos profissionais de saúde em identificar a população adstrita à área de atuação de seu serviço de saúde; a percepção do usuário sobre a existência de laços interpessoais (vínculo) entre os usuários dos serviços de saúde e os profissionais da equipe. Propôs-se a avaliar, ainda, se a estratégia adotada para o processo assistencial nos serviços de atenção

primária estudados, influenciou na acessibilidade, utilização e longitudinalidade da atenção ofertada. Este é um estudo do tipo quantitativo, descritivo e transversal realizado por meio da aplicação de um questionário em domicílios selecionados aleatoriamente no Distrito Sanitário II (DSII), no município de Uberaba, MG. Foram realizadas 795 entrevistas nos domicílios selecionados por amostragem sistemática, no período de setembro de 2005 a março de 2006. Na amostra estudada, 74% dos entrevistados sabiam identificar a localização da unidade de saúde do seu bairro. A análise dos dados mostrou que, na percepção de 96% das pessoas entrevistadas, não existiam barreiras importantes que prejudicassem a acessibilidade quanto ao aspecto geográfico. Entretanto, foram identificados valores muito aquém daqueles considerados adequados, na literatura consultada, na investigação do tempo de espera para obtenção tanto de atendimento na recepção dos serviços, quanto de procedimentos clínicos ou de prevenção/promoção da saúde. Os achados deste estudo sugeriram, ainda, que a forma de organização do trabalho e o horário de funcionamento das unidades de atenção primária à saúde foram obstácu-

los organizacionais que dificultaram o acesso das pessoas aos serviços oferecidos. Cerca de 69,3% dos entrevistados referiram utilizar a sua unidade básica de saúde de referência, para obtenção de algum tipo de atendimento, havendo variação nesse percentual dependendo do tipo de procedimento investigado. Os resultados desta pesquisa sinalizam para uma baixa vinculação entre usuários e profissionais dos serviços estudados, apontando, ainda, para uma incipiente utilização da unidade de referência como fonte regular de atenção ao longo do tempo. Para avaliação comparada entre as diferentes áreas de abrangência do DSII e as distintas formas de assistência foram atribuídos pontos para os percentuais alcançados em cada característica investigada. A análise dos dados sugeriu que a organização do serviço por meio da estratégia de saúde da família melhorou a capacidade de identificação da unidade de referência, sem, entretanto, repercutir na utilização da mesma. Apesar dos baixos escores alcançados em todas as áreas de abrangência, para a acessibilidade organizacional, as áreas organizadas com equipes de saúde da família apresentaram escores discretamente mais elevados, sugerindo que esta forma de organização dos serviços de saúde favoreça os aspectos organizacionais investigados. Quanto à utilização dos serviços, identificou-se pequeno impacto da estratégia adotada para organização do

processo assistencial, nos serviços de atenção primária das áreas de abrangência estudadas, sobre a utilização dos mesmos pela população adstrita. A avaliação dos aspectos ligados à relação entre usuários e profissionais de saúde obteve escores baixos em todas as áreas de abrangência estudadas. A capacidade de usuários e profissionais de saúde se identificarem pelo nome obteve escores discretamente mais elevados nas áreas que têm seus serviços organizados com equipes de saúde da família. Assim, parece adequado supor que a estratégia da saúde da família favorece que usuários e profissionais se identifiquem pelo nome, principalmente os usuários em relação aos profissionais da equipe. Essa observação é válida também para a análise da percepção dos usuários sobre a capacidade da equipe conhecer bem a eles e seus familiares. Os achados não permitiram relacionar a capacidade das equipes das unidades responderem às necessidades dos usuários, com a estratégia de organização dos serviços de saúde na área estudada. O componente da longitudinalidade, investigado pela percepção do usuário sobre a atenção prestada com foco na pessoa, foi o aspecto que recebeu a menor pontuação. Os achados desta avaliação não apontaram para impacto da estratégia de organização dos serviços de saúde na formação de vínculo entre usuários e profissionais dos serviços estudados.

