

**RESUMOS DE DISSERTAÇÕES DE MESTRADO E TESES DE DOUTORADO
APRESENTADAS NA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP
DE ABRIL A JUNHO DE 2007**

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

**CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO II DOADORES
DE ÓXIDO NÍTRICO EM LINHAGENS CELULARES NEOPLÁSICAS**

Paula Aboud Barbugli

Orientadora: Profa. Dra. Enilza Maria Espreafico
Dissertação de Mestrado apresentada em 24/04/2007

Câncer, neoplasia ou tumor maligno é uma classe de mais de 100 doenças caracterizadas pelo crescimento descontrolado de células que invadem os tecidos e órgãos podendo espalhar-se para outras regiões do corpo (metástases).

O câncer de pele do tipo melanoma, principal alvo de estudo do nosso trabalho, é uma neoplasia muito agressiva e que apresenta grande resistência terapêutica. Dessa forma, torna-se necessário, o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento do melanoma, como por exemplo, a Terapia Fotodinâmica que é uma modalidade terapêutica que emprega a combinação de luz visível, uma droga (fotossensibilizador) e a formação de espécies reativas de oxigênio (EROS) e/ou de nitrogênio podendo induzir a morte das células tumorais.

Neste projeto de mestrado foi estudada a atividade citotóxica de quatro complexos de Rutênio II doadores de óxido nítrico - trans-[RuCl(15aneN₄)NO]²⁺; cis-[Ru(bpy)₂(4-pic)NO₂]⁺; cis-[Ru(bpy)₂(py)NO₂]⁺ e [Ru(NH.NHq)(tpy)(NO)]³⁺, em diferentes linhagens celulares - linhagens de melanoma humano em diferentes fases de progressão tumoral (WM 1552C – RGP, WM 278 – VGP e WM 1617 – M), linhagens melanocíticas murinas (melan *a* – não tumorigênica e B16-F10 – metastática) além das linhagens leucêmicas HL60 e Jurkat.

O complexo [RuCl(15aneN₄)NO]²⁺ foi estudado apenas sob condições de Terapia Fotodinâmica na faixa de 366 nm. Já os complexos cis-[Ru(bpy)₂(4-pic)NO₂]⁺ e cis-[Ru(bpy)₂(py)NO₂]⁺ por serem doadores espontâneos de NO foram estudados apenas como quimioterápicos. Por fim, o complexo [Ru(NH.NHq)(tpy)(NO)]³⁺ apesar de apresentar liberação espontânea de NO, também foi estudado sob condições de Terapia Fotodinâmica por apresentar liberação de NO na faixa de 532 nm (mais próximo da janela terapêutica).

**CARACTERIZAÇÃO PARCIAL DO p65: POLIPEPTÍDIO DO LÓBULO ÓPTICO DE LULA
IMUNORREATIVO AO ANTICORPO ANTI-CABEÇA DA MIOSINA Va DE GALINHA**

Diego Torrecillas Paula Lico

Orientador: Prof. Dr. Roy Edward Larson
Dissertação de Mestrado apresentada em 02/05/2007

Miosina Va é uma miosina não convencional que possui um papel no transporte de organelas e possivelmente em funções sinápticas em neurônios. Vários anticorpos contra os domínios da miosina Va tem sido gerados em nosso laboratório na tentativa de caracterizar a localização e função desta miosina em uma variedade de células e tecidos. Um anticorpo policlonal gerado contra o domínio cabeça da M-Va, tem sido utilizado como sonda em homogeneizados de lóbulos ópticos de lula, reconheceu fortemente um polipeptídeo de 65kDa (p65); entretanto, não reco-

nheceu a própria miosina V de lula. O polipeptídeo foi parcialmente purificado de extratos dos lóbulos ópticos de lula com 8 M uréia por uma combinação de cromatografia troca catiônica em resina de *SP-Sepharose* e HPLC em coluna de fase reversa. Sete seqüências do p65 foram obtidas, após isolamento de polipeptídeos em SDS-PAGE, por espectrometria de massa. Pesquisas em bancos de dados não revelaram a identidade desta proteína, que mostrou uma baixa homologia com proteínas pelo programa BLAST. Entretanto, utilizando um banco de ESTs de Loligo ainda não publicado (Dr. Joe DiGiorgis, Marine Biological Institute em Woods Hole, USA) conseguimos fortes pistas para indicar que p65 pertence a uma família de proteínas ligantes de RNA.

RT-PCR PARA *Picornavírus*: DESAFIOS DE UM ENIGMA BIOLÓGICO

Reginaldo Donizeti Rossi

Orientador: Prof. Dr. Eurico de Arruda Neto

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/05/2007

Os enterovírus são adquiridos pela via oral, replicam-se no intestino e disseminam-se sistemicamente, causando infecções em múltiplos órgãos e tecidos, promovendo diversas manifestações clínicas que consistem de combinações de febre, exantema, miosite unilateral de músculos intercostais (pleurodínia), lesões bolhosas na boca, pés e mãos; além de meningoencefalite, pancreatite, miocardite e hepatite. Os enterovírus, principalmente os CVB, podem estar também associados a manifestações tardias de doença, tal como cardiomiopatia dilatada crônica e diabetes mellitus.

O RNA genômico de CVB5, de polaridade positiva, é traduzido em uma poliproteína, que se auto-cliva de modo co-traducional, gerando fragmentos peptídicos, entre os quais uma RNA-polimerase RNA-dirigida que copia o RNA(+) viral em um RNA (-). Este por sua vez, como intermediário replicativo, servirá de molde para a síntese de RNA (+) genômico. Não se conhece em detalhes a cinética de acúmulo de RNA (+) e RNA(-) ao longo do ciclo viral. O desenvolvimento de um ensaio específico que distinga RNA (+) e (-) permitiria identificar replicação viral ativa em doenças tardias, como miocardopatia dilatada.

Este estudo visa desenvolver ensaio de RT-PCR para detectar de forma específica RNA (-) de enterovírus, que seja aplicável a diversos tecidos.

Um ensaio de RT-PCR convencional empregando primers diferenciais para RNA (+) e (-) na etapa de RT mostrou-se inespecífico, produzindo evidência da existência de cDNA formado na ausência de primer durante a transcrição reversa (cDNA^{primer(-)}). Mostramos que a presença de cDNA^{primer(-)} gera resultados falso-positivos, que podem indicar presença de RNA (-) quando na verdade este não está presente. Para solucionar este problema, desenvolvemos um ensaio de RT-PCR, utilizando na etapa de RT 'primers' biotinilados que nos permitem purificar o cDNA no qual se incorporam por meio de esferas magnéticas conjugadas com streptavidina, para eliminação de cDNA^{primer(-)}.

Com isso, conseguimos desenvolver um ensaio de RT-PCR funcional e confiável para detecção específica de RNA (-) de enterovírus em células infectadas. Resultados obtidos nos permitem questionar a validade de resultados anteriormente publicados por outros autores, que não levaram em conta a existência de cDNA^{primer(-)}. A aplicação desse método a grande número de amostras de coração com miocardopatia dilatada é um exemplo importante da contribuição gerada para estudos de patogênese de infecções enterovirais.

ESTUDOS SOBRE A REESTRUTURAÇÃO DOS GENOMAS DE *Leishmania* spp: EXTREMIDADES CROMOSSÔMICAS, SEQUÊNCIAS REPETITIVAS E FAMÍLIAS DE GENES MÚLTIPLOS

Loislene Oliveira Brito

Orientadora: Profa. Dra. Angela Kaysel Cruz

Tese de Doutorado apresentada em 04/05/2007

As extremidades cromossômicas dos Tripanosomatídeos apresentam genes característicos, importantes para a adaptação e sobrevivência no hospedeiro. A disponibilidade das sequências genômicas de *L. major* e *L. braziliensis* permitiu uma análise detalhada da anatomia das regiões extremas dos cromossomos das duas espécies. O padrão de reestruturação entre elas é muito distinto, em *L. major*, apenas alguns cromossomos participaram de reestruturação com grandes extensões envolvidas. São detectados pequena quantidade de sequências repetitivas e elementos transponíveis degenerados (RIME e DIRE) sugerindo um processo ancestral. Quando comparado ao mecanismo de reestruturação de *L. braziliensis*, verifica-se a presença de elementos transponíveis não-LTR ativos (TATE e SLACS) e distribuídos pelo genoma. Esses elementos promoveram reestruturações envolvendo número de cromossomos e extensão maiores do que em *L. major*. Nos dois genomas também foi analisada a organização e evolução

de alguns genes múltiplas cópias e, em ambas as espécies, foram encontrados elementos repetitivos conhecidos e outros característicos de um dos genomas ou restritos a *loci* específicos que podem influenciar a duplicação das cópias gênicas que flanqueia. Essas sequências podem promover a multiplicação das CDSs e, assim, afetar a dosagem gênica já que não foi demonstrado um controle transcricional para modulação da expressão gênica nesses parasitas. Numa análise preliminar da taxa de evolução dos genes múltiplas cópias, observamos que em ambas as espécies mutações estão ocorrendo mas, as sequências estão sendo mantidas e, deste modo, estão sujeitas ao processo de nascimento e morte no nível de DNA. Esse processo pode ser um potencial gerador de novos produtos gênicos ou pode eliminar genes com o acúmulo das mutações. O genoma de *L. braziliensis* está povoado de elementos móveis, alguns ainda ativos, que devem ter propiciado a divergência entre as espécies. É provável que o dinamismo e plasticidade conferidos por esses fatores sejam mais importantes do que o conteúdo gênico para diferenciar a *L. braziliensis* da *L. major*, já que a diferença de conteúdo gênico é pequena.

FRAGMENTO DA MIOSINA Va INDUZ APOPTOSE EM CÉLULAS DE MELANOMA E CARCINOMA

Antônio Carlos Borges

Orientadora: Profa. Dra. Enilza Maria Espreafico
Dissertação de Mestrado apresentada em 30/05/2007

A miosina Va é uma proteína motora envolvida no transporte e posicionamento de vesículas, organelas e mRNA, além de parecer atuar no seqüestro do fator pró-apoptótico Bmf ao citoesqueleto de actina. Pesquisas realizadas em nosso laboratório demonstraram que um fragmento da miosina Va (MVaf), que corresponde ao sítio ligante de DLC2/Bmf, é capaz de induzir intensa morte em células de melanoma murino e humano. Esse efeito caracteriza o MVaf como uma poderosa ferramenta molecular capaz de induzir a morte em linhagens metastáticas de melanoma. O presente trabalho teve por objetivo complementar estudos prévios quanto ao efeito do MVaf sobre a viabilidade em linhagens de melanoma e acrescentar o estudo com carcinoma humano, detectando alterações moleculares e morfológicas que acompanham a resposta de morte. Além disso, construir ferramentas moleculares para a expressão condicional do MVaf para futuros estudos de sua eficácia como agente anti-tumoral, em modelo animal. Células das linhagens B16-F10, HeLa e S91-Cloudman foram transfectadas com vetores para

a expressão de EGFP-MVaF e EGFP (controle). Um acentuado declínio na viabilidade celular foi observado nas três linhagens que expressaram EGFP-MVaF quando comparadas às culturas controles. A apoptose foi confirmada através de marcação por anexina V em células B16-F10 e HeLa. Microscopia eletrônica de varredura e vídeo microscopia de time-lapse mostraram que a resposta ao MVaf é marcada por perda de vilosidades superficiais de membrana e o aparecimento de grande número de blebbings, com tal dinâmica que lembra a superfície da “água em ebulição”, característica típica de morte celular por apoptose. EGFP, MVaf e EGFP-MVaF foram subclonados em vetor retroviral de expressão controlada por tetraciclina e em vetor lentiviral. Transfecção de EGFP-MVaF em células HEK-293T mostrou expressão acentuadamente mais intensa quando as células foram co-transfectadas com vetor RevTetOff/EF1a para expressar o transativador. Dessa forma, este trabalho contribuiu para caracterizar o tipo de morte celular induzida por MVaf e demonstrar que também é eficaz na indução de apoptose em células de carcinoma humano, assim como nas de melanoma. Finalmente, permitiu a preparação de ferramentas moleculares que serão utilizadas futuramente para avaliar o efetivo potencial do MVaf como um agente terapêutico anti-tumoral.

ESTUDO DA DINÂMICA DE MIGRAÇÃO DE PRECURSORES DE MASTÓCITOS E MASTÓCITOS MADUROS E IMATUROS DA MEDULA ÓSSEA PARA SÍTIOS PERIFÉRICOS

Devandir Antonio de Souza Júnior

Orientadora: Profa. Dra. Maria Célia Jamur
Dissertação de Mestrado apresentada em 31/05/2007

Os mastócitos originam-se de precursores na medula óssea e migram para tecidos periféricos onde amadurecem. O mecanismo envolvido na migração e endereçamento dos precursores de mastócitos não está bem definido. No presente estudo foi investigado o endereçamento de precursores de mastócitos (AA4⁺/BGD6⁺) e mastócitos maduros e imaturos (AA4⁺/BGD6⁺) para diferentes órgãos alvos após estas células serem introduzidas na corrente sanguínea. Precursores de mastócitos e mastócitos maduros e imaturos foram imunomagneticamente isolados da medula óssea e marcados com *CellTracker™ green* e *CellTracker™ red* respectivamente. Após a marcação fluorescente as duas populações de células foram infundidas via veia caudal nos ratos. Órgãos alvos como medula óssea, baço e pulmão foram investigados. A análise dos órgãos demonstrou que após a infusão, os precursores de mastócitos possuem um

endereçamento preferencial para medula óssea e uma migração transitória para o baço, enquanto que, mastócitos maduros e imaturos possuem um endereçamento preferencial para o baço e uma migração transitória para a medula óssea. Precursores de mastócitos e mastócitos maduros e imaturos não foram observados na cavidade peritoneal. O endereçamento de precursores de mastócitos e de mastócitos maduros e imaturos também foi analisado em animais que tiveram a cavidade peritoneal depletada de mastócitos pela injeção intraperitoneal de água destilada, seguida da infusão dos mastócitos marcados. Nestas condições, após 24, 48 e 72 horas apenas precursores de mastócitos foram observados na medula óssea. No entanto, neste mesmo período precursores de mastócitos e mastócitos maduros e imaturos foram observados na cavidade peritoneal. Também analisamos o efeito da lectina KM⁺ no recrutamento de precursores de mastócitos e mastócitos maduros e imaturos infundidos para a cavidade peritoneal depletada. Após a injeção da KM⁺ o endereçamento de mastócitos maduros e imaturos para a cavidade peritoneal foi maior quando comparado com o de

precursores de mastócitos. Portanto, os dados obtidos neste trabalho sugerem que precursores de mastócitos e mastócitos maduros e imaturos possuem um diferente padrão de endereçamento. Ainda, mastócitos migram para a cavida-

de peritoneal apenas durante seu repovoamento. O presente estudo contribui para o entendimento da dinâmica de recrutamento de mastócitos, como nas reações alérgicas e inflamatórias e nas patologias como a mastocitose.

CARACTERIZAÇÃO CELULAR E DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE DOENÇAS MARCADAS POR ALTERAÇÕES PIGMENTARES ASSOCIADAS A DISFUNÇÕES NEUROLÓGICAS OU IMUNOLÓGICAS

Ingrid Porpino Meschede

Orientadora: Profa. Dra. Enilza Maria Espreafico

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/06/2007

A Síndrome de Griscelli (SG) é uma desordem autosômica recessiva que se apresenta em três subtipos, SG-1, SG-2 e SG-3, causados por mutações nos genes *MYO5A*, *RAB27A* e *MLPH*, respectivamente. Os três subtipos são reconhecidos por hipopigmentação da pele e uma típica coloração cinza-prateada dos pêlos, mas enquanto a SG-3 se restringe a este fenótipo, a SG-1 está associada a desordens neurológicas primárias graves, e a SG-2, à imunodeficiência combinada à síndrome hemofagocítica, que culmina em infiltração leucocitária em órgãos vitais e morte do paciente. No presente trabalho, reportamos 6 pacientes brasileiros: G.C e L.C (irmãos gêmeos) e M.S, com características clínicas de SG-2; F.O e L.O (irmãos) com sintomatologia característica de SG-1; além de um paciente, L.R, com uma imunodeficiência cujo seqüenciamento do gene *RAB27A* permitiu descartar o diagnóstico de SG-2. Análises microscópicas de fios de cabelo e biópsia de pele desses pacientes, com exceção de L.R, revelaram a presença de aglomerados de pigmento típicos de SG. Análise molecular revelou que G.C/L.C e M.S carregam uma mutação homozigótica no gene *RAB27A*, mapeada como c.550C>T (R184X) e c.467+1G>C (G156fs), respectivamente, sendo que a mutação nos pacientes G.C/L.C não afeta a expressão de mRNA para *RAB27A* ou *MYO5A*, mas leva à ausência da proteína

RAB27A mutante. Para F.O, o seqüenciamento da região codificadora do gene *MYO5A* não revelou a presença de mutação. Entretanto, embora os níveis de expressão do mRNA *MYO5A* pareçam normais, os níveis da proteína, de acordo com dois anticorpos policlonais contra a miosina-Va, se mostraram reduzidos ou ausentes em fibroblastos cultivados desse paciente em comparação a fibroblastos estabelecidos de um doador sadio, sugerindo uma possível falha na tradução ou instabilidade pós-traducional da proteína. Apesar disso, os fibroblastos do paciente apresentaram marcação para um anticorpo monoclonal para a miosina-Va^{fosfoS1650} que marca partículas nucleares com características de “speckles”, mas estas parecem estar em menor número nas células do paciente. Esta marcação pode ser explicada por reação cruzada desse anticorpo, uma vez que ambas as parálogas miosina-Vb e miosina-Vc foram detectadas nestes fibroblastos. Sumarizando, os estudos mostrados aqui permitiram esclarecer o diagnóstico molecular de 3 pacientes, sendo que em um dos casos foi determinante para garantir a indicação de transplante de medula óssea como única medida para salvar a vida da criança. Em outro caso contribuiu para descartar hipótese diagnóstica de SG. Finalmente, este trabalho permitiu a obtenção de culturas celulares que poderão ser utilizadas em futuros estudos para esclarecer a mutação nos pacientes F.O/L.O, além permitir melhor compreensão do papel dessas fosfomiosinas no núcleo celular e das vias moleculares envolvidas nessas desordens.

CARACTERIZAÇÕES FENOTÍPICAS E GENOTÍPICAS DE AMOSTRAS MONOFÁSICAS DE *S. enterica* I 4,[5],12:i:-

Ana Isabela Lopes Sales

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Brocchi

Tese de Doutorado apresentada em 06/06/2007

Sorovariedades de *Salmonella enterica* não tifóide são consideradas patógenos emergentes de grande importância na saúde humana. Muitas das infecções humanas são causadas por diferentes sorovariedades de *S. enterica*,

que são classificadas por reações sorológicas através da identificação de polissacarídeos contidos no LPS (O), antígenos flagelares (H) e capsulares (Vi), este último quando presente. A combinação destes antígenos define uma sorovariedade. Algumas sorovariedades, como *Typhimurium*, têm a capacidade de variar o tipo de flagelina expressa. A flagelina H1 é o produto do gene *fliC*, e a flagelina H2 é o produto do gene *fliB*. O tipo de flagelina expressa está sob controle de

um sistema de variação de fase. Desde o final do século passado, *S. enterica* monofásica I 4,[5],12:i:- tem sido isolada no Brasil, em particular no estado de São Paulo. Este novo sorotipo pode ter se originado de uma sorovariedade bifásica como *S. enterica* Typhimurium (I 4,[5],12:i:1,2) ou Lagos (I 4,[5],12:i:1,5) ou de uma sorovariedade não móvel que adquiriu a capacidade de expressar flagelo. Recentemente, este novo sorotipo também foi isolado nos Estados Unidos, na Tailândia e na Espanha. Dada à sua importância epidemiológica, recentemente uma linhagem de *S. enterica* 4,[5],12:i:- foi selecionada pela TIGR para ter seu genoma seqüenciado. No presente estudo, as origens de *S. enterica* monofásica I 4,[5],12:i:- isoladas no Brasil foi avaliada por diferentes técnicas moleculares que indicaram que este sorotipo é derivado de *S. enterica* Typhimurium. Análises biológicas e moleculares indicaram deleção envolvendo os genes *fljB* e *fljA*. A extensão desta deleção é diferente da

descrita para amostras 4,[5],12:i:- isoladas na Espanha, o que implica uma origem diferente entre estas amostras. Dados moleculares e fenotípicos indicaram que *S. enterica* 4,[5],12:i:- mantém o potencial patogênico, seja pela presença de genes de virulência, seja para a patogenicidade dada em modelo animal. Dados epidemiológicos, no entanto, sugerem que *S. enterica* 4,[5],12:i:- é mais patogênica que a sorovariedade Typhimurium, apesar de apresentar maior sensibilidade a antibióticos quando comparada a Typhimurium. No entanto, profagos de *S. enterica* 4,[5],12:i:- podem ser responsáveis pelo sucesso evolutivo deste sorotipo no Brasil. Estes achados permitem sugerir que *S. enterica* 4,[5],12:i:- seja classificada como uma variante de Typhimurium. Como este sorotipo foi primeiramente descrito no estado de São Paulo, sugerimos que seja denominado variante Paulista ou Typhimurium var. Paulista.

VPI DE VÍRUS COXSACKIE B5: CLONAGEM, EXPRESSÃO E EFEITO IMUNOPROTETOR EM CAMUNDONGOS C3H/HeJ

Humberto Freire Boncristiani Júnior

Orientador: Prof. Dr. Eurico de Arruda Neto

Tese de Doutorado apresentada em 12/06/2007

Os enterovírus são vírus pertencentes a família picornaviridae, frequentemente associados com infecções humanas importantes em saúde pública, tais como meningite, meningoencefalite e miocardite. São vírus desprovidos de envoltório lipoprotéico, com capsídeo composto por 60 protômeros constituídos de quatro proteínas, entre elas VP1, que contém os principais sítios imunogênicos. Nós descrevemos a clonagem molecular e expressão da proteína VP1 do enterovírus Coxsackie B5 (CVB5) em *E.coli* e o seu papel protetor contra infecção experimental em camundongos C3H/HeJ.

A região do RNA viral que codifica VP1 foi amplificada por RT-PCR, os amplicons clonados no vetor pENTR 221 e

sub-clonados nos vetores pDEST-14 (para expressão de VP1 sozinha) e pDEST-15 (para expressão de VP1 com cauda de GST), ambos do sistema Gateway. Outro clone foi preparado no vetor pGEMT easy e sub-clonado no plasmídeo pGEX-4T-1 (GE-Healthcare) para expressão em *E.coli*. Os vetores que expressam proteínas de fusão, resultaram em expressão de maior quantidade de proteína recombinante.

A proteína VP1 recombinante foi usada para imunizar camundongos machos da linhagem C3H/HeJ, que desenvolvem pancreatite aparentemente assintomática após infecção experimental com 250 ID₅₀ de CVB5. A proteção foi avaliada nos dias três e cinco após a infecção, e foi observada redução significativa nos títulos de vírus no pâncreas, bem como nas lesões histológicas nos animais imunizados em comparação com os controles. Este é o primeiro relato de uma proteína com efeito protetor contra doença experimentalmente induzida contra CVB5.

LOCALIZAÇÃO E EXPRESSÃO GÊNICA DE CADERINAS EM GÔNADAS DE *Apis mellifera*

Mônica Mazzei Florecki

Orientador: Prof.Dr. Klaus Hartmann Hartfelder

Dissertação de Mestrado apresentada em 13/06/2007

Insetos altamente sociais caracterizam-se pela presença de castas fenotipicamente distintas e com funções definidas. Em colônias de abelhas melíferas, rainhas e zangões estão envolvidos no processo reprodutivo, enquanto

operárias são estéreis e responsáveis pelas tarefas de manutenção da colônia. O ovário é classificado como meroístico politrófico, com a ovogênese iniciada pela divisão de uma célula-tronco germinativa que gera, uma nova célula-tronco e um cistoblasto comprometido com o processo de diferenciação ovocítica. Cada cistoblasto passa por sucessivas divisões mitóticas de modo a formar um cisto de células germinativas que, posteriormente, diferenciam-se em ovócito e células trofocíticas. A espermatogênese, da mesma forma,

também é iniciada com a divisão de uma célula-tronco germinativa, chamada espermatogônia primária, originando uma nova célula-tronco e uma espermatogônia secundária que se diferencia e passa por divisões mitóticas seguidas. Estudos em ovários e testículos de *Drosophila* revelaram a presença de E-caderina na região de contato entre as células-tronco germinativas e as células somáticas situadas no ápice do germário. Através de análises em mutantes para o gene *shotgun*, codificador de E-caderina, observou-se a importância da proteína para o ancoramento das células-tronco em nichos ovarianos e manutenção da ovogênese. Tais resultados estimularam o estudo a respeito da presença e possível papel de caderinas durante a gametogênese em *Apis mellifera*. Experimentos com marcação por imunofluorescência, imunogold e imunoperoxidase foram realizados com anticorpos anti-pan-caderina para localização de caderinas em ovários de rainhas adultas e testículos de zangão na fase larval. Caderinas foram observadas distribuídas pelo citoplasma de células germinativas e somáticas ao longo dos testículos e ovários analisados. Pontos focais nucleares de caderinas, co-localizados com os nucléolos, também foram observados em todas as células dos túbulos. Os resultados evidenciam um padrão na localização citoplasmática e nuclear de caderinas comum a todos os tipos celu-

lares das gônadas, nas quais talvez exerçam funções alternativas, além da adesão intercelular, como organização estrutural da cromatina, controle indireto da expressão gênica ou sinalização entre a membrana plasmática e o núcleo. A detecção de caderinas em zonas de contato entre células somáticas e germinativas no filamento terminal e nos canais anéis em anel entre os cistos foliculares indicam funções relacionadas à organização do nicho de células-tronco germinativas e no estabelecimento das pontes intercelulares, respectivamente. Utilizando a informação genômica, recentemente disponível para a abelha melífera, anotamos os principais genes codificadores de caderinas clássicas e de protocaderinas e realizamos estudos de expressão dos mesmos. Transcritos dos genes *shotgun*, *starry night*, *N-caderina*, *fat* e *fat-like* foram detectados em ovários e testículos. Em análises de Western blot somente uma caderina foi reconhecida, com massa molecular acima de 220 kDa. É possível que nessas análises só seja reconhecida um tipo de caderina, correspondente a N-caderina, que apresenta maior afinidade com o anticorpo primário, porém, em experimentos de imunomicroscopia, possivelmente mais de uma caderina é detectada, visto que a região citoplasmática, utilizada para síntese dos anticorpos primários, é conservada entre caderinas clássicas.

BIOQUÍMICA

DESENVOLVIMENTO DE REAGENTES IMUNOQUÍMICOS PARA DETECÇÃO DE ANTÍGENOS TÓXICOS DO VENENO DO ESCORPIÃO *Tityus serrulatus*

Fernanda Lopes Menini

Orientador: Prof.Dr. Francisco Juarez Ramalho Pinto
Dissertação de Mestrado apresentada em 19/04/2007

Diversos métodos imunoquímicos foram desenvolvidos com o objetivo de detectar e quantificar venenos de animais peçonhentos em líquidos biológicos de vertebrados. No acidente escorpiônico, a detecção de veneno no sangue de pacientes picados por escorpião poderia auxiliar no tratamento, racionalizando o uso do antiveneno específico. No presente trabalho, apresentamos um estudo sobre o desenvolvimento de reagentes imunoquímicos para a detecção de componentes tóxicos do veneno do escorpião *Tityus serrulatus*. Inicialmente, fracionamos o veneno para obtenção da fração tóxica. Posteriormente, por técnicas cromatográficas, isolamos do soro hiperimune de cavalos anticorpos contra o veneno total e anti-fração tóxica. O anticorpo específico anti-fração tóxica foi conjugado com peroxidase. Esses anticorpos foram utilizados na prepara-

ção de kit tipo *sandwich* para captura do antígeno e sua revelação por ensaio de ELISA em soro humano de indivíduos picados por *T. serrulatus*, armazenados na soroteca do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Estes soros haviam sido coletados e classificados no momento do acidente como de casos moderados, graves ou não-classificados, e armazenados a -20° C. Também utilizamos soros de doadores que não haviam tido contato prévio relatado com o veneno. Nossos ensaios apresentaram especificidade de 96 % e limiar de reatividade (*cut-off*) com valor de leitura de 0,170 a 490 nm. Os reagentes desenvolvidos foram capazes de detectar antígenos tóxicos do veneno de *T. serrulatus* já purificados. Entretanto, não é possível esclarecer se os reagentes que purificamos são capazes de detectar antígenos tóxicos presentes no soro de pacientes armazenados na soroteca. Nossa proposta de continuidade do trabalho prevê a realização de ensaios utilizando soro recém-colhido de pacientes que sofreram acidente escorpiônico moderado ou grave.

CARACTERIZAÇÃO DE FBXO25, UMA NOVA E3 LIGASE ANÁLOGA A ATROGIN-1

Ana Leticia Giani Cabral Maragno

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Damário Gomes

Dissertação de Mestrado apresentada em 23/04/2007

O Sistema Ubiquitina-Proteassomo controla a abundância da maioria das proteínas celulares de eucariotos (~80%). As proteínas destinadas à degradação por este sistema são primeiramente ligadas covalentemente a uma cadeia de ubiquitinas (ubiquitinação) que marca esta proteína para ser degradada pelo proteassomo. As enzimas críticas para o processo de ubiquitinação são denominadas E3 ubiquitina ligases, uma vez que são as responsáveis pelo reconhecimento do substrato. Neste trabalho realizamos a caracterização da E3 ligase FBXO25, uma proteína para a qual existem poucos estudos na literatura.

Mostramos que a proteína FBXO25 possui um domínio F-box funcional, capaz de se ligar a Skp1 e portanto a Cull1 e Roc1, os principais componentes das E3 ligases do tipo SCF. Além disso, o complexo SCF contendo a proteína FBXO25 apresentou atividade de ubiquitina ligase. Usando RT-PCR nós demonstramos que o gene de FBXO25 é expresso nos principais tecidos de camundongos, mas com maior intensidade em cérebro, rim e intestino. Desenvolve-

mos um anticorpo contra um fragmento recombinante NH₂-terminal da proteína FBXO25 (aa 2 to 62), que foi posteriormente purificado por afinidade. Este anticorpo foi capaz de reconhecer a proteína FBXO25 em experimentos de *western-blot*s em lisados dos principais tecidos de camundongos, exceto em músculo estriado, mostrando que esta proteína não está presente em níveis detectáveis neste tecido.

Investigamos também a relação funcional entre FBXO25 e Atrogin-1/MAFbx/FBXO32/, uma vez que estas proteínas compartilham 65% de identidade. Atrogin-1 é uma E3 ubiquitina ligase presente especificamente no músculo estriado e sua expressão é altamente induzida na atrofia. Nós analisamos a expressão de FBXO25 e Atrogin-1 nos modelos de atrofia muscular de jejum e diabetes induzida por streptozotocina e no tratamento de camundongos com dexametasona, usando RT-PCR e Real-Time. Embora a expressão de Atrogin-1 tenha sido altamente induzida nos três modelos, a expressão de FBXO25 não foi alterada.

Portanto, neste trabalho mostramos que FBXO25 é uma nova proteína do tipo F-box, análoga a Atrogin-1, mas que não está envolvida na atrofia muscular. São necessários estudos funcionais futuros para elucidar o papel exato desta proteína na proteólise celular.

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA VIA DE MODIFICAÇÃO PÓS - TRADUCIONAL DE PROTEÍNAS DEPENDENTE DE SUMO EM *Schistosoma mansoni*

Fernanda Janku Cabral

Orientador: Prof. Dr. Vanderlei Rodrigues

Tese de Doutorado apresentada em 04/05/2007

Os parasitas do gênero *Schistosoma* são agentes causadores da esquistossomose, uma doença crônica, que desabilita os indivíduos portadores e afeta milhares de pessoas em vários locais do planeta. O *S. mansoni* apresenta um ciclo de vida complexo dependente de dois hospedeiros: um invertebrado, o caramujo, do gênero *Biomphalaria*; e o definitivo, o homem. Recentemente, o consórcio de seqüenciamento do transcriptoma do parasita, liberou cerca de 14.000 ESTs, representando cerca de 92% dos genes expressos pelo parasita. Essas seqüências incluem genes responsáveis pelo metabolismo, integridade celular e vias de modificação pós-traducionais. Até o momento, poucas informações são conhecidas sobre o papel das modificações pós-traducionais no desenvolvimento do parasita. A SUMO, da sigla em inglês *Small ubiquitin modifier*, é covalentemente ligada a um amplo espectro de substratos

e pode regular a atividade de várias proteínas eucarióticas.

Na tentativa de entender os aspectos da sumorilação no desenvolvimento do parasita, foi realizada uma busca através dos bancos de dados de seqüências de DNA disponíveis para o parasita, baseando-se na identidade de seqüências relacionadas à via de sumorilação dos outros organismos. Desta forma de posse das seqüências e utilizando ferramentas de biologia molecular foi possível caracterizar a via de sumorilação em *S. mansoni*. A análise da estrutura genômica para o gene que codifica SmSMT3C, mostrou que a região codificadora é interrompida por dois pequenos íntrons. A ORF codifica para uma proteína de 90 aminoácidos, bastante conservada durante a evolução. A expressão deste transcrito foi avaliada através de RT-PCR e podemos constatar que esse expresso durante todas as fases do desenvolvimento estudadas.

Em relação ao gene *SmUbc9*, podemos constatar através do alinhamento do cDNA e da seqüência genômica, que este gene é interrompido por dois pequenos íntrons. Também evidenciamos a presença de um pseudogene, o qual denominamos de Ψ *SmUbc9*. O resultado do Western Blot,

utilizando anticorpo anti-ubc9 e extratos nucleares e citoplasmáticos do parasita, revelou uma proteína de 20KDa. A expressão do transcrito de *SmUbc9* foi avaliada, e constatamos que o gene é expresso em todas as fases do ciclo analisadas. Através do perfil de expressão das SUMO E3 ligases (Siz-PIAS e RanBP2) e da enzima desumoriladora ULP1, podemos contatar que esses transcritos são diferen-

cialmente expressas durante as fases do desenvolvimento estudadas.

Portanto, os nossos resultados sugerem que a via de sumorilação pode ser importante para o entendimento de vários aspectos da biologia do parasita, como a regulação da expressão gênica, a integridade do genoma e transdução de sinais.

AValiação da Atividade Antiinflamatória de uma Fração do Látex Natural da Siringueira *Hevea brasiliensis* em Modelo Experimental de Colite em Camundongos

Maria Letícia de Paiva Agostini

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Coutinho-Netto

Dissertação de Mestrado apresentada em 23/05/2007

As doenças inflamatórias intestinais, incluindo a colite ulcerativa e a doença de Crohn, são as mais graves doenças inflamatórias crônicas do trato gastrointestinal em humanos. Algumas evidências mostram que o sistema imune desempenha uma função crítica no desenvolvimento e na manutenção destas doenças, mais especificamente, a produção descontrolada de algumas citocinas pró-inflamatórias tais como IL-12, IL-8, TNF- α , IFN- γ , entre outras. Estas evidências são confirmadas por modelos de inflamação intestinal em murinos, tais como a indução de colite experimental pela administração intra-retal de 2,4,6 ácido trinitrobenzeno sulfônico (TNBS). A partir deste modelo, que retrata uma resposta inflamatória intestinal mediada por células de linhagem Th1, avaliamos a atividade anti-inflamatória da fração cromatográfica do látex FrHbIII, que havia mostrado induzir a produção da citocina moduladora

de respostas inflamatórias IL-10 *in vitro*. Após a indução de colite por TNBS, os animais tratados com a fração FrHbIII via oral apresentaram menor porcentagem de perda de peso, menor ocorrência de diarreia e prolapso retal, além de não haver ocorrido registro de mortalidade, em comparação aos animais que receberam apenas administração de TNBS. Grande melhoria foi observada também na análise histológica feita em secções do cólon destes animais, em comparação ao grupo em que a colite foi induzida, apresentando grande similaridade ao grupo controle. A atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), um marcador de infiltrado inflamatório, foi avaliada em porções do cólon distal de cada grupo. No grupo de animais que receberam administração de TNBS, a atividade da MPO apresentou-se quatro vezes maior em relação ao grupo controle. No entanto, o grupo que recebeu administração de TNBS e tratamento com a fração FrHbIII, apresentou metade da atividade da enzima em relação ao grupo TNBS não tratado, indicando menor quantidade de infiltrado inflamatório. Dessa forma, concluímos que a fração cromatográfica FrHbIII possui ação moduladora de atividade inflamatória em colite em camundongos.