A UTILIZAÇÃO DO SISTEMA DE INFORMAÇÃO DA ATENÇÃO BÁSICA-SIAB PELOS PROFISSIONAIS MÉDICOS DAS EQUIPES DE SAÚDE DA FAMÍLIA, DOS MUNICÍPIOS DA ÁREA DE ABRANGÊNCIA DIREÇÃO REGIONAL DE SAÚDE XVIII- RIBEIRÃO PRETO, SP

Jorge Luiz Rigobello

Orientador: Prof.Dr.Juan Stuardo Yazlle Rocha

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/09/2006

O presente estudo teve como objetivos caracterizar o perfil dos profissionais médicos que atuam nas ESFs dos municípios da área de abrangência da DIR XVIII, Ribeirão Preto, SP e a utilização do Sistema de Informação da Atenção Básica por este profissional, no seu trabalho na Equipe de Saúde da Família. Utilizou-se um estudo tipo *Survey*, no qual a coleta de dados foi realizada por meio de questionários auto-administrados compostos por perguntas de respostas fechadas, do tipo múltipla escolha, perguntas de respostas tipo abertas e perguntas que utilizavam a Es-

cala de Avaliação Gráfica. A análise dos resultados possibilitou a caracterização do perfil dos profissionais, na maioria do sexo masculino (60%), em média com 38 anos de idade, possuidor de pós-graduação (85%), predominantemente do tipo *lato sensu*, concentrada em residência e especialização nas áreas de clínica médica, pediatria e ginecologia. Os profissionais tinham em média 11 anos de profissão, encontrando-se na fase de afirmação profissional e atuando há cerca de 03 anos em PSF. A maioria possuindo vínculos empregatícios precários sem estabilidade (61%), trabalhando em outros locais além do PSF (65%). Os profissionais referiram conhecer o SIAB (85%), com um grau de conhecimento, em média, de 53% e possuem uma visão positiva sobre ele, atribu-

indo-lhe muita importância para o desenvolvimento do seu trabalho na Equipe de Saúde da Família, em média 64,89%, e para a caracterização da população atendida, em média 62,78%, merecendo ressaltar de vários profissionais quanto à limitação do sistema em relação aos dados coletados a nível local. A necessidade de treinamento foi relevada como possibilidade de capacitação na busca por um maior conhecimento no uso do sistema. Do total de respondentes, apenas 29,4% referiram ter feito treinamento. Outro ponto importante referia-se à readequação da agenda de atividades da ESF, com o objetivo de proporcionar a efetivação de um espaço de discussão acerca do sis-

tema e às informações por ele geradas. O autor acredita que com a implementação de propostas emergidas de um estudo entre os diversos atores envolvidos no processo saúde-doença, em que sejam contemplados não somente os profissionais de linha de frente, mas também coordenadores e gestores e principalmente os usuários, será possível atingir níveis de qualidade melhores em relação às informações geradas pelo sistema e assim se poderão propor e efetivar ações que busquem o alcance do objetivo maior, que é o de atender a população com mais qualidade e, conseqüentemente, proporcionar uma melhor qualidade de vida para o cidadão.

RESUMO DE DISSERTAÇÃO DE Mestrado APRESENTADA NA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP EM JUNHO DE 2006

FARMACOLOGIA

INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO G177C DA ENZIMA ÁCIDO δ -AMINOLEVULÍNICO DESIDRATASE NOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE CHUMBO DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS AMBIENTALMENTE

Marcelo Freitas Montenegro

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos
Dissertação de Mestrado apresentada em 14/06/2006

A enzima ácido α -aminolevulínico desidratase (ALAD) possui um importante papel na toxicidade do chumbo. Neste estudo foi verificada a influência do polimorfismo G177C do gene ALAD nos níveis de Pb-P (chumbo no plasma) e na fração %Pb-P/Pb-S (chumbo no sangue) em 142 voluntários expostos ambientalmente ao chumbo (55 homens e 87 mulheres; idade: 18 a 60 anos). Os genótipos para o polimorfismo G177C da ALAD foram determinados por PCR seguido por digestão com enzima de restrição (FRLP). Pb-P e Pb-S foram determinados por espec-

trometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, respectivamente. Nós combinamos ambos genótipos ALAD 1-2 e ALAD 2-2 (grupo ALAD 1-2/2-2) e comparamos com grupo de genótipo ALAD 1-1. Enquanto nenhuma diferença significativa foi encontrada no Pb-S entre ambos grupos, voluntários do grupo de genótipos ALAD 1-2/2-2 apresentaram maiores concentrações de Pb-P e maiores frações %Pb-P/Pb-S quando comparados com voluntários do grupo de genótipos ALAD 1-1 ($P < 0,0001$ para ambos). Os mais elevados níveis de Pb-P e de fração %Pb-P/Pb-S em voluntários com alelo variante ALAD2 indicam que indivíduos com genótipo ALAD 1-2/2-2 provavelmente são mais suscetíveis aos riscos de saúde provenientes da exposição ao chumbo.