RECONSTITUIÇÃO DE PROTEÍNAS DAS FORMAS AMASTIGOTAS DE *Leishmania amazonensis* EM LIPOSSOMOS E O SEU USO NA VACINAÇÃO CONTRA A LEISHMANIOSE CUTÂNEA EXPERIMENTAL

Fabiana Rodrigues dos Santos Gonçalves

Orientador: Prof. Dr. Francisco Juarez Ramalho-Pinto

Tese de Doutorado apresentada em 31/05/2007

O objetivo deste trabalho foi investigar se proteolipossomos carregando proteínas de membrana da forma amastigota de *L. amazonensis* poderiam induzir uma imunidade protetora contra a leishmaniose cutânea experimental. Como um passo preliminar para preparar os proteolipossomos, as amastigotas eram sonificadas e misturadas com diferentes detergentes. O SDS (dodecil sulfato de sódio) se

mostrou mais eficiente do que os detergentes neutros ou zwitteriônicos em promover a solubilização das proteínas de membrana do parasita. O máximo de solubilização foi alcançado instantaneamente usando 0,5 mg/mL de proteína e 0,1 % de SDS. A melhor reconstituição das proteínas em lipossomos foi obtida usando DPPC (dipalmitoil fosfatidilcolina), DPPS (dipalmitoil fosfatidilserina) e colesterol na razão em massa de 5:1:4 e 0,5 mg/mL de proteína solubilizada. Esse protocolo gerou proteolipossomos com uma razão em massa de DPPC, DPPS e colesterol de 1:1:5. Para avaliar a imunidade protetora, os camundongos BALB/c

eram vacinados pela via intraperitoneal com 10, 20 ou 40 µg de proteolipossomos e após três semanas eram desafiados na pata com 10⁶ promastigotas de *L. amazonensis*. A proteção foi avaliada durante 12 semanas, por meio da medida do tamanho das lesões causadas pelo parasita. Doze semanas após a infecção, os camundongos BALB/c imunizados com 10 ou 20 µg de proteolipossomos mostraram uma proteção de 25 e 35 %, respectivamente, quando comparados com os camundongos que receberam tampão. Além disso, os camundongos imunizados com 40 µg de proteolipossomos apresentavam uma proteção de 69 % com 6 semanas de infecção e esse valor caiu para 50 % no final do experimento. Aumentando a concentração dos proteolipossomos e dimi-

nuindo o número de promastigotas no momento do desafio, o nível de proteção foi de 100 %. Essa proteção foi observada por 39 semanas nos camundongos BALB/c imunizados com 120 µg de proteolipossomos e desafiados com 104 promastigotas de *L. amazonensis*. Esses resultados indicam que a vacinação dos camundongos com os proteolipossomos induz uma imunidade protetora contra a *L. amazonensis*. Por outro lado, a vacinação com os proteolipossomos não protege camundongos C57BL/6 *knock-out* para interleucina-12 ou interferon-γ. Nossos resultados com os camundongos *knock-out* indicam que a proteção contra a *L. amazonensis* através da vacinação com os proteolipossomos é dependente de interleucina-12 e interferon-γ.

CLÍNICA CIRÚRGICA

ANATOMIA DO TRONCO CELÍACO HUMANO E SEUS PRINCIPAIS RAMOS: ESTUDO DO DIÂMETRO ARTERIAL

Luís Augusto da Silveira

Orientadora: Profa.Dra. Valéria Paula Sassoli Fazan
Dissertação de Mestrado apresentada em 03/04/2007

O tronco celíaco é a artéria que irriga as vísceras supra-mesocólicas. Embrionariamente, é a artéria da parte caudal do intestino anterior, sendo responsável pelo suprimento sanguíneo dos órgãos que constituem a parte anterior do intestino primitivo: fígado, baço, pâncreas, estômago e a parte proximal do duodeno. Para tanto, trifurca-se em artéria gástrica esquerda, artéria esplênica e artéria hepática comum. Embora as variações arteriais do tronco celíaco e seus ramos estejam bem documentadas na literatura, o mesmo não ocorre com as descrições dos diâmetros dessas artérias. Esse assunto passou a ser de interesse e tem recebido especial atenção em decorrência dos transplantes hepáticos. Assim, o presente estudo tem por objetivo descrever os diâmetros arteriais do tronco celíaco e seus ramos em indivíduos normais, bem como investigar se esses

diâmetros se apresentam alterados em indivíduos com variação anatômica desses vasos. Para tanto, utilizamos 21 cadáveres adultos, do sexo masculino, previamente fixados em formol a 10%. Esses cadáveres foram dissecados apropriadamente para a exposição do tronco celíaco e seus ramos. Com o auxílio de um paquímetro digital, foram obtidos os diâmetros externos dos seguintes vasos: tronco celíaco, artéria hepática comum, artéria gástrica direita, artéria esplênica, artéria gástrica esquerda, artéria gastroduodenal, artéria hepática própria e artérias hepáticas direita e esquerda. Dos 21 cadáveres avaliados, 6 apresentaram variação anatômica de pelo menos um dos ramos acima mencionados. Ao compararmos os diâmetros arteriais dos vasos normais com aqueles que apresentaram variação, os vasos variáveis apresentaram diâmetros menores, sem, entretanto alcançar níveis de significância. Nossos dados apontam para a possibilidade de uma diferença de diâmetros entre artérias abdominais normais e variáveis, sendo esse dado de implicância clínica para os transplantes hepáticos de doadores vivos.

MÉTODO DE AVALIAÇÃO DOS MÚSCULOS DO ASSOALHO PÉLVICO UMA NOVA PROPOSTA

Ana Gabriela Barreto Ribeiro

Orientador: Prof.Dr. Haylton Jorge Suaid
Dissertação Mestrado apresentada em 04/04/2007

Introdução: A avaliação dos músculos do assoalho pélvico (MAP) constitui um dos componentes mais importantes da análise clínica para o diagnóstico das disfunções

desses músculos, bem como, fornece dados para correção destes. Os métodos que avaliam a determinação da força dos MAP, deixam a desejar quanto à avaliação objetiva das disfunções. **Objetivos:** Propor uma nova metodologia (MP) de avaliação dos MAP, que fizesse a integração temporal dos parâmetros avaliados, para verificar a qualidade da contração dos MAP, bem como identificar a atividade da musculatura acessória na composição da ação dos MAP, no mesmo momento. Para avaliar sua eficácia, comparou-se o MP com dois dos métodos da avaliação mais utilizados, os métodos avaliação funcional do assoalho pélvico (AFA) e perineômetria. **Pacientes e Métodos:** Foram incluídas no estudo 39 mulheres com idade entre 23 e 73 anos (média 42,82; $\pm 12,53$) que foram submetidas à avaliação clínica prévia, anamnese e exame físico, avaliação funcional do assoalho pélvico (AFA), e perineômetria com o aparelho Kromam® e do método proposto (MP) com o aparelho de urodinâmica Dynamed®. As pacientes foram divididas em três grupos: grupo A: constituído por treze mulheres voluntárias normais, sem queixas ou sintomas clínicos, grupo B: constituído por treze mulheres com dor pélvica crônica e grupo C: formado por treze mulheres com incontinência urinária de esforço. Inicialmente foi realizada a avaliação através do método AFA, na seqüência foram realizadas as avaliações objetivas de forma simultânea e divididas em dois registros. No primeiro registro os aparelhos não foram zerados após a introdução do probe intravaginal, e foram determinadas as pressões consideradas como atividade basal dos MAP, bem como, as contrações e o relaxamento destas musculaturas, nos três grupos. Para avaliação da atividade da musculatura abdominal foi conectada uma sonda retal antes de ser introduzida a sonda vaginal, que captou os aumentos de pressão abdominal durante todo o exame. O segundo registro seguiu a mesma seqüência do primeiro, com os aparelhos zerados e o probe na posição intra-vaginal. As agulhas de eletromiografia foram posicionadas nos músculos elevadores do ânus. **Resultados:** As pressões foram determinadas em centímetros de água e em Sauers convertido para centímetros de água para que pudessem ser comparadas as medidas de pressão entre os métodos. Determinação da pressão basal, através dos métodos perineômetria e MP no primeiro registro; perineômetro (Médias); grupo A (GA): $22,0 \pm 38,85$; grupo B (GB): $106,24 \pm 51,71$; grupo C (GC): $52,05 \pm 50,12$, MP (médias): GA: $19,5 \pm 14,15$; GB: $46,73 \pm 16,61$; GC: $27,35 \pm 18,13$. No segundo registro (Médias); GA: $0,0 \pm 0,0$, GB: $2,45 \pm 8,82$, GC: $0,0 \pm 0,0$. Medidas do tônus basal no primeiro registro, através do MP (médias); GA: $19,54 \pm 14,15$, GB: $46,73 \pm 16,61$, GC: $27,35 \pm 18,13$. No segundo registro (médias); GA: $1,10 \pm 2,30$, GB: $0,38 \pm 1,39$, GC: $0,85 \pm 2,76$. Determinação da pressão de contração em centímetros de água no primeiro registro, através dos métodos: perineômetro (médias): GA: $169,74 \pm 76,87$; GB: $207,20 \pm 53,11$; GC: $173,99 \pm 75,25$; MP (médias): GA: $81,51 \pm 34,76$; GB: $100,47 \pm 39,80$,

GC: $82,91 \pm 36,19$. Determinação da pressão de contração no segundo registro através dos métodos; perineômetro (médias): GA: $161,38 \pm 78,46$; GB: $148,03 \pm 85,08$; GC: $146,28 \pm 89,61$; MP (médias): GA: $69,71 \pm 33,17$; GB: $54,48 \pm 34,51$; GC: $53,22 \pm 39,12$. Mensuração da pressão da musculatura abdominal e perineal em uma mesma contração, realizada apenas através do MP em ambos registros; primeiro registro (médias): contração abdominal nos grupos; GA: $41,08 \pm 34,30$; GB: $56,66 \pm 37,86$; GC: $52,82 \pm 42,21$; contração perineal: GA: $43,67 \pm 32,20$; GB: $44,88 \pm 40,11$; GC: $29,96 \pm 24,31$. A avaliação no segundo registro (médias); contração abdominal: GA: $44,49 \pm 37$, GB: $39,42 \pm 31,00$, GC: $41,84 \pm 35,28$; contração perineal: GA: $27,87 \pm 24,45$; GB: $17,72 \pm 25,95$; GC: $11,36 \pm 15,75$. Na comparação da contração dos MAP entre o primeiro com o segundo registro obteve-se através dos métodos perineômetro e MP as seguintes médias: Perineômetro (médias): Primeiro registro: GA: $169,73 \pm 76,87$; GB: $207,20 \pm 53,10$; GC: $146,28 \pm 89,61$; Segundo registro: GA: $161,37 \pm 78,45$; GB: $148,04 \pm 85,07$; GC: $146,28 \pm 89,61$; MP (médias): Primeiro registro: GA: $81,50 \pm 34,76$; GB: $100,46 \pm 39,79$; GC: $82,91 \pm 36,18$; Segundo registro: GA: $69,70 \pm 33,17$; GB: $54,47 \pm 34,51$; GC: $53,22 \pm 39,11$. Na correlação entre os métodos perineômetria e MT com o método AFA em ambos os registros, obteve-se os valores: primeiro registro: perineômetria (médias): GA: $r = 0,40$; GB: $r = 0,23$; GC: $r = 0,84$; MP (médias): GA: $r = 0,78$; GB: $r = 0,36$; GC: $r = 0,68$; Segundo registro: Perineômetro (médias): GA: $r = 0,30$; GB: $r = 0,42$; GC: $r = 0,90$; MP (médias): GA: $r = 0,68$; GB: $r = 0,40$; GC: $r = 0,73$; Na avaliação eletromiográfica os resultados encontrados foram qualitativos, evidenciaram a atividade muscular, porém não foram capazes de mensurá-las numericamente, assim não permitindo a diferenciação entre os grupos. **Conclusão:** Concluiu-se que o método AFA não apresentou diferença significativa entre os grupos. Em relação ao tônus basal verificou-se que ambos os aparelhos captaram a pressão basal dos MAP diferenciando os três grupos no primeiro registro, tendo o grupo de dor pélvica apresentado diferenças estatísticas significativas em relação aos demais grupos. Na avaliação da pressão de contração dos MAP concluiu-se que ambos os aparelhos não mostraram diferenças significativas com as pressões de contração entre os três grupos, e que as pressões abdominais e perineais também não evidenciaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos. Na correlação entre os métodos demonstrou-se que o método proposto apresentou melhor correlação com AFA do que o método perineômetria, tendo boa correlação com os grupos de mulheres com IUE e normais, enquanto que o método perineômetria obteve boa correlação apenas com o grupo normal. Em relação a atividade eletromiográfica concluiu-se que esta presente de forma semelhante em ambos os registros, porém o aparelho utilizado não foi capaz de identificar os grupos ou o estado desta musculatura.

AVALIAÇÃO DO GASTO ENERGÉTICO E DA UTILIZAÇÃO DE MACRONUTRIENTES EM PACIENTES EM ESTADO CRÍTICO

Camila Cremonezi Japur

Orientador: Prof. Dr. Anibal Basile Filho

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/04/2007

Objetivos: Avaliar o gasto energético e a taxa de utilização de macronutrientes em pacientes em estado crítico por meio das equações da calorimetria indireta e propor um valor fixo de nitrogênio (13 g.d⁻¹) para ser utilizado em substituição aos valores de nitrogênio dosados na urina. **Métodos:** Foi realizada calorimetria indireta em 14 pacientes graves, sob ventilação mecânica e estáveis sob o ponto de vista hemodinâmico, para a obtenção de valores da troca de gases respiratórios (consumo de oxigênio - VO₂ e produção de dióxido de carbono - VCO₂) e dosagem da excreção nitrogenada em urina de 24 h (NU). As equações utilizadas foram a de gasto energético [GE (kcal. d⁻¹) = 5,5VO₂ (mL. min⁻¹) + 1,76VCO₂ (mL. min⁻¹) - 1,99NU (g. d⁻¹)], de utilização de carboidratos [CHO (g. d⁻¹) = 5,93 VCO₂ (mL. min⁻¹) - 4,19VO₂ (mL. min⁻¹) - 2,54NU (g. d⁻¹)], de lipídeos [Lip (g. d⁻¹) = 2,43VO₂ (mL. min⁻¹) - 2,43VCO₂ (mL. min⁻¹) - 1,94NU (g. d⁻¹)] e de proteínas [Ptna (g. d⁻¹) = 6,25NU (g. d⁻¹)]. As equações calculadas com os valores dosados de nitrogênio foram comparadas àquelas calculadas com o valor fixo. Para a caracterização do estado metabólico do paciente, considerou-se hipermetabolismo quando o paciente apresentou um gasto energético medido maior que 30% do gasto ener-

gético basal (GEB) e hipometabolismo quando este valor se encontra 10% abaixo do GEB. O GEB foi calculado pelas equações de Harris-Benedict. **Resultados:** A média de gasto energético encontrada relativa ao peso corporal foi de 21,1±4,5 kcal. kg. d⁻¹. Apenas um paciente caracterizou um hipermetabolismo, 4 hipometabolismo e 9 se apresentavam normometabólicos. Não houve diferenças significativas entre o gasto energético medido calculado com nitrogênio dosado e com o fixo. Quando o valor de VO₂ foi maior que o de VCO₂, houve diferenças significativas entre as taxas de utilização de macronutrientes calculadas com o valor dosado de nitrogênio e com o fixo, porém quando o valor de VCO₂ foi maior ou próximo do valor de VO₂, não houve diferenças entre as variáveis. **Conclusão:** Parece que quando o paciente apresenta o padrão de trocas respiratórias, VCO₂ maior ou próximo do valor de VO₂, o valor de 13 g. d⁻¹ pode ser utilizado nas equações de utilização de macronutrientes em substituição aos valores dosados na urina. Recomenda-se utilizar o valor de 13 g. d⁻¹ para o cálculo do gasto energético em pacientes em estado crítico, pois diminui a variação da estimativa quando comparada com a mesma sem o valor do nitrogênio. A atenção nutricional ao paciente em estado crítico é fundamental para que se alcancem bons resultados no tratamento, e não deve se tornar secundária na gama de cuidados prestados ao paciente por apresentar dificuldades na determinação do gasto energético e na distribuição de macronutrientes a serem administrados.

TRANSEPTOPELUCIDOROSTOSTOMIA: UMA VIA DE COMUNICAÇÃO VENTRICULAR COM A FISSURA LONGITUDINAL DO CÉREBRO

Eduardo José Takashi Fuziki

Orientador: Prof. Dr. Benedicto Oscar Colli

Tese de Doutorado apresentada em 25/05/2007

Objetivo: Este estudo foi realizado para verificar a presença da lâmina rostral no rostro do corpo caloso, as suas relações anatômicas e estabelecer parâmetros para realizar com técnica endoscópica a comunicação do sistema ventricular com a fissura longitudinal do cérebro, no ponto de intersecção do septo pelúcido com a lâmina rostral. **Materiais e Métodos:** Foram estudados 16 encéfalos de cadáveres fixados em formol, 9 femininos e 7 masculinos, com idades de 13 a 69 anos (43,5 ± 13,14 anos) e com peso de 940 a 1533 gramas (1162,7 ± 148,75 g), seccionados nos cortes sagital e axial e as relações estudadas nos dois hemisférios cerebrais. Dois encéfalos foram reconstituídos. As medidas efetuadas nos dois hemisférios cerebrais foram comparadas com teste F para a variância e teste t de

Student para observações pareadas para as médias, sendo consideradas significativas quando p < 0,05. O índice de correlação de Pearson foi calculado entre o diâmetro ântero-posterior do forame interventricular e o diâmetro ântero-posterior da coluna do fórnice e entre o diâmetro ântero-posterior do forame interventricular com o comprimento da lâmina rostral. **Resultados:** As medidas realizadas nos hemisférios direito e esquerdo foram: lâmina rostral (7,07 ± 1,22mm; 7,12 ± 0,82mm), forame interventricular (4,84±0,66mm; 5,03 ± 0,55mm), coluna do fórnice (5,74±0,92mm; 5,82 ± 0,98mm), comprimento do septo pelúcido (31,83 ± 7,05mm; 32,62 ± 6,9mm), altura do septo pelúcido (11,41 ± 1,92mm; 10,91 ± 1,82mm), espessura lâmina do septo (1,01 ± 0,53mm; 1,14 ± 0,48mm), soma septo pelúcido dir. +esq. (2,15±0,87mm), distância joelho/esplênio (74,31±6,07mm; 74,18±5,9mm), rostro (6,89±1,47mm; 6,7±0,9mm), joelho (11,63±1,95mm; 10,92±3,06mm), corpo do corpo caloso (6,9±0,81mm; 6,75±0,66mm), esplênio

(13,0±2,3mm; 12,75±2,17mm), distância da lâmina rostral/recesso supra-óptico (16,65±2,55mm; 16,08±2,84mm), distância da lâmina rostral/a.cerebral ant. (8,62±2,0mm; 8,76±1,72mm), distância da lâmina rostral - a. comunicante ant. (15,33±2,6mm; 15,95 ± 2,73mm), distância do forame interventricular - túber cinéreo (18,14 ± 2,86mm; 17,76 ± 2,9mm), distância do córtex cerebral - lâmina rostral (53,84 ± 3,99mm; 53,04 ± 3,88mm), distância do córtex cerebral - túber cinéreo (73,6 ± 6,26mm; 73,54 ± 5,55mm). Não houve diferença significativa entre as medidas efetuadas nos dois hemisférios cerebrais ($p < 0,05$). Foram observadas correlações positivas entre o diâmetro ântero-posterior do forame interventricular e o diâmetro ântero-posterior da coluna do

fórnice ($R = 0,35$) e entre o diâmetro ântero-posterior do forame interventricular e o comprimento da lâmina rostral ($R = 0,23$). **Conclusão:** A lâmina rostral foi observada em todos os encéfalos estudados. A partir dos parâmetros obtidos foi possível realizar uma ostomia para comunicar os ventrículos laterais com a fissura longitudinal do cérebro utilizando a via endoscópica, através da lâmina rostral no ponto localizado a uma distância anterior ao forame interventricular proporcional a duas vezes o seu diâmetro ântero-posterior, junto a sua intersecção com o septo pelúcido, de forma segura pela existência de uma cisterna poligonal subcalosa na fissura longitudinal do cérebro praticamente desprovida de estruturas anatômicas.

ESTUDO DA FUNÇÃO MITOCONDRIAL DURANTE O DESENVOLVIMENTO DE HIPERTROFIA RENAL COMPENSATÓRIA EM RATOS SUBMETIDOS OU NÃO À ISQUEMIA E REPERFUSÃO RENAL

Carlos Augusto Fernandes Molina

Orientador: Prof.Dr. Sílvio Tucci Júnior

Tese de Doutorado apresentada em 01/06/2007

A hipertrofia renal compensatória (HRC) consiste no crescimento do rim remanescente após perda funcional unilateral. Este crescimento, que ocorre principalmente nos túbulos contorneados e que pode ser estimulado pela nefrectomia, sofre a influência de fatores de crescimento como o TGF-beta (transforming growth factor), e de mediadores como angiotensina II e óxido nítrico. Além da nefrectomia, o transplante renal proporciona outra oportunidade de estudo da HRC com a agravante adicional de que o enxerto passa por período de isquemia e posterior reperfusion. Com isto, o objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento da função mitocondrial durante o desenvolvimento da HRC em rins submetidos ou não à isquemia quente com 60 minutos de duração seguido da reperfusion sanguínea. Foram utilizados 126 ratos albinos com peso entre 180 e 200g, divididos nos seguintes grupos: a- grupo controle do peso renal (n=18); grupo 1 -36 animais subme-

tidos à nefrectomia direita (N) e sacrificados após 1, 4 e 7 dias para aferição do peso seco do rim esquerdo e função mitocondrial; grupo 2 -36 animais submetidos à isquemia renal esquerda (I) com 60 minutos de duração e sacrificados após 1, 4 e 7 dias para aferição do peso seco do rim esquerdo e função mitocondrial; grupo 3 -36 animais submetidos à isquemia esquerda, seguida da nefrectomia direita (IRN) e sacrificados após 1, 4 e 7 dias para aferição do peso seco do rim esquerdo e função mitocondrial. Os resultados mostram aumento da massa renal esquerda no grupo N e no grupo IRN, sendo que neste último o peso seco renal é significativamente superior quando comparado ao grupo N. Na análise da função mitocondrial observa-se aumento progressivo e significativo do estado 3 da respiração mitocondrial no grupo N e, inversamente, redução significativa desse parâmetro no grupo IRN durante o desenvolvimento da HRC, não havendo perda do controle respiratório. Estes resultados mostram que a inclusão da variável isquemia em associação à nefrectomia unilateral influencia no desenvolvimento da HRC, aumentando significativamente a massa do rim remanescente. Entretanto, a isquemia atua negativamente na respiração mitocondrial.

AValiação da Função Pulmonar e da Qualidade de Vida em Pacientes Obesos Mórbidos Seis Meses Após Cirurgia Bariátrica

Marcia Arruda Fajardo Xavier

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Ceneviva

Dissertação de Mestrado apresentada em 06/06/2007

O presente estudo teve como objetivo avaliar a evolução do peso corpóreo, da função pulmonar e da qualidade de vida de 20 pacientes obesos mórbidos seis meses

após operação de Fobi-Capella. Os pacientes foram avaliados seis meses após a cirurgia e o sexo feminino predominou em 75%, com média de idade de 40,5 anos ± 10, 27, média de peso de 110,11 kg ± 21,77 e IMC de 39,93 kg/m² ± 7,13 no pós-operatório. Para a avaliação da função pulmonar foi realizada espirometria por meio do espirômetro Pulmonet Godart NV Bilt Vetr Holland, e para a qualidade

de vida foi aplicado o questionário de Moorehead-Ardelt. As comparações entre os valores espirométricos do pré e pós-operatório foram realizadas pelo teste *t* de Student para amostras pareadas, e para a correlação entre a perda de peso e função pulmonar utilizou-se análise de regressão linear simples, adotando-se $p < 0,05$ para todos os resultados. As variáveis espirométricas FR, VRE e CRF apresentaram aos seis meses após a operação, diferença estatisticamente significativa com os valores pré-operatórios, porém, não houve diferença significativa de VR, CV, CPT, FEF_{25-75%}

e VEF1/CVF (%). Apenas um paciente relatou piora da qualidade de vida após a operação. Houve correlação positiva entre a perda da porcentagem do excesso de peso e VRE ($p = 0,0117$, $r = 0,5514$); as demais variáveis não apresentaram correlação significativa. Em conclusão, houve perda significativa de peso, melhora da função pulmonar evidenciada pela redução da FR, aumento do VRE e da CRF, além de melhora da qualidade de vida nos seis meses após a operação de Fobi-Capella.

ESTUDO MORFOLÓGICO E QUANTITATIVO DO RIM DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS À INFECÇÃO EXPERIMENTAL PELO *Trypanosoma cruzi*

Maria Cristina Agustini

Orientador: Prof. Dr. João José Lachat

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/06/2007

A doença de Chagas é um importante problema de saúde pública na América Latina e constitui no Brasil, um dos problemas médico-sociais mais graves. No início da infecção, a fase aguda da doença, pode causar morte, devido à meningoencefalite e mais raramente, à falência cardíaca provocada pela miocardite aguda difusa. Causa morte também em pacientes imunodeprimidos, como é o caso de receptores de órgãos, após o transplante de doadores chagásicos, leucemia ou linfoma. Neste caso a doença atinge aspectos clínicos muito mais graves do que nas formas agudas resultantes da transmissão por transfusões sanguíneas ou por triatomíneos. Com o objetivo de avaliar os efeitos da infecção por *Trypanosoma cruzi* cepa Y, sobre os rins de ratos Wistar nas fases aguda (7 dias) e crônica (50 e 185 dias) da doença, foram analisados ao nível de microscopia de luz, tanto o parênquima como o estroma do referido órgão. Em um sistema semi-automático de análise de imagens da KontronBildanalyse (Mini-Mop), foram ana-

lisados os parâmetros área, diâmetros máximo e mínimo de 100 corpúsculos renais de cada animal controle e infectado. A observação morfológica do córtex renal dos animais chagásicos na fase aguda mostra um discreto infiltrado inflamatório intersticial e edema. Nos animais do grupo chagásico de 50 dias foi observado um infiltrado intersticial mais intenso e as células dos túbulos contorcidos proximais apresentaram vacuolização com lesão de sua orla em escova. No grupo eutanasiado aos 185 dias observou-se também infiltrado inflamatório e túbulos contorcidos proximais com agravamento da lesão de suas células e orlas em escova. Os parâmetros área, diâmetros máximo e mínimo dos corpúsculos renais analisados morfometricamente mostraram-se maiores nos animais chagásicos, de 7 e 185 dias em relação aos seus respectivos controles ($p \leq 0,05$). Tanto o peso dos animais chagásicos do grupo de 50 dias, quanto as áreas e os diâmetros máximo e mínimo foram menores quando comparados com os seus controles. Estes dados mostram que a cepa Y de *Trypanosoma cruzi* provoca alterações morfológicas e morfométricas que atingem o interstício, os túbulos e os corpúsculos do rim de ratos da linhagem Wistar.

CLÍNICA MÉDICA

CARACTERIZAÇÃO DE AMOSTRAS DE *Cryptococcus* ISOLADAS DE PACIENTES COM AIDS: SENSIBILIDADE A ANTIFÚNGICOS, TIPAGEM GENOTÍPICA E DETERMINAÇÃO MOLECULAR DO TIPO SEXUAL E DO SOROTIPO

Thaís Pandini Figueiredo

Orientadora: Profa.Dra. Claudia Maria Leite Maffei

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/04/2007

Cryptococcus neoformans é um fungo leveduriforme, encapsulado, saprófita na natureza. Exibe brotamentos simples ou múltiplos, assincrônicos, apresentando cinco

sorotipos (A, B, C, D e AD.), sendo subdividido em duas variedades: *grubii* (sorotipo A), recentemente descrita, e *neoformans* (sorotipos D e AD), enquanto os sorotipos B e C foram agrupados nas espécies *C. gattii*. As infecções criptocócicas ocorrem mundialmente, em áreas endêmicas definidas, porém a distribuição ambiental dos sorotipos mostra algumas diferenças, uma vez que *C. gattii* é mais prevalente nas regiões tropicais e subtropicais. É o agente mais comum de micoses sistêmicas em pacientes com AIDS e com outras condições de imunossupressão, como transplantados de órgãos. A meningoencefalite e, menos frequentemente, pneumonia são as manifestações clínicas mais comuns da doença e os sorotipos A e D, tipo sexual α , são os mais isolados do homem. Considerando a elevada frequência da doença em pacientes com AIDS, que procuram o HC-FMRP-USP, o presente trabalho estudou as características fenotípicas e genotípicas de isolados clínicos de *Cryptococcus* através da: a) caracterização bioquímica do agente, b) definição dos seus perfis de sensibilidade frente aos agentes antifúngicos Anfotericina B, Cetoconazol, Itraconazol, Fluconazol e 5-Fluorocitosina, c), sorotipagem e definição do tipo sexual através de biologia molecular e d) e tipagem molecular. Das amostras selecionadas, observamos que a maioria (78,1%) foi identificada como *Cryptococcus neoformans* e 21,9%, taxa considerada elevada em relação à literatura, correspondeu à espécie *C. gattii*, apesar do pouco predomínio de reservatórios naturais dessa espécie em nossa região. No teste de sensibilidade *in vitro*, realizado pela diluição em microplacas, padronizado pelo CLSI/NCCLS, 100% das amostras de *C. neoformans* e de *C. gattii* foram sensíveis a Anfotericina B, Cetoconazol e Fluconazol. Mesmo não sendo de uso terapêutico no Brasil, algumas amostras de *C. neoformans* mostraram perfil

intermediário/dose-dependente para 5-Fluorocitosina, e observamos altas frequências de valores de CIM correspondendo a perfil intermediário/dose-dependente e resistência para Itraconazol. A totalidade das amostras de *C. neoformans* foi classificada por PCR como pertencente ao sorotipo A (variedade *grubii*). Verificamos, uma concordância de 100% do teste bioquímico (CGB) com a caracterização molecular. Também todas as amostras de *C. neoformans* foram caracterizadas como sendo do tipo sexual MT α . Observamos uma única amostra diplóide MATa/ α , pertencente à espécie *C. gattii*. A ocorrência desse comportamento é rara, especificamente para os sorotipos B e C, uma vez que os relatos de híbridos são mais frequentemente descritos para os sorotipos A e D (A α Da). A tipagem molecular, empregando a seqüência microsátelite M13 foi capaz de tipar todas as amostras e revelou que para *C. neoformans* o tipo molecular VNI foi o predominante, ocorrendo em 81% das amostras, enquanto para *C. gattii*, o tipo molecular mais freqüentemente foi o VGII em 71% das amostras. Os resultados da tipagem molecular sugerem, para a quase totalidade dos pacientes que apresentaram novos quadros da doença, mesmo após períodos de 1 ano sem sintomas, reativação endógena da doença, pela persistência da cepa inicial. Com a seqüência (GACA)₄ duas amostras de *C. gattii* não foram possíveis de serem tipadas. Concluímos que as amostras estudadas, isoladas de pacientes provenientes da região de Ribeirão Preto, não apresentaram aumento significativo de resistência aos antifúngicos utilizados na clínica, o teste bioquímico CGB é confiável para sorotipar as amostras, uma vez que houve boa correlação entre ele e a caracterização molecular por PCR, e a homogeneidade de tipos sexuais e moleculares encontrados indica baixa possibilidade de cruzamento entre as cepas.

INFLUÊNCIA DO VOLUME E DO TEOR CALÓRICO SOBRE A DISTRIBUIÇÃO INTRAGÁSTRICA E O ESVAZIAMENTO GÁSTRICO DE REFEIÇÕES LÍQUIDAS EM VOLUNTÁRIOS ASSINTOMÁTICOS E PACIENTES COM DISPEPSIA FUNCIONAL

Karla Glaysia Azeredo Lourenço

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Brandt de Oliveira
Tese de Doutorado apresentada em 11/04/2007

A dispepsia funcional (DF) tem sido associada à vários mecanismos fisiopatológicos, entre os quais a diminuição da retenção intragástrica pós-prandial no estômago proximal e os defeitos do esvaziamento gástrico (EG). Entretanto, as relações entre estes distúrbios motores e os sintomas ainda não estão totalmente esclarecidas. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito sobre a distribuição intragástrica e o esvaziamento gástrico de 3 refeições líquidas de diferentes volumes e teores calóricos em pacientes com DF e verificar possíveis correlações entre os sintomas e as alterações motoras nestes pacientes. Partici-

param do estudo 18 pacientes com dispepsia funcional e 17 voluntários assintomáticos (VA). O método utilizado foi a cintilografia abdominal empregando-se a gama-câmara. A retenção gástrica proximal (RGP) e o EG de três refeições-teste, marcadas com ^{99m}Tc e fitato, foram estudados em 3 dias diferentes. As refeições-teste líquidas foram preparadas no laboratório e consistiam de: refeição A: 60ml e 57 Kcal, refeição B: 60ml e 137.5 Kcal e refeição C: 360ml e 57 Kcal. A distribuição intragástrica foi avaliada pela porcentagem do total de radioatividade retida no estômago proximal (RGP). EG foi expresso como porcentagem do total de radioatividade esvaziada do estômago total e pelo tempo (minutos) decorrido entre a ingestão e o momento que a radioatividade no estômago se reduz a metade da inicial (T_{1/2}). No grupo VA, a RGP ao final da refeição B (mediana:

44.7%; valores extremos: 11.7-63.6%) foi significativamente maior ($p=0.002$) do que ao final da refeição A (19.3%; 7.6-60.6%), enquanto que no grupo de pacientes dispépticos, as RGP ao final das refeições A e B foram muito semelhantes ($p=0.54$, medianas e valores extremos: 21.7%; 8.7-55.2% e 22.3%; 6.2-49.6%, respectivamente). As RGP ao final da refeição C nos grupos de assintomáticos e portadores de dispepsia foram semelhantes entre si (36.2%; 27.1-43.8% e -36.3%; 18.2-46%, respectivamente), e significativamente superiores ($p<0,01$) às RGP das refeições A dos respectivos grupos. Dez min. após a ingestão das refeições A, B e C, os grupos DF e VA evidenciaram similar EG (A: 30.4%18.9-48.1% vs 34.1%; 27.9-70.6%; $p=0.22$; B: 25.9%; 15.7-59.2% vs 26.7%; 16.9-67.6%; $p=0.85$; C: 36.3%; 18.6-72.8% vs

29.8%; 18.9-67.9%; $p=0.57$). Quanto ao $T_{1/2}$, no grupo VA, os valores das refeições B (28.4; 5.5-57.5; $p=0.02$) e C (46.2; 8-72.1; $p=0.03$) foram significativamente maiores do que a refeição A (19.1; 7.5-36.7). Nos dispépticos, os valores de $T_{1/2}$ foram semelhantes entre si (A: 27.5; 11-53; B: 25.7; 9.2-57.7; C: 22; 9-72). Não houve associação significativa entre a maioria dos sintomas referidos durante os testes e as alterações motoras apresentadas pelo grupo de pacientes dispépticos. Os nossos resultados sugerem que a má distribuição intragástrica em DF depende da composição da refeição e pode advir de defeitos em mecanismos sensíveis a calorías envolvidos na regulação do estômago proximal; e que a diminuição da RGP parece ocorrer independentemente de distúrbios do EG nos pacientes dispépticos.

DIAGNÓSTICO E PREVALÊNCIA DA HIPERMIBILIDADE ARTICULAR EM UNIVERSITÁRIOS BRASILEIROS

Daniela Aparecida de Moraes

Orientador: Prof. Dr. Paulo Louzada Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 20/04/2007

Introdução: A hiper mobilidade articular é uma condição clínica hereditária caracterizada pelo aumento da capacidade de distensão articular em movimentos passivos e hiper mobilidade em movimentos ativos. Sua prevalência varia de 10 a 20% na população geral, é mais freqüente em mulheres, em asiáticos e africanos, e declina com a idade. Pode estar associada a outras manifestações clínicas como artralguas, fibromialgia e outros reumatismos de partes moles, prolapso de válvula mitral, transtornos de ansiedade e disfunções autonômicas. A doença, subdiagnosticada, pode ter sua real prevalência estimada por métodos de avaliação específica, como o tradicional Escore de Beighton, e o questionário de auto-avaliação “The five-part questionnaire for identifying hypermobility”. **Objetivos:** O presente estudo teve como objetivo principal determinar a prevalência da hiper mobilidade articular em universitários brasileiros através da validação e aplicação do questionário de auto-avaliação “The five-part questionnaire for identifying hypermobility”. Secundariamente, visou determinar a sensibilidade e a especificidade do Questionário de auto-avaliação em relação ao Escore de Beighton no diagnóstico de hiper mobilidade articular, assim como a freqüência da doen-

ça de acordo com o sexo. **Material e Métodos** Foi realizada a tradução e validação para a língua portuguesa do “The five-part questionnaire for identifying hypermobility”. Em uma primeira fase, o questionário foi aplicado em 2.523 universitários brasileiros. Em seguida, uma amostra representativa da primeira, com 394 participantes, foi avaliada através do Escore de Beighton, visando estabelecer o diagnóstico de hiper mobilidade articular. Finalmente, os dois métodos foram comparados estatisticamente, para estabelecer a sensibilidade e a especificidade do Questionário aplicado.

Resultados: De acordo com o Questionário, a prevalência da hiper mobilidade articular na população estudada foi de 37,01%, enquanto que com o Escore de Beighton, foi de 34%. A freqüência da doença, avaliada respectivamente pelo Questionário e pelo Escore de Beighton, foi de 43,54% e 44,26% no sexo feminino, e de 28,44% e 16% no sexo masculino. Comparando os resultados do Questionário com os do Escore de Beighton, através da curva ROC, observou-se uma sensibilidade de 70,9% e uma especificidade de 77,4%.

Conclusões: A hiper mobilidade articular é uma doença muito prevalente na população de universitários brasileiros, sendo mais freqüente no sexo feminino. O questionário de auto-avaliação para identificação de hiper mobilidade articular, traduzido e validado para a língua portuguesa, mostrou ser um método eficaz quando comparado com o tradicional Escore de Beighton.

AValiação DA RETENÇÃO DE CONHECIMENTOS E DAS HABILIDADES CLíNICAS PELO ESTUDANTE DE MEDICINA. EXPERIÊNCIA NA ÁREA DA CARDIOLOGIA PEDIÁTRICA UTILIZANDO TESTES DE MÚLTIPLA ESCOLHA E EXAME CLíNICO OBJETIVO ESTRUTURADO (OSCE)

Fernando Tadeu Vasconcelos Amaral

Orientador: Prof.Dr. Luiz Ernesto de Almeida Troncon

Tese de Doutorado apresentada em 25/04/2007

Objetivos: Verificar a capacidade do estudante de Medicina em manter ao longo do tempo o domínio de conhecimentos e das habilidades clínicas fundamentais na

área da cardiologia pediátrica. Comparar os níveis de desempenho aferidos na prova prática pela avaliação global e com uso de protocolos de observação e avaliação estruturados (*checklist*). Verificar se o desempenho em prova objetiva voltada às habilidades cognitivas pode oferecer informações sobre o desempenho verificado na prova prática. **Material e Métodos:** Três coortes de alunos do 4º ano de Medicina (N = 130) foram submetidos à avaliação por meio de testes de múltipla escolha e a exame clínico objetivo estruturado (OSCE) logo após a conclusão de estágio específico na área da cardiologia pediátrica. A mesma avaliação foi novamente empregada por duas vezes em um grupo de alunos voluntários (N = 21) com intervalo de seis meses. A prova teórica constou de quarenta questões de múltipla escolha com cinco alternativas e somente uma certa. A OSCE foi montada com oito estações envolvendo tomada de história clínica (2), exame físico (3), comunicação de notícia (1) e interpretação de eletrocardiograma (1) e radiografia simples do tórax (1). Em quatro estações foram empregados pacientes reais, enquanto que em duas haviam pacientes simulados. Cada estação tinha duração total de oito minutos e a avaliação foi feita por avaliador dentro da sala portando *checklist*, incluindo avaliação global. O tratamento estatístico foi feito pela análise de variância (ANOVA) através dos testes de Kruskal-Wallis, Friedman e Tukey-Kramer. Valores significantes foram aceitos quando $p < 0,05$. Resultados com tendência à significância foram considerados quando o valor de p estava entre 0,05 e 0,10. **Resultados:** Na avaliação teórica, houve diminuição progressiva e significativa na capacidade de retenção global de conhecimentos (A1: 6,54, A2: 5,97 e A3: 5,67; $p < 0,05$) e também nas questões especificamente relacionadas às habilidades clínicas (A1: 7,25, A2: 6,90 e A3: 6,43; $p < 0,05$) e ao conhecimento sobre doenças (A1: 6,0, A2: 5,28 e A3: 5,08; $p < 0,05$). Em relação às habilidades clínicas testadas, foi verificado na

análise pareada por domínio de habilidades e empregando-se a *checklist* que nas atividades necessitando interação verbal com o paciente, como tomada de história clínica e comunicação de notícia houve tendência para melhora do desempenho nas avaliações subseqüentes (A1: 6,92, A2: 7,44 e A3: 7,53; $p = 0,07$). No que diz respeito à técnica de execução do exame físico, os escores se mantiveram em níveis muito satisfatórios, não havendo diferença significativa entre as três avaliações (A1: 9,28, A2: 9,24 e A3: 9,16). O desempenho em relação à interpretação de exames complementares foi marcado por uma piora significativamente progressiva (A1: 7,68, A2: 6,79 e A3: 6,59; $p = 0,01$). Na avaliação global foi notada tendência à melhora no desempenho nas estações de comunicação (A1: 7,08, A2: 7,37 e A3: 7,84; $p = 0,05$) e melhora significativa na habilidade de exame físico (A1: 7,83, A2: 7,87 e A3: 8,96; $p = 0,0002$). A comparação do desempenho aferido pela avaliação global e por meio da *checklist* revelou boa correlação nas tarefas que requeriam comunicação com o paciente ($r = 0,70$ a $0,74$), enquanto nas tarefas de exame físico essa correlação foi menos expressiva ($r = 0,39$ a $0,59$). A correlação entre o desempenho prático e o teórico foi sempre baixa, tanto na avaliação pela *checklist* ($r = 0,20$ a $0,27$) quanto pela global ($r = 0,13$ a $0,18$). **Conclusões:** os conhecimentos e as habilidades clínicas adquiridas pelo estudante de Medicina apresentam evoluções diferentes, caracterizados por diminuição, ao longo do tempo, da retenção de conhecimentos, de manutenção, ou mesmo melhora, das habilidades relacionadas à comunicação com o paciente e a execução do exame físico e de piora na interpretação de exames complementares. O desempenho na prova prática aferido por *checklist* mostrou boa correlação com o desempenho aferido pela avaliação global nas estações envolvendo comunicação com o paciente. A fraca correlação entre as provas de conhecimento e de habilidades mostra que esta última é essencial na avaliação das habilidades clínicas.

ANÁLISE DO USO DE DESCRITORES DE DISPNEIA EM PACIENTES COM DOENÇAS CARDIORRESPIRATÓRIAS E OBESIDADE

Christiane Aires Teixeira

Orientador: Prof.Dr. José Antônio Baddini Martinez
Dissertação de Mestrado apresentada em 26/04/2007

Estudos sugerem que a sensação de dispnéia é descrita por diferentes indivíduos com o emprego de diferentes expressões. Tais termos podem ser agrupados em classes de percepção que potencialmente refletem mecanismos causadores subjacentes. A maioria desses trabalhos foram realizados em países de língua inglesa, e tal aspecto nunca foi investigado no Brasil. A nossa pesquisa visou a avaliação de aspectos qualitativos da dispnéia em uma amostra de pacientes da população brasileira. Foram estudados 50 indi-

víduos em cada grupo com os seguintes diagnósticos: asma brônquica, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) e obesidade, além de 30 pacientes com insuficiência cardíaca (IC). Foram aplicadas duas listas de frases (descritores de dispnéia), uma com expressões nacionais desenvolvidas a partir de estudo piloto e outra com frases traduzidas e adaptadas do inglês de trabalho da literatura. Os pacientes escolheram as frases que melhor definiram as suas sensações de desconforto respiratório e os dados obtidos foram avaliados por análise multivariada de agrupamento (*cluster analysis*). Com o estudo do questionário traduzido foram definidos 9 agrupamentos (conjuntos de descritores agrupados por similaridade): “expiração”, “fome de ar”, “sufoc-

co”, “superficial”, “rápido”, “aperto”, “falta de ar”, “inspiração” e “trabalho”. Uma forte relação com o agrupamento “inspiração” foi observada em asma, DPOC e IC. Com os descritores localmente desenvolvidos, 7 agrupamentos foram determinados: “sufoco”, “aperto”, “rápido”, “fadiga”, “abafado”, “trabalho/inspiração” e “falta de ar”. Uma forte relação com os agrupamentos “sufoco” e “trabalho/inspiração” foi observada em asma, DPOC e IC. Obesidade relacionou-se melhor com “falta de ar”. Tanto com a lista de descritores nacional como com a traduzida, todos os grupos de pacientes selecionaram entre as suas três primeiras opções frases de mais de um agrupamento. Alguns desses foram compartilhados por mais de um grupo de pacientes.

O número de agrupamentos fortemente relacionado com as diferentes condições foi maior empregando-se descritores nacionais. Entretanto o seu emprego não contribuiu para um melhor diagnóstico diferencial entre as condições. Nossos resultados indicam que as sensações respiratórias podem ser agrupadas em função da sua similaridade, à semelhança de resultados obtidos em estudos realizados no exterior. Tal fato sugere fortemente que a dispnéia não se trata de um sintoma único e sim de um conjunto de sensações distintas. Ainda que o agrupamento dos descritores seja possível, a análise desses conjuntos na presente amostra mostrou-se de pequena utilidade no diagnóstico diferencial das diferentes condições clínicas estudadas.

ESTRESSE E MODOS DE ENFRENTAMENTO EM PORTADORES DE DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS

Elaine Cristina Bertuso Pelá

Orientador: Prof. Dr. Luiz Ernesto de Almeida Troncon
Dissertação de Mestrado apresentada em 27/04/2007

Neste trabalho realizou-se a avaliação de pacientes com doenças inflamatórias intestinais (DII) - doença de Crohn (DC) e retocolite ulcerativa idiopática (RCUI) quanto a variável psicológica estresse e modos de enfrentamento utilizado frente à situação de doença. Investigaram-se, ainda, as relações entre estas variáveis e diferentes aspectos clínicos das DII. Os grupos de pacientes com DC e RCUI foram compostos por 25 integrantes cada, que foram comparados com igual número de controles doentes (CD) e saudáveis (CS), sendo estes últimos selecionados dentre os acompanhantes dos pacientes. Empregaram-se instrumentos padronizados e validados de avaliação psicológica: escala de eventos vitais e inventário de enfrentamento. Os resultados mostraram que proporções elevadas e semelhantes (64 – 80%) dos integrantes dos quatro grupos apresentaram-se sob estresse intenso, ocorrendo, porém, diferenças entre os grupos quanto aos tipos de eventos vitais estressantes experimentados. O estresse intenso se mostrou

maior e associado significativamente à idade mais avançada na DC e à doença em atividade na RCUI. Quanto aos modos de enfrentamento, na DC e na RCUI, verificaram-se proporções semelhantes e significativamente superiores à do grupo CD de casos utilizando a estratégia de “confronto” (40% vs. 12%; $p=0,01$). Na DC, a proporção de pacientes utilizando a estratégia de “resolução de problemas” foi significativamente maior que na RCUI (96% vs. 80%; $p=0,05$). Na RCUI, a proporção de pacientes utilizando a estratégia de “fuga/esquiva” (96%) foi significativamente maior ($p=0,05$) que nos grupos CD (80%) e CS (76%). A utilização das várias estratégias de enfrentamento parece ser afetada, na DC, por sexo, escolaridade e estado de atividade da doença. Na RCUI, houve efeito das variáveis: escolaridade, estado de atividade e duração da doença e estresse intenso. Estes dados indicam a ocorrência de estresse intenso nos pacientes, independente do tipo de doença e, também nos acompanhantes. A DC e a RCUI se diferenciam quanto às estratégias de enfrentamento mais utilizadas e pelos fatores que as afetam, o que deve ser levado em consideração no estabelecimento de medidas de intervenção psicológica necessárias ao cuidado integral ao paciente.

EFEITO DO TRATAMENTO COM HIDROXIURÉIA SOBRE AS CÉLULAS HEMATOPOÉTIAS DA MEDULA ÓSSEA DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Ana Cristina Silva Pinto

Orientador: Prof. Dr. Dimas Tadeu Covas
Dissertação de Mestrado apresentada em 02/05/2007

Introdução. Os benefícios do tratamento com hidroxiuréia (HU) na evolução clínica e na sobrevida de pacientes com doença falciforme já estão bem documentados na lite-

ratura. Vários *trials* clínicos comprovaram a eficácia da HU em reduzir a frequência e a intensidade das crises vaso-occlusivas. O parâmetro hematológico que mais se correlaciona com a melhora clínica é o volume corpuscular médio (VCM), e por isso é utilizado para monitorar a eficácia do tratamento com HU. Porém, o mecanismo pelo qual a HU aumenta o VCM ainda não está esclarecido. **Objetivos.** Nossa

hipótese é que a HU aumenta o VCM porque causa transformação megaloblástica nas células da medula óssea devido ao seu efeito inibitório na síntese de DNA. **Materiais e Métodos.** Foram selecionados 20 pacientes com Anemia Falciforme seguidos regularmente no ambulatório de hemoglobinopatia do HCFMRP-USP (grupo 1: 10 pacientes em uso de HU 10-30 mg/kg/dia; grupo 2: 10 pacientes sem uso de HU), e 10 doadores de medula óssea como controle (grupo 3). Todos os pacientes faziam uso de ácido fólico regularmente e possuíam dosagens séricas normais de folato. Amostras de sangue periférico (1 ml) e de medula óssea (5 ml) foram coletadas de todos os participantes para avaliação morfológica e morfométrica das células da medula óssea, para estudo citogenético e para quantificação da expressão de moléculas de adesão por citometria de fluxo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do HCFMRP-USP e todos os participantes assinaram termo de consentimento informado. **Resultados.** A análise dos esfregaços de medula óssea dos pacientes do grupo 1 mostrou sinais evidentes de transformação megaloblástica, como megaloblastos, células com núcleo em salame, pleocariócitos, metamielócitos gigantes e megacariócitos com núcleo hiperlobulado. Essas alterações foram ausentes no grupo 3 e raramente observadas no grupo 2 e se limitaram a série eritróide. Os resultados da morfometria mostraram aumento da área de todos os tipos celulares estudados no grupo 1 comparado ao grupo 2 e 3, principalmente da linhagem vermelha: pró-eritroblastos ($318.21 \pm 7.52 \times 248.82 \pm 2.25 \mu\text{m}^2$, $p < 0.05$), eritroblastos basófilos ($265.7 \pm 4.87 \times 197.14 \pm 2.79 \mu\text{m}^2$, $p < 0.001$) e eritroblastos policromáticos ($202.55 \pm 5.8 \times 134.53 \pm 4.47 \mu\text{m}^2$,

$p < 0.05$) comparado ao grupo 2 e 3 ($318.21 \pm 7.52 \times 218.68 \pm 5.58 \mu\text{m}^2$, $p < 0.001$; $265.7 \pm 4.87 \times 177.37 \pm 3.27 \mu\text{m}^2$, $p < 0.001$; $202.55 \pm 5.8 \times 122.64 \pm 2.61 \mu\text{m}^2$, $p < 0.001$). A análise citogenética mostrou perda aleatória de cromossomos (hipodiploidia) em praticamente todos os casos, incluindo o grupo controle. A citometria de fluxo mostrou uma redução estatisticamente significativa ($p < 0.01$) das expressões de CD71, CD36 e anexina V na superfície dos eritrócitos falciformes do sangue periférico, e do CD71 e CD36 das células eritróides da medula óssea dos pacientes do grupo 1 comparado ao grupo 2. A redução na expressão de moléculas de adesão na superfície dos eritrócitos falciformes se correlacionou negativamente com o aumento do VCM: CD71 x VCM ($r = -0.81$, $p < 0.001$), CD36 x VCM ($r = -0.82$, $p < 0.001$), e anexina V x VCM ($r = -0.46$, $p = 0.041$) e também com a área celular do eritroblasto policromático (EP): CD71 x EP ($r = -0.48$, $p = 0.033$) e CD36 x EP ($r = -0.50$, $p = 0.023$). **Conclusão.** A HU causa transformação megaloblástica nas células da medula óssea de pacientes com anemia falciforme, aumenta o VCM e a área celular de todos os tipos celulares estudados. O aumento do tamanho celular dos eritrócitos favorece a dispersão das moléculas de HbS. Esse efeito contribui para a redução da polimerização das moléculas de HbS e da adesão celular ao endotélio, evidenciada pela diminuição da expressão de várias moléculas de adesão na superfície de células vermelhas falciformes do sangue periférico e da medula óssea de pacientes em uso de HU. A correlação negativa entre o aumento do VCM e a diminuição da expressão de moléculas de adesão celular indica que o VCM é um bom parâmetro para monitorar a adesão celular durante o tratamento com HU.

ESTUDO DA ÁGUA POTÁVEL COMO VEÍCULO DE IODO: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E AVALIAÇÃO DA BIODISPONIBILIDADE EM ESCOLARES

Anderson Marliere Navarro

Orientador: Prof.Dr. José Eduardo Dutra de Oliveira

Tese de Doutorado apresentada em 02/05/2007

Objetivo: estudar a água potável como veículo para garantir a ingestão de iodo em crianças de uma escola rural e outra urbana na cidade de Botucatu-SP. **Métodos:** O estudo foi realizado em 4 fases: Fase I - analisar as características físico-químicas, sensoriais e a determinação de cloro residual em água potável adicionada de 2 sais de iodo (iodeto de potássio (KI) e iodato de potássio (KIO_3)); Fase II - coleta de uma amostra de sal de cozinha domiciliar e uma amostra casual de urina domiciliar (Basal) e avaliação antropométrica. Fase III - administração de uma amostra de água potável contendo 200 μg de KI e KIO_3 separadamente

para a escola rural (ER - n= 73 crianças) e administração de uma dose contendo 50 μg de iodo para a escola urbana (EU - n= 88 crianças) (Pré). Cada criança recebeu uma amostra de água potável contendo apenas 1 sal. Após a administração foi coletado uma nova amostra de urina para a ER 3 horas após a administração e para a EU 40 dias (Pós). Fase IV - Estimativa da ingestão e determinação da excreção urinária de iodo, sódio, creatinina e potássio. Para as análises físico-químicas foram determinados cor, condutividade, turbidez, pH e cloro residual de acordo IAL, 1985. Para a análise sensorial foi utilizado o teste triangular de diferença e pareado de preferência. Para a determinação de iodo urinário foi utilizado método proposto por DUNN *et al.*, 1993 (reação de SANDELL; KOLTHOFF, 1937), as análises de creatinina urinária foram realizadas por kit comercial da

Labtest Diagnóstica SA. **Resultados:** Os valores dos parâmetros físico-químicos apresentaram-se abaixo dos limites estabelecidos pela legislação brasileira (Cor até 15 mg PtCo/L, Turbidez até 5, pH entre 6 e 9,5). A quantidade de cloro residual presente na água potável sofreu alteração significativa ($p < 0,05$) diminuindo seu valor inicial quando adicionado de KI na água clorada com 2,0 mg de cloro/L ($0,77 \pm 0,50$ mg de cloro/L). Não ocorreu alteração sensorial significativa quando se utilizou concentrações de KI inferiores a $200 \mu\text{g/L}$ e inferiores a $2000 \mu\text{g/L}$ de iodo para KIO_3 . A prevalência de deficiência de iodo estava abaixo dos valores aceitos pela OMS (3,8% na escola rural e 3,03% na escola urbana). A administração de uma única dose de água potável iodada ($200 \mu\text{g}$) nas crianças de uma ER promoveu au-

mento na excreção urinária de iodo ($p < 0,05$), enquanto que uma dose diária ($50 \mu\text{g}$) durante 40 dias não alterou a excreção urinária de iodo de início do estudo (EU). Os sais foram significativamente diferentes apenas na ingestão estimada de iodo sendo maior para o iodato de potássio em ambas as escolas ($p < 0,05$). As crianças apresentaram excreção urinária em excesso (iodúria $> 300 \mu\text{g/L}$) desde o início do estudo (Basal) em 62,03% para a ER e 90,91% para a EU. O iodo nas amostras de sal apresentou-se dentro dos limites definidos pela legislação em 92,41% para a ER e 93,94% para a EU. Existe excesso de ingestão de sódio e sal na alimentação das crianças em ambas escolas. **Conclusão:** Os estudos demonstraram que a água potável é um veículo de iodo adequado para garantir a ingestão de iodo em escolares.

ESTUDO DA ADESÃO AO TRATAMENTO E DO CONTROLE DA PRESSÃO ARTERIAL EM IDOSOS HIPERTENSOS

Rachel Gabriel Bastos-Barbosa

Orientadora: Profa. Dra. Nereida Kilza da Costa Lima
Dissertação de Mestrado apresentada em 16/05/2007

O propósito do estudo foi avaliar a adesão terapêutica em idosos hipertensos utilizando o teste de Morisky e Green, o instrumento para avaliar atitude frente à tomada de remédios (IAAFTM), a adesão referida pelo paciente na Avaliação de Adesão pela Enfermagem (AAE), feita em consultório, a adesão verificada em visita domiciliar, além da taxa de controle da pressão arterial (PA).

Estudo transversal, onde foram selecionados aleatoriamente 60 idosos, com hipertensão arterial sistêmica (HAS), acompanhados em ambulatório de clínica médica e geriatria. Os critérios de exclusão foram: déficit cognitivo, escolaridade < 1 ano ou > 8 anos, uso de menos de quatro medicações diversas, pacientes dependentes, portadores de hipotireoidismo ou hipertireoidismo não controlados, uso de fármacos com efeito hipertensivo e com hipertensão secundária. Todos os pacientes submeteram-se a uma entrevista semi-estruturada na AAE, sendo que 33 destes voluntários realizaram o Teste de Morisky e Green, o IAAFTM e a avaliação domiciliar. Em todos os pacientes foram realizadas três medidas de PA em consultório (PAC1), com intervalo de 1 minuto entre elas. Os pacientes realizaram a Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial de 24 horas (MAPA), retornando em uma semana para realização de mais 3 medidas da PA (PAC2). Em visita domiciliar foram verificadas mais 3 medidas da PA (PAVD) e a adesão medicamentosa do idoso. Para a análise estatística foi utilizado o teste de Fisher, modelos lineares de efeitos mistos, Coeficiente de

Lin e Coeficiente de Kappa.

A idade dos pacientes foi de 71 ± 6 anos, 63% mulheres, 60% brancos, 63% casados, escolaridade de 4 ± 2 anos, sendo que 68% eram aposentados e 60% tinham renda familiar de 1 a 3 salários mínimos. Quanto ao conhecimento da doença, verificou-se que 88% sabiam que eram hipertensos, porém 42% dos pacientes relatavam que a HAS tinha cura. Quanto ao grau de conhecimento dos medicamentos, 78% dos pacientes não entendiam a letra do prescritor.

Quanto às dificuldades relacionadas à adesão, evidenciou-se que 40% dos pacientes relataram efeito colateral atual com o medicamento que faziam uso e 48% dos pacientes esqueciam de tomar o medicamento prescrito. Verificou-se adesão aos anti-hipertensivos em 36% no Teste de Morisky e Green, 64% no IAAFTM, 55% de adesão na AAE e 52% de adesão em domicílio ($N=33$). Não houve adequada concordância entre os diversos métodos de avaliação de adesão (kappa variando entre 0,05 e 0,46). Houve maior média de PA nas 2 consultas e em visita domiciliar se comparadas com a MAPA vigília ($142 \pm 15/82 \pm 4$ mmHg, $146 \pm 24/81 \pm 14$ mmHg e $123 \pm 1/70 \pm 5$ mmHg, respectivamente - $p < 0,001$ PAC e PAVD vs. MAPA vigília), não havendo relação da taxa de controle da HAS com grau de adesão. A taxa de controle, utilizando-se a MAPA vigília, foi de 80%. Verificou-se alta prevalência de efeito do avental branco. Concluindo, neste grupo de idosos hipertensos, em tratamento medicamentoso, a prevalência da adesão ao tratamento foi semelhante ao da literatura, houve adequada taxa de controle da PA quando avaliados pela MAPA e discordância entre os instrumentos de medida de adesão estudados.

OFERTA PROTÉICA INTRADIALÍTICA VIA ORAL EM PACIENTES NEFROPATAS CRÔNICOS E DIMINUIÇÃO DOS INDICADORES DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA

Isolda Prado de Negreiros Nogueira Maduro

Orientador: Prof. Dr. Júlio Sérgio Marchini

Tese de Doutorado apresentada em 17/05/2007

As causas de desnutrição energético-protéica (DEP) e caquexia em pacientes em hemodiálise (HD) são multifatoriais, estando relacionadas à uremia, a doenças co-existentes e ao próprio processo dialítico. Tendo em vista a relação entre DEP e inflamação crônica nesses pacientes, o presente estudo avaliou prospectivamente 14 pacientes submetidos à HD crônica, de baixo fluxo, por um período de um mês, divididos em dois grupos, recebendo na fase inicial quantidades diferentes de proteína intradialítica via oral (2 versus 29 g) e na fase experimental quantidades iguais, com suplementação no grupo 1 (29 versus 29 g). Foram realizadas avaliação do estado nutricional e determinadas as perdas pelo dialisato de nitrogênio total (ND),

o nitrogênio sérico (NS) e as proteínas de fase aguda (PCR e α -1-glicoproteína ácida) pré e pós-hemodiálise. O reuso do dialisador também foi determinado em cada ocasião. Os resultados mostram que a suplementação protéica não interferiu no quadro nutricional, nem nos valores de proteínas de fase aguda positiva. Houve correlações inversas entre o estado nutricional e os marcadores inflamatórios, assim como uma correlação positiva entre os valores de PCR e NS pré e pós-díalise. Entretanto, não houve correlação entre o reuso do dialisador e o valor de PCR. Conclui-se a necessidade de estudos adicionais, envolvendo a suplementação protéica com maior duração e com a utilização de medicamentos ou alimentos funcionais anti-inflamatórios para melhor compreender os mecanismos pelos quais a nutrição possa influenciar significativamente na inflamação sistêmica e como consequência, na reversão da caquexia, destes pacientes.

INSERÇÃO DO CONHECIMENTO DO ESPECIALISTA NO PROCESSO DE REALIMENTAÇÃO DE RELEVÂNCIA EM RECUPERAÇÃO DE IMAGEM POR CONTEÚDO: UM ESTUDO DE VIABILIDADE EM MAMOGRAFIA

Natália Abdala Rosa

Orientador: Prof. Dr. Paulo Mazzoncini de A. Marques

Tese de Doutorado apresentada em 23/05/2007

Este trabalho apresenta a implementação e testes iniciais de um sistema de recuperação de imagens baseada em conteúdo, com realimentação de relevância integrada, voltado para aplicações na área médica. A recuperação de imagens baseada em conteúdo é uma área de pesquisa em informática de imagens médicas que tem evoluído bastante nos últimos anos. O sistema proposto utiliza um método recém-desenvolvido – chamado *Slim-tree* – para fazer a indexação e recuperação de imagens através de dados quantitativos extraídos automaticamente. Características como textura, forma e cor, podem ser utilizadas, isoladamente ou de forma combinada, para descrever o conteúdo das imagens e possibilitar sua comparação e recuperação baseada em similaridade. O sistema também contempla a realimenta-

ção de relevância, baseada na avaliação da resposta do sistema por parte do usuário, como forma de diminuição da descontinuidade semântica e otimização da resposta. O modelo proposto foi inicialmente testado com imagens mamográficas, porém sua modelagem é genérica e pode ser facilmente estendida para diferentes regiões anatômicas e modalidades de obtenção de imagem, através da implementação de novos métodos de indexação e algoritmos de extração de características. Nos testes realizados com 540 imagens mamográficas, o uso de realimentação de relevância apresentou uma taxa de ganho médio nas medidas de precisão do usuário leigo, do médico residente e do radiologista de 23,91%, 29,53% e 49,67% respectivamente com respectivos desvios padrões de 34,23%, 37,35% e 47,31%. Para as medidas de qualidade, as taxas de ganho do usuário leigo, do médico residente e do radiologista foram respectivamente de 21,56%, 25,53% e 42,81%, com desvios padrões respectivos de 30,92%, 36,30% e 38,33%.

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DAS FORMAS TAp73 E ΔNp73 DO GENE p73 EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA

Antonio Roberto Lucena de Araújo

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Magalhães Rego

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/05/2007

O *p73*, homólogo ao *p53*, participa no processo de apoptose e regulação do ciclo celular, embora seu papel como gene supressor de tumor seja questionável. Este gene possui dois promotores distintos que permitem a formação de duas proteínas com efeitos antagônicos: a TAp73, que atua como um agente pró-apoptótico, e a forma truncada ΔNp73, capaz de bloquear a atividade transcripcional da *p53* e TAp73, conferindo às células vantagem proliferativa. No presente trabalho foi quantificado a expressão gênica das formas TAp73 e ΔNp73 em 147 amostras de LMA *de novo* e em 22 amostras de precursores hematopoéticos CD34+ de medula óssea de indivíduos sadios por PCR em Tempo Real. Valores significativamente maiores de expressão da forma TAp73 foram detectados nas amostras de LMA em comparação aos progenitores hematopoéticos normais (Média (ξ), Desvio Padrão (DP) = $3,691 \pm 0,698$ versus $\xi = 0,025$ DP = 0,006, respectivamente, $p = 0,0327$). Da mesma forma, a expressão da forma ΔN do gene *p73* foi significativamente maior nas células de LMA ($\xi = 25,100$, DP = 4,411 versus $\xi = 0,458$, DP = 0,165, respectivamente, $p = 0,0233$). Em seguida, foram comparados os níveis de expressão gênica da forma TAp73 entre o grupo de pacientes com LMA Portador de Rearranjo Gênico (PRG, $n = 79$), composto por amostras positivas para os rearranjos gênicos *PML-RAR α* ($n = 32$), *AML1-ETO* ($n = 17$) ou *CBF β -MYH11* ($n = 30$), e o grupo Sem Rearranjo Gênico (SRG, $n = 68$), formado por amostras em que a pesquisa desses rearranjos foi negativa. O grupo PRG apresentou níveis significativamente mais altos de expressão gênica da forma pró-apoptótica TAp73 (PRG: $\xi = 5,174$, DP = 1,179 versus SRG:

$\xi = 1,731$, DP = 0,303, $p = 0,014$). Entretanto, quando analisada a expressão gênica da forma ΔNp73 entre os grupos PRG e SRG, observaram-se maiores níveis de expressão gênica da forma antiapoptótica ΔNp73 no grupo SRG (PRG: $\xi = 10,62$, DP = 1,552 versus SRG: $\xi = 44,23$, DP = 9,487, $p = 0,0001$). Não foram detectadas diferenças significativas entre as formas TAp73 e ΔNp73 nos três subtipos de LMA incluídos no grupo PRG. Subdividimos arbitrariamente os pacientes com LMA *de novo* em quatro subgrupos distintos, baseado na razão ΔNp73 / TAp73, a saber: 1. Grupo com razão ΔNp73 / TAp73 > 100; 2. Grupo com $100 \geq$ razão ΔNp73 / TAp73 ≥ 10 ; 3. Grupo com > 10 razão ΔNp73 / TAp73 ≥ 1 e 4. Grupo com razão ΔNp73 / TAp73 < 1. Não foram observadas diferenças significativas entre estes grupos quanto a idade dos pacientes, dosagem de hemoglobina, contagens de leucócitos e plaquetas ao diagnóstico. Entretanto, a frequência de casos *PML-RAR α* , *AML1-ETO*, *CBF β -MYH11* positivos foi significativamente maior no grupo com razão ΔNp73 / TAp73 < 1. Além disto, a expressão do gene *p53* não variou de acordo com o valor da razão ΔNp73 / TAp73. Foi realizado um ensaio de citotoxicidade *in vitro* induzida por ARA-C para avaliarmos a relação entre a sensibilidade à quimioterapia e o padrão de expressão das formas do gene *p73*. Células leucêmicas que apresentaram uma maior razão ΔNp73 / TAp73 foram significativamente mais resistentes a apoptose induzida pela droga. Corroborando com os achados da expressão gênica, as amostras que apresentaram uma maior razão de expressão protéica ΔNp73 / TAp73 também foram mais resistentes a apoptose induzida por ARA-C. Nossos achados sugerem que há uma associação entre a presença dos rearranjos gênicos *PML-RAR α* , *AML1-ETO*, *CBF β -MYH11* e uma maior expressão da forma TAp73 em relação a ΔNp73. Além disso, o padrão de expressão relativa da forma ΔNp73 pode estar associado à resposta diferencial aos estímulos pró-apoptóticos e à terapêutica.

FATORES PROGNÓSTICOS ENVOLVIDOS NA INFECÇÃO PELO HTLV-1

Rochele Azevedo

Orientador: Prof. Dr. Dimas Tadeu Covas

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/05/2007

O HTLV-1 está relacionado a duas manifestações clínicas: a leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) e a mielopatia associada ao HTLV-1/paraparesia espástica tropical (TSP/HAM). Até o momento, não está claro quais os fatores virais e do hospedeiro estão envolvidos na de-

terminação destas diferentes manifestações clínicas. Muitos autores associaram polimorfismos (SNPs) em genes de citocinas inflamatórias com o desenvolvimento das manifestações clínicas; outros, demonstraram que o aumento da carga proviral está envolvido com o desenvolvimento de TSP/HAM e uveíte. Também foi demonstrado que polimorfismos nos genes de citocinas se associam com elevada carga proviral.

Neste estudo, foram avaliados os polimorfismos

(SNPs) na região promotora dos genes da interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10) em pacientes infectados pelo HTLV-1 e avaliada a associação destes SNPs com o desenvolvimento de TSP/HAM e ATLL. Ainda, foi feita a quantificação da carga proviral nas células mononucleares do sangue periférico destes pacientes. Foram coletadas amostras de 137 pacientes (46 portadores assintomáticos (HAC), 50 com leucemia/linfoma (ATLL), 41 com mielopatia associada ao HTLV-1 (TSP/HAM) e de 188 indivíduos não infectados (controles). A partir do sangue total, foi realizada a extração do DNA a partir do buffy coat. Os polimorfismos dos genes da IL-6 (G-174C e G-634C) e IL-10 (A-592C) foram analisados por PCR-RFLP; e a substituição G-597A PCR em tempo real. A carga proviral foi determinada por PCR em tempo real para a região viral *tax*).

Para o gene da IL-6 foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para as posições -174 e -634 entre os grupos de infectados e o grupo controle. Entretanto, na análise da posição -597 da IL-6 não foi encontrada nenhuma associação entre os grupos. O mesmo foi observado para o gene da IL-10 na posição -592. Foi feita a distribuição da carga proviral entre os grupos de

pacientes HAC, TSP/HAM e ATLL; foram obtidos resultados estatisticamente significantes quando comparamos os grupos de HAC e TSP/HAM ($p < 0,001$) e para os grupos de HAC e ATLL também tivemos um resultado estatisticamente significativo ($p < 0,001$ - Kruskal-Wallis). Para a posição -592 da IL-10 foram analisados os indivíduos infectados separados de acordo os diferentes genótipos para analisar se os níveis de carga proviral eram diferentes nos diferentes genótipos. Foi observado que a carga proviral não está relacionada com os diferentes genótipos e sim com as manifestações clínicas.

O presente estudo demonstrou que os polimorfismos das posições -174 e -634 do gene da IL-6 do processo inflamatório está associado com o desenvolvimento das manifestações clínicas relacionadas com o HTLV-1. E demonstrou também que a carga proviral é um marcador útil da atividade da doença, e portanto, um importante parâmetro prognóstico para o seguimento do desenvolvimento de TSP/HAM e ATLL. É importante salientar que este é o primeiro estudo na população brasileira em que foram analisados os polimorfismos de genes citocinas e carga proviral nas diferentes manifestações clínicas do HTLV-1.

QUANTIFICAÇÃO DO LIMIAR DE ANAEROBIOSE VENTILATÓRIO NO EXERCÍCIO FÍSICO DINÂMICO EM CARDIOPATAS CHAGÁSICOS UTILIZANDO-SE MÉTODOS VISUAIS E COMPUTACIONAIS

Júlio Cesar Crescêncio

Orientador: Prof. Dr. Lourenço Gallo Junior
Tese de Doutorado apresentada em 29/05/2007

Os avanços tecnológicos ocorridos na última década trouxeram enormes benefícios, no sentido de possibilitar o uso de equipamentos computadorizados, que permitem a aquisição, processamento e armazenamento de um grande número de variáveis respiratórias e metabólicas em exercício físico, em tempo real e a cada ciclo respiratório. Inserido neste novo cenário, o estudo realizado com esta nova geração de equipamentos, nas respectivas áreas de conhecimento, pôde ser direcionado, usando-se métodos matemáticos e estatísticos computadorizados, os quais possibilitam a aplicação de procedimentos automáticos e/ou semi-automáticos na solução de problemas específicos. É dentro deste contexto que se insere o presente estudo, que tem por objetivo estudar, em pacientes portadores de doença de Chagas e em indivíduos saudáveis, do sexo masculino, o limiar de anaerobiose ventilatório, durante o exercício físico dinâmico, realizado em cicloergômetro, usando-se métodos baseados em modelos matemáticos, automáticos e semi-automáticos, comparativamente com o método visual gráfico. Foram estudados 51 voluntários do sexo masculino, sendo 24 chagásicos e 27 saudáveis, a média de idade dos grupos chagásico e saudável foi de $33,77 \pm 7,86$

e $35,91 \pm 9,84$ anos, respectivamente. Todos eles foram submetidos a dois testes de esforço físico dinâmico, com um protocolo contínuo do tipo rampa e um outro protocolo de esforço físico descontínuo, ambos na posição sentada, em cicloergômetro de frenagem eletromagnética, acoplado a um ergoespirômetro (CPX/D - MedGraphics), que possibilitou o cálculo e armazenamento de múltiplas variáveis cardiorrespiratórias, como: ventilação pulmonar (VE), produção de CO_2 (VCO_2), consumo de O_2 (VO_2), equivalentes ventilatórios de O_2 (VE/VO_2) e de CO_2 (VE/VCO_2), frações parciais do O_2 (PET O_2) e do CO_2 (PET CO_2) no final da expiração, quociente de trocas respiratórias (RER), frequências respiratória (RR) e cardíaca (FC), além dos valores de potência aplicada e da velocidade de pedalagem no cicloergômetro. Os valores do LAV, durante o protocolo contínuo, foram calculados por seis diferentes métodos, que usam como critério de medida deste parâmetro, a mudança de inclinação da VCO_2 , em relação ao tempo ou da VCO_2 em relação ao VO_2 . Estes métodos foram os seguintes: 1) método visual; 2) método automático, usando algoritmo, incorporado ao sistema MedGraphics; 3) modelo bissegmentado linear-linear aplicado à resposta da VCO_2 em função do tempo; 4) modelo bissegmentado linear-quadrático aplicado à resposta da VCO_2 em função do tempo; 5) modelo bissegmentado linear-linear aplicado à resposta da VCO_2 em função do consumo de O_2 ; e 6) modelo

bissegmentado linear-quadrático aplicado à resposta da VCO_2 em função do consumo de O_2 . Os modelos bissegmentados se basearam na aplicação da soma dos quadrados dos resíduos, quando o conjunto de dados é ajustado pelo método dos mínimos quadrados, para uma reta inicial e final ou uma reta inicial e uma curva quadrática final. Foram aplicados, aos dados do protocolo descontínuo, nas várias potências estudadas, um modelo semiparamétrico que ajusta uma reta por meio de uma regressão linear. Após análise qualitativa e quantitativa apropriada aos conjuntos de dados, chegou-se às seguintes conclusões: 1) os modelos matemáticos bissegmentados usados no presente estudo, do tipo linear-linear e linear-quadrático, mostrando a resposta das variáveis VCO_2 vs. tempo e VCO_2 vs. VCO_2 , com protocolos contínuos em rampa, puderam ser aplicados em 64% dos voluntários estudados (16 chagásicos e 17 saudáveis), e os valores do limiar de anaerobiose ventilatório, expressos em potência e consumo de oxigênio, não diferiram estatisticamente dos obtidos pelo método visual gráfico, nos grupos de pacientes chagásicos e de indivíduos saudáveis; 2) o método automático, incorporado ao ergoespirômetro MedGraphics, possibilitou a determinação limiar de anaerobiose em todos os voluntários estudados nos grupos chagásico ($n=24$) e saudável ($n=27$); entretanto, com valores do

limiar de anaerobiose ventilatório subestimados comparativamente ao método visual gráfico; 3) não houve diferença estatisticamente significativa entre a comparação dos coeficientes (inclinação e intercepto) das retas de regressão, que relacionam a potência com o consumo de oxigênio dos valores do limiar de anaerobiose ventilatório calculados para os seis métodos usados; 4) as análises das retas de regressão dos modelos semiparamétricos, aplicados no protocolo descontínuo, mostraram porcentagem pequena de casos, em que a mudança de inclinação das retas coincidiu com o valor do limiar de anaerobiose ventilatório, o que ainda torna questionável a utilidade desta abordagem, pelo menos nas condições em que os protocolos progressivos do tipo degrau tenham 6 minutos de duração; 5) Os quatro modelos bissegmentados testados e o método automático do equipamento, aplicados às respostas das variáveis ventilatórias, usando-se o protocolo de rampa, se mostraram adequados, como ferramentas úteis para se quantificar o limiar de anaerobiose ventilatório durante o exercício dinâmico; 6) o janelamento dos dados, durante a aplicação da rampa de potência em esforço, se mostrou de fundamental importância para permitir o uso adequado dos modelos matemáticos bissegmentados e do método automático, visando à quantificação do limiar de anaerobiose ventilatório.

USO DO LASER TERAPÊUTICO PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA MUCOSITE ORAL: ESTUDO COMPARATIVO COM O PROTOCOLO CONVENCIONAL

Vívian Youssef Khouri

Orientador: Prof.Dr. Júlio César Voltarelli,
Dissertação de Mestrado apresentada em 30/5/2007

A mucosite oral é uma complicação freqüente causada pela ação da quimioterapia e radioterapia utilizadas no tratamento oncológico e também, acomete os pacientes submetidos ao transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) devido a utilização de quimioterapia ou radioterapia em altas doses, principalmente na modalidade mieloablativa. Várias terapêuticas foram testadas para prevenir e tratar a mucosite, sendo uma das mais recentes o laser terapêutico (laser de baixa intensidade) que tem como efeitos biológicos analgesia, ação antiinflamatória e reparação tecidual. O objetivo desse trabalho foi comparar a freqüência e a evolução da mucosite oral entre os pacientes submetidos ao laser terapêutico e os submetidos à terapia convencional ("Fórmula para Mucosite") utilizada na Unidade de Transplante de Medula Óssea do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Participaram do presente estudo pacientes que receberam a administração de regime de condicionamento mieloablativo para a realização do transplante de medula óssea alogênico para doenças hematológicas. Os

pacientes participantes apresentavam idade igual ou acima de 12 anos, sendo 17 pacientes do sexo masculino e 5 do sexo feminino (média de idade foi de 30 anos). Foram selecionados 22 pacientes divididos em 2 grupos: grupo I: submetido à laserterapia combinada com o tratamento convencional e grupo II submetido apenas ao tratamento convencional (prevenção: procedimento padrão, tratamento: procedimento padrão + "Fórmula para Mucosite"). Todos os pacientes foram submetidos ao procedimento padrão que corresponde aos cuidados da higiene bucal com orientações quanto a escovação, uso de antissépticos bucais e bochechos com solução salina a 0,9%. O grupo I foi irradiado com o laser de AlGaInP (660 nm) e GaAlAs (780 nm), com potência de 25 mW, na dose de 6,3 J/cm², tempo 10 segundos, os lasers de 660 e 780 nm foram aplicados em dias alternados, desde o início do regime de condicionamento até o D+15 pós-transplante. Foram utilizadas as escalas da World Health Organization (WHO) e a "Oral Mucositis Assesment Scale" (OMAS) para avaliação da mucosite. A WHO avalia os sinais e sintomas da MuO, enquanto a OMAS é uma escala que avalia especificamente o tipo de eritema e a extensão das ulcerações na cavidade bucal. Foi aplicado um questionário específico para o grupo I se houve alguma intolerância ou desconforto cau-

sada pela laserterapia. Os resultados analisados estatisticamente mostraram que no grupo I 25% dos pacientes apresentaram mucosite grau WHO 1, 75% WHO 2, enquanto no grupo II 10% WHO 0, 10% WHO 2, 30% de WHO 2-3 e 50% WHO 3. Com a OMAS, 33,3 % dos pacientes do grupo I não apresentaram lesão e 66,6 % apresentaram lesões de <1cm².

O grupo II evoluiu com lesões mais extensas, com 50% apresentaram lesão >3 cm². Assim, o grupo I apresentou menor frequência e melhor evolução da mucosite quando comparado ao grupo II. Concluiu-se que o laser promoveu a redução na gravidade das lesões, podendo ser uma nova opção de prevenção e tratamento da mucosite oral.

IMPLANTAÇÃO DE UM PROGRAMA DE CONSERVAÇÃO AUDITIVA: ENFOQUE FONOAUDIOLÓGICO

Ana Lúcia Rios

Orientadora: Prof.Dra. Geruza Alves da Silva

Tese de Doutorado apresentada em 31/05/2007

A tecnologia e a modernidade proporcionam, em alguns casos, a ocorrência de doenças ocupacionais e conseqüentemente a queda na qualidade de vida da classe trabalhadora causada, muitas vezes, pelo aumento dos níveis de ruído nas indústrias. Com isso a Perda Auditiva Induzida por Ruído (PAIR) tem ocupado lugar de destaque entre as doenças ocupacionais. A implantação de um Programa de Conservação Auditiva (PCA) é necessária em locais de trabalho onde os níveis de exposição ao ruído estejam acima dos limites de tolerância. O objetivo do estudo foi propor para a direção de uma empresa a implantação de um Programa de Conservação Auditiva na Divisão de Nutrição e Dietética (DND), área que apresenta nível de pressão sonora elevado, verificando a eficácia do trabalho dos profissionais atualmente envolvidos e enfocando o papel do fonoaudiólogo. Foram analisadas as avaliações auditivas contidas nos prontuários médicos de todos os funcionários da DND realizadas durante o período de dezembro de 2004 (ano base) a março de 2006. Por meio de um questionário, os dados pessoais e referentes à história clínica e ocupacional dos trabalhadores foram colhidos. Paralelamente

aos procedimentos já citados, foram realizadas palestras e/ou mini-cursos aos funcionários da Divisão sobre os cuidados com a audição, a necessidade e importância do uso do equipamento de proteção individual, a importância da realização dos exames auditivos, além de esclarecimentos relativos às portarias e normas de saúde ocupacional. Participaram do estudo 174 funcionários da DND com idade variando de 23 a 61 anos (média de 43 anos) e predomínio do gênero feminino (93,68%). No ambiente de produção da DND o ruído variou entre menos de 60dB(A) a 88,7dB(A) e as áreas mais ruidosas respectivamente são: Seção de Preparo e Cocção, Seção de Cozinha e Dietética, Lavagem e Esterilização e Restaurante I. A maioria dos funcionários faz uso do protetor auricular com frequência e participam das capacitações que a empresa proporciona, porém em 2004, 35,29% apresentaram algum tipo da alteração na acuidade auditiva, sendo que, na sua maioria, a configuração audiométrica é sugestiva de PAIR e quando os exames de 2004 foram comparados com os de 2005, o agravamento da perda auditiva foi de 32%, demonstrando que as medidas de prevenção adotadas estão pouco eficazes. Com esses dados concluímos que a implantação de um programa de conservação auditiva com ações sincronizadas entre os que realizam as atividades preventivas, na empresa se faz urgente.

ESTUDO PARA REDUÇÃO DE DOSE DE RADIAÇÃO EM EXAMES DE TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA DE CRIANÇAS

Juciléia Dalmazo

Orientador: Prof.Dr Jorge Elias Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 31/05/07

Este trabalho tem o objetivo de apresentar estudo sobre mecanismos de redução de dose de radiação utilizada nos vários exames de Tomografia Computadorizada (TC) de crianças, realizados nos equipamentos do Serviço de Radiodiagnóstico do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. Na etapa inicial foi realizada uma coleta de dados relativos à dose de radiação

utilizada em exames de TC de crânio, de tórax e de abdômen com os protocolos habitualmente utilizados na rotina. Para cada tipo de exame foi avaliada a técnica utilizada. Verificou-se que o protocolo de exame utilizado na rotina do serviço não considerava variações na faixa etária dos pacientes. Na segunda etapa do estudo analisou-se qual o impacto da variação de parâmetros técnicos no protocolo da TC, em específico do KVp e do mAs, na dose de radiação, procurando manter o nível de qualidade de imagem para o estudo diagnóstico. Foram testadas novas técnicas, com menor índice de dose em relação às doses encontradas nos protocolos de rotina estudando-se o nível de ruído

aceitável. Na terceira e última etapa as imagens geradas com os novos parâmetros de KVp e mAs foram analisados pelos radiologistas do HCFMRP, em revisão cega e independente, utilizando-se questionário para avaliação das

imagens quanto a resolução espacial e contraste. Concluímos que é possível reduzir os níveis de dose de radiação em até 34,4 % sobre os protocolos utilizados na rotina, mantendo-se a qualidade diagnóstica.

PADRONIZAÇÃO E FORMULAÇÃO DO CUSTO DA PCR-RFLP PARA O DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR EM PAPEL DE FILTRO

Stella Felipe de Freitas

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Ferreira Roselino
Dissertação de Mestrado apresentada em 31/05/2007

A leishmaniose tegumentar Americana (LTA), nas formas cutânea ou mucosa, é endêmica no Brasil. Nos últimos anos, o Ministério da Saúde registrou média de 35.000 casos novos de LTA em praticamente todos os estados do país, sendo crescente a cada ano. Na região nordeste do estado de São Paulo, incluindo Ribeirão Preto, a LTA é autóctone. Na tentativa de um diagnóstico precoce e seguro da doença associaram-se ao exame clínico-epidemiológico exames subsidiários, como a *Polymerase Chain Reaction* (PCR) e *PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP), que permitem a identificação da espécie de *Leishmania* presente na amostra. Identificamos no laboratório de biologia molecular (LBM), por PCR, as espécies *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) amazonensis* em amostras de pele ou de mucosa de pacientes com LTA. Dessa forma, os objetivos principais deste estudo foram: (1) padronizar a técnica de PCR-RFLP para a identificação da espécie de *Leishmania* em amostras de pele ou de mucosa, coletadas em papel de filtro na forma de *imprint*, e (2) calcular o custo individual deste exame laboratorial. A população de estudo contou com 67 amostras de pacientes atendidos no HC-FMRP-USP, 28 amostras de pacientes atendidos no Hospital Universitário de Brasília-DF e 2 amostras da UNIFESP, totalizando 97 amostras. Das 65 amostras na forma de *imprint* de pacientes com diagnóstico clínico de LTA atendidos no HC-FMRP-USP, no Hospital Universitário de Brasília-DF e na UNIFESP, 54 (83%) amostras foram positivas na PCR. A partir do resultado da identificação por PCR-RFLP, com as enzimas Hae III e Bsr I, das 54 amostras na forma de *imprint* pudemos demonstrar que 39 (70,9%) foram de *L. (V.) braziliensis*; 4 (7,3%) foram identificadas como *L. (L.) amazonensis*. Das 97 amostras na forma de

imprint 32 foram coletadas de pacientes com diagnóstico ou suspeita clínica de outras doenças de pele clinicamente semelhantes à LTA, atendidos no HC-FMRP/USP, e 34 amostras de pacientes com diagnóstico clínico de leishmaniose atendidos no HC-FMRP/USP, foram coletadas nas formas de *imprint* e biópsia. Destes pacientes, 18 apresentaram PCR negativa para leishmaniose e 14 amostras cujos diagnósticos clínicos foram: Bazin, hanseníase, paracoccidiose, ectima, úlcera indefinida, farmacodermia e histoplasmose, apresentaram PCR-RFLP positiva todas identificadas como *L. (V.) braziliensis*. Ressalta-se a facilidade no envio e conservação de amostras na forma de *imprint*, destacando sua utilidade em pesquisas de campo e localidades distantes de um centro especializado. Para o cálculo do custo da PCR-RFLP como método diagnóstico para LTA realizou-se pesquisa de preços (em moeda corrente) de equipamentos, materiais de consumo e materiais permanentes. Ainda deve-se levar em consideração os custos diretos e indiretos, fixos e variáveis, e gastos com mão-de-obra, que influenciam diretamente o custo final do procedimento laboratorial. Quanto ao custo do exame pôde-se demonstrar que existe a possibilidade de que um laboratório de rotina de médio porte, equipado com materiais, instalações e equipamentos básicos, possa realizar o referido teste molecular, ficando este calculado em US\$ 22,97. Este valor de exame desde a eluição da amostra na forma de *imprint* em papel de filtro em água a 90°C para a obtenção do DNA, até a identificação após a PCR-RFLP com o uso das duas endonucleases: Hae III e Bsr I. O tempo médio de realização e conclusão da identificação do agente etiológico ficou em torno de dois dias considerando-se oito horas diárias de trabalho de mão-de-obra especializada. Finalmente, demonstrou-se a viabilidade da realização de um teste molecular na rotina laboratorial, sendo este de grande valia na rápida e específica identificação da espécie de *Leishmania* envolvida nesta zoonose de importância epidemiológica.

IDENTIFICAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO MULTIPOTENCIAIS NO TECIDO PERITONIAL DE CAMUNDONGOS NOD/scid

Elaine Cristina Pereira Vitorelli

Orientadora: Profa. Dra. Aparecida Maria Fontes
Dissertação de Mestrado apresentada em 01/06/2007

As células-tronco mesenquimais (CTMs) foram inicialmente descritas na medula óssea de adultos e caracterizadas pela baixa frequência, aspecto fibroblastóide, ade-

rência à superfícies plásticas, potencial de diferenciação em diversos tecidos de origem mesodérmica, capacidade de sustentar a hematopoese e baixa imunogenicidade. Atualmente, essas células têm sido isoladas de um grande número de tecidos adultos e fetais em diferentes espécies. O nosso grupo tem isolado e identificado CTMs de tecidos humanos, fetais e adultos, e mostrado suas similaridades com fibroblastos e pericitos (Covas, com. pessoal). O tecido peritonal apresenta capacidade de reconstituição mediante diferentes episódios de peritonites, entretanto, o mecanismo desse processo não é conhecido e a biologia da membrana peritonal não está completamente caracterizada. O objetivo desse trabalho consistiu em investigar a possível existência de células-tronco multipotenciais, com características similares às CTMs da medula óssea, no tecido peritonal visceral de camundongos NOD/scid. Para tanto, foram isoladas as células da medula óssea e do tecido peritonal de camundongos NOD/scid e colocadas em cultivo para expansão, caracterização morfológica, fenotípica e, quanto ao seu potencial de diferenciação em adipócitos, osteócitos e condrócitos. A medula óssea foi coletada do canal medular das tíbias e fêmures dos camundongos e, o aspirado celular total, foi ressuspensão em meio α -MEM suplementado com 15% SBF. A membrana peritonal foi submetida à digestão com colagenase e, o extrato celular, colocado em cultivo sob as mesmas condições que as células da medula óssea. Para o isolamento das CTMs de ambos

os tecidos, utilizou-se o protocolo clássico de aderência ao plástico. Durante a expansão celular foram observadas células com morfologia *fibroblastóide*, similares às CTMs da medula óssea. Após a terceira passagem celular, foi realizada a caracterização fenotípica e funcional das mesmas. A análise fenotípica mostrou um padrão de expressão de moléculas de superfície similares às CTMs da MO e à linhagem celular controle M2-10B4, isto é, foram positivas para Sca-1, CD29 e CD44, e negativas para os marcadores hematopoéticos (CD34 e CD117) e endoteliais (CD31). No que diz respeito ao aspecto funcional, os estudos de adipogênese e osteogênese demonstraram, em ambos os tecidos, a indução da expressão dos genes Adipsina e Osteopontina por RT-PCR. Análises citoquímicas mostraram a presença de gotículas lipídicas após a coloração por Sudan II/Scarlat e de nódulos mineralizados após a coloração por von Kossa, confirmando o potencial de diferenciação em adipócitos e osteócitos. Finalmente, o potencial condrogênico foi confirmado, uma vez que a imuno-reatividade positiva para colágeno tipo II foi detectada. Em conclusão, os presentes achados demonstram a ocorrência de células-tronco multipotentes no tecido peritonal, com morfologia, perfil fenotípico e potencial de diferenciação similares às CTMs da MO. Futuros estudos de análise de expressão gênica em CTMs da MO e do tecido peritonal, permitirão a compreensão mais detalhada das similaridades e diferenças entre esses tipos celulares distintos.

REDES NEURAIS AUTO-ORGANIZÁVEIS NA CARACTERIZAÇÃO DE LESÕES INTERSTICIAIS DE PULMÃO EM RADIOGRAFIA DE TÓRAX

Paulo Eduardo Ambrósio

Orientador: Prof. Dr. Clóvis Simão Trad

Tese de Doutorado apresentada em 01/06/2007

O desenvolvimento tecnológico proporciona uma melhoria na qualidade de vida devido à facilidade, rapidez e flexibilidade no acesso à informação. Na área biomédica, a tecnologia é reconhecidamente uma importante aliada, permitindo o rápido desenvolvimento de métodos e técnicas que auxiliam o profissional na atenção à saúde. Recentes avanços na análise computadorizada de imagens médicas contribuem para o diagnóstico precoce de uma série de doenças. Nesse trabalho é apresentada uma metodologia para o desenvolvimento de um sistema computacional para caracterização de padrões em imagens pulmonares, baseado em técnicas de redes neurais artificiais. No estudo, buscou-se verificar a utilização de redes neurais auto-

organizáveis como ferramenta de extração de atributos e redução de dimensionalidade de imagens radiográficas de tórax, objetivando a caracterização de lesões intersticiais de pulmão. Para a redução de dimensionalidade e extração de atributos, implementou-se um algoritmo baseado nos mapas auto-organizáveis (SOM), com algumas variações, obtendo-se uma redução dos cerca de 3 milhões de *pixels* que compõe uma imagem, para 240 elementos. Para a classificação dos padrões, utilizou-se uma rede *Perceptron* multi-camadas (MLP), treinada com a metodologia *leave-one-out*. Com uma base contendo 79 exemplos de padrão linear, 37 exemplos de padrão nodular, 30 exemplos de padrão misto, e 72 exemplos de padrão normal, o classificador obteve a média de 89,5% de acerto, sendo 100% de classificação correta para o padrão linear, 67,5% para o padrão nodular, 63,3% para o padrão misto, e 100% para o padrão normal. Os resultados obtidos comprovam a validade da metodologia.

COMPARAÇÃO DO PERFIL GENÉTICO DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO 1 EM COMPARTIMENTO SANGUÍNEO E LIQUÓRICO DE PACIENTES COM AFECÇÕES NEUROLÓGICAS

Audrey Janaína Pinto

Orientadora: Profa. Dra. Alcyone Artioli Machado,
Tese de Doutorado apresentada em 04/06/2007

O Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (HIV-1) frequentemente invade o sistema nervoso central (SNC) durante a infecção primária, e eventualmente resulta em distúrbios neurológicos em mais de 50% dos pacientes sem tratamento. A casuística deste estudo foi de 31 pacientes com afecções neurológicas, 11 pacientes com toxoplasmose cerebral, 11 com meningite criptocócica e nove com aids demência (ADC), com níveis de RNA do HIV-1 medidos no líquido cefalorraquidiano (LCR) e no plasma. Assim, o objetivo deste estudo foi comparar a região do gene envelope (*env*) do vírus no compartimento plasmático e líquórico. Métodos: fragmentos do gene *env* do HIV-1 foram amplificados pela reação em cadeia pela polimerase (PCR) e nested PCR de plasma e de LCR. Os produtos de PCR foram diretamente seqüenciados pelo seqüenciador

3.1 *ABI Analysis Data Collection*. Foi utilizado o programa MEGA 3.1 para o alinhamento das seqüências, onde as seqüências de aminoácidos da região do *env* nas amostras de LCR e de plasma foram comparadas intra-pacientes. Procedeu-se a análise do uso do co-receptor feita pela posição 306 e 320 da alça do V3. Pela análise filogenética das seqüências obtiveram-se os subtipos. **Resultados:** todas as amostras amplificadas (41) foram do subtipo B. Tiveram-se 17 pacientes que possuíam seqüências de plasma e de LCR amplificadas, então, na análise intra-paciente 13 destes 17, possuíam vírus R5 que utilizaram o co-receptor CCR5, e dois pacientes apresentaram vírus X4 e dois pacientes apresentaram vírus diferentes nos compartimentos, X4 e R5. A compartimentalização entre LCR e plasma ocorreu em 4 de 17 indivíduos (23,53%) e em 13 de 17 indivíduos (76,47%) possuíam seqüências idênticas nos dois compartimentos. **Conclusão:** Identificaram-se mudanças idênticas no LCR e no plasma, nas seqüências do HIV-1 na região do *env*, especificamente na alça V3 principalmente no motivo central.

ANTICORPOS LINFOCITOTÓXICOS NO LÚPUS ERITEMATOSO SISTÊMICO ESTÃO ASSOCIADOS COM ATIVIDADE DA DOENÇA INDEPENDENTEMENTE DA PRESENÇA DE MANIFESTAÇÕES NEUROPSIQUIÁTRICAS

Marcela Barros Magalhães Figueiredo

Orientador: Prof.Dr. Paulo Louzada Júnior
Tese de Doutorado apresentada em 04/06/2007

Objetivos: Avaliar a presença de anticorpos linfocitotóxicos em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES), apresentando ou não manifestações neuropsiquiátricas, estratificados de acordo com a atividade da doença. Associar a presença de anticorpos linfocitotóxicos com a contagem de linfócitos no sangue periférico, a presença de anticorpos anti-DNA nativo e os níveis de complemento. Associar a presença de anticorpos linfocitotóxicos com a ocorrência de anticorpos anti- β 2 glicoproteína I e anti-P ribossomal. **Pacientes e Métodos:** Um total de 138 pacientes com LES, 59 com manifestações neuropsiquiátricas ativas (LES ativo NP), 49 com LES não neuropsiquiátrico ativo (LES ativo não NP) e 30 com a doença inativa, e 57 controles saudáveis foram estudados. A atividade da doença foi avaliada através do “*Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*” (SLEDAI). A presença dos anticorpos linfocitotóxicos foi pesquisada com a utilização de um ensaio de microlinfocitotoxicidade dependente de complemento (método do auto crossmatch). A detecção dos anticorpos anti-DNA nativo foi feita através de ensaio com *Crithidia luciliae*. A detecção dos níveis de complemento

foi feita através de nefelometria. A presença dos anticorpos anti- β 2 glicoproteína I e anti-P ribossomal foi detectada por ELISA. **Resultados:** Os anticorpos linfocitotóxicos foram detectados principalmente em pacientes com a doença ativa, ou seja, em 35 de 59 pacientes (59.3%) com LES ativo NP e em 23 de 49 pacientes (46.9%) com LES ativo não NP, enquanto apenas 4 de 30 pacientes (13.3%) com LES inativo e nenhum dos controles saudáveis apresentaram estes auto-anticorpos. A freqüência de anticorpos linfocitotóxicos em pacientes com LES ativo, considerados como um todo ou estratificados em LES ativo NP e LES ativo não NP foi significativamente aumentada em relação aos pacientes com LES inativo ($p < 0,0001$ para cada comparação). Nenhuma diferença significativa foi observada quando comparados os pacientes com LES ativo NP e com LES ativo não NP. Não houve estatisticamente significativa entre os três grupos, em relação à linfopenia. No grupo com LES ativo não NP, a linfopenia ocorreu de forma mais proeminente ($p=0,026$) nos pacientes com auto crossmatch positivo do que nos pacientes com auto crossmatch negativo. Nos 2 grupos com doença ativa, encontramos uma freqüência de anticorpos linfocitotóxicos superior à ocorrência dos anticorpos anti-DNA nativo e/ou de complemento baixo. Nenhuma associação foi observada entre a presença dos anticorpos anti- β 2 glicoproteína I ou anti-P ribossomal e a atividade do LES ou a presença de anticorpos linfocitotóxi-

cos. **Conclusões:** Os anticorpos linfocitotóxicos ocorreram mais freqüentemente em pacientes com LES Iativo do que em pacientes com a doença inativa, independentemente da presença de manifestações neuropsiquiátricas, um achado que é semelhante ao dos marcadores biológicos clássicos de atividade do lúpus (anti-DNA nativo e complemento).

Nós não encontramos qualquer associação entre a presença dos anticorpos linfocitotóxicos e a presença de anticorpos anti- β 2 glicoproteína I ou anti-P ribossomal. Estes resultados indicam que a pesquisa da presença dos anticorpos linfocitotóxicos pode ser uma ferramenta adicional útil para a avaliação da atividade do LES.

CARACTERIZAÇÃO DO PADRÃO VENTILATÓRIO DURANTE O SONO DE PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA

Carolina Farinelli Marçal Lima

Orientadora: Profa. Dra. Geruza Alves da Silva

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/06/2007

Objetivos: Investigar precursores de dessaturação do sono; explorar o comportamento dos índices gasométricos e espirométricos nas posições, sentada e deitada durante a vigília; e estudar as características do sono e o comportamento da dessaturação noturna em indivíduos com DPOC. **Metodologia:** Foram formados dois grupos com 11 participantes cada. O grupo de estudo foi composto por pacientes com DPOC e o grupo controle, por indivíduos saudáveis. Em cada participante realizaram-se o exame de gasometria arterial primeiramente e em seguida a espirometria, ambos nas posições sentada e deitada, respectivamente. Depois de duas semanas a estes procedimentos, foi feita a polissonografia. **Resultados:** Na análise gasométrica, não houve diferença estatisticamente significativa quando as duas posições foram comparadas em ambos os grupos. Houve diferença estatística entre os grupos DPOC e controle, mostrando que o segundo grupo estudado está dentro dos critérios normais. Na espirometria, a comparação entre as posições mostrou diferença estatística significativa para a posição sentada, onde os valores das variáveis CV ($p=0,008$), VRE ($p=0,005$) e VEF1 ($p=0,001$) foram maiores no grupo DPOC. O VR ($p=0,022$) também apresentou diferença estatisticamente significativa, porém seus valores foram maiores na posição deitada. O grupo controle apresentou diferença estatística para CV ($p=0,033$), VRE ($p < 0,001$), CRF ($p=0,03$) e FEF25-75% ($p=0,004$) onde to-

das estas evidenciaram valores médios maiores para a posição sentada. A análise sobre a qualidade do sono não teve diferença estatisticamente significativa para nenhum de seus índices, porém foi observado que o número de despertares teve média maior para o grupo controle em relação ao DPOC. A porcentagem do tempo de ronco também teve média maior, porém para grupo DPOC quando comparado com o controle. A comparação feita entre os dois grupos para a quantidade do sono, evidenciou que o DPOC tem maior quantidade de $E3+4$ e que a sua diferença é estatisticamente significativa. O estudo da respiração durante o sono mostrou diferença significativa para as duas variáveis estudadas: O IDR ($p = 0,022$) foi significativo e menor para o grupo DPOC e a porcentagem do tempo em que a saturação esteve menor que 90% ($p = 0,028$) foi menor e estatisticamente significativa para o grupo controle. O índice de correlação de Pearson foi positivo e significativo entre a diferença dos valores médios das duas posições estudadas do VEF1 e entre o T.%SatO₂ < 90% ($r = 0,677$ e $p = 0,031$). A diferença das médias nas posições sentada e deitada do VRE também correlacionou positivamente com $E3+4$ ($r = 0,813$ e $p = 0,004$) e com o TTS ($r = 0,625$ e $p = 0,053$). **Conclusões:** Pacientes DPOC dessaturam à noite e o tempo de dessaturação não tem correlação com a PaO₂ na vigília; a alteração postural do VEF1 correlacionou com o tempo de dessaturação noturna; O VR aumenta na posição deitada, acompanhado de queda do VRE e manutenção da CRF; o VRE apresenta correlação positiva com a quantidade de sono profundo nos pacientes com DPOC.

ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE ISQUEMIA MIOCÁRDICA MICROVASCULAR E PROGRESSÃO DA DISFUNÇÃO VENTRICULAR EM PACIENTES COM CARDIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA

Flávio Cantarelli Hiss

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinícius Simões

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/06/2007

O presente estudo objetivou estudar a participação da isquemia miocárdica microvascular na progressão da disfunção segmentar/global do ventrículo esquerdo na car-

diomiopatia chagásica crônica. Foram investigados 38 portadores de cardiomiopatia chagásica crônica, com coronárias normais, de forma retrospectiva longitudinal em dois momentos diferentes com intervalo médio de $5,6 \pm 1,5$ anos, sendo a idade média inicial de 57 ± 10 anos e tardia de 62 ± 10 anos. Os pacientes foram submetidos a estudos de cintilografia miocárdica de perfusão e ecocardiograma bidimen-

sional (ECO) nos dois momentos do estudo. Por meio da cintilografia miocárdica de perfusão foi possível estimar a presença de isquemia e fibrose, bem como, suas topografias, extensões e gravidade. O ECO permitiu a avaliação da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) e o índice de mobilidade parietal segmentar. Os testes estatísticos utilizados para amostras paramétricas foram teste t pareado e correlação de Pearson e para amostras não-paramétricas teste de Wilcoxon e correlação de Spearman, além de teste exato de Fischer. A cintilografia miocárdica de perfusão evidenciou a presença de isquemia através de defeitos perfusionais reversíveis, sendo esta detectada, na avaliação inicial (AI), em 22 (73,9%) pacientes, os quais apresentavam 54 segmentos envolvidos dos 646 analisados e extensão/gravidade, calculada pelo índice do defeito, de $3,4 \pm 3,4\%$. Já na avaliação tardia (AT) houve envolvimento de 12 pacientes com 20 segmentos acometidos e extensão/gravidade de $-0,2 \pm 4,1\%$, evidenciando diminuição significativa da isquemia ao longo do estudo ($p=0,0069$). Por outro lado, a fibrose regional miocárdica foi analisada através dos defeitos perfusionais em repouso na cintilo-

grafia miocárdica de perfusão, evidenciando inicialmente extensão/gravidade da fibrose de $5,6 \pm 5,3\%$ e tardiamente $9,6 \pm 8,5\%$ e observando-se, portanto, um significativo aumento da fibrose ($p=0,0006$). Além disso, a análise topográfica, baseada em segmentos, da isquemia miocárdica na AI correlacionou-se com o aumento da fibrose regional na AT, sendo que dos 54 segmentos acometidos por isquemia, 36 evoluíram para fibrose ($p<0,0001$). Já a função sistólica global do ventrículo esquerdo estimada pela FEVE ao ECO apresentou queda significativa entre as avaliações inicial ($55 \pm 10,6\%$) e tardia ($49,8 \pm 12,9\%$) ($p=0,0001$). Adicionalmente, o desenvolvimento de fibrose regional miocárdica correlacionou-se com a deterioração da FEVE durante o período de observação ($r=0,3337$, $p=0,0406$). Assim, podemos concluir que a isquemia miocárdica microvascular se correlaciona topograficamente com o desenvolvimento da fibrose regional miocárdica, bem como, esta aumenta em extensão e gravidade ao longo do tempo, independentemente do estágio da cardiomiopatia chagásica crônica, e correlaciona-se com a progressão da disfunção ventricular sistólica.

A ENTROPIA APROXIMADA COMO FERRAMENTA METODOLÓGICA NO ESTUDO DA VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA EM PACIENTES COM HIPERTENSÃO ARTERIAL PRIMÁRIA E DOENÇA DE CHAGAS

Kátia Cristiane Nakazato

Orientador: Prof. Dr. Lourenço Gallo Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/06/2007

Sabe-se que o coração é um órgão que encontra-se sob a influência do sistema nervoso autônomo para manter a homeostase do organismo, e a esse respeito, uma das suas principais características é a modificação contínua da sua frequência batimento a batimento. Portanto, poderíamos enfatizar que a frequência cardíaca é uma variável que pode ser mensurada de maneira não-invasiva, e com equipamentos simples e de baixo custo. Atualmente, com o advento da computação digital, tem sido possível estudar a variabilidade da frequência cardíaca, batimento a batimento (VFC), a partir da medida dos intervalos R-R do eletrocardiograma convencional. Este método tem se mostrado clinicamente útil para se avaliar a regulação dos sistemas simpático e parassimpático, em muitas condições fisiológicas e patológicas. Ressalte-se, que a VFC tem se mostrado uma ferramenta mais sensível para caracterizar o balanço autonômico do que a frequência cardíaca (FC). Existem métodos bem conhecidos de quantificação das medidas de variabilidade da frequência cardíaca nos domínios do tempo e da frequência. Ambas as medidas têm sido úteis para certos propósitos médicos. Entretanto, a aplicação destes métodos pressupõe que os sistemas a serem analisados sejam lineares e de estado estacionário; condições que raramente

estão presentes nos sistemas biológicos. A entropia aproximada (EnAp) da variabilidade da frequência cardíaca tem se mostrado um método sensível para caracterizar as medidas da dinâmica não-linear (NLD). Para se quantificar a VFC por meio da EnAp foram estudados pacientes chagásicos e portadores de hipertensão (com pequenos graus de acometimento cardíaco), comparados a indivíduos saudáveis: 13 indivíduos saudáveis com idade de 38 ± 9 anos (média \pm desvio padrão); 22 pacientes com doença de Chagas com idade de $51 \text{ anos} \pm 9$ anos; e 22 pacientes com hipertensão arterial primária com idade de 42 ± 7 anos. Os pacientes foram estudados na ausência de medicações. Nós comparamos a EnAp e os parâmetros lineares (domínios do tempo e frequência) em series temporais de intervalos R-R (de 15 minutos) em condições de repouso, antes e depois da transição da posição horizontal para vertical (70°), ocorrida após a realização da manobra de mudança postural passiva (tilt-test). Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada nas diferentes posições, tanto na comparação intra-grupo quanto na inter-grupo. Entretanto, comparando-se a VFC nas mudanças posturais, através de métodos não-lineares e lineares, somente a EnAp foi capaz de detectar uma diminuição na resposta da VFC no grupo chagásico. A EnAp comparada a métodos lineares de análise da VFC mostrou uma maior sensibilidade para detectar diferentes graus de disfunção neural, como a que ocorreu no grupo de pacientes chagásicos incluídos neste estudo.

ESTUDO DA RESERVA CONTRÁTIL MIOCÁRDICA AVALIADA POR VENTRICULOGRAFIA RADIOISOTÓPICA COM DOBUTAMINA NA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA NÃO ISQUÊMICA ANTES E APÓS O BLOQUEIO BETA-ADRENÉRGICO CRÔNICO

Bruno Ganem Siqueira

Orientador: Prof.Dr. José Antônio Marin-Neto

Tese de Doutorado apresentada em 06/06/2007

Introdução: Não existem estudos avaliando o comportamento da reserva contrátil miocárdica (RCM) antes e após uso de 2-bloqueador (BB) e sua correlação com capacidade de esforço (CE), perfusão miocárdica e qualidade de vida (QV) em miocardiopatas não isquêmicos chagásicos (C) e não chagásicos (NC), permitindo o melhor entendimento dos benefícios do uso de BBs sobre a função ventricular e aspectos fisiopatológicos e etiológicos que porventura estejam envolvidos nesta interação. **Objetivos:** a) avaliar a presença e intensidade de RCM sob estímulo com dobutamina (DB) antes e após o uso de BBs; b) verificar a presença e intensidade de alterações perfusionais miocárdicas em repouso e transitórias e suas correlações com a RCM; c) identificar preditores de melhor resposta de função ventricular esquerda em repouso com uso de BB; d) verificar a correlação da RCM com CE e QV; e) comparar intensidade e extensão dos defeitos perfusionais miocárdicos em repouso e transitórios antes e após BBs; f) comparar em grupos de pacientes C e NC, antes e após BBs, os valores de RCM, a intensidade e extensão dos defeitos perfusionais miocárdicos, QV e CE. **Métodos:** Estudados prospectivamente 30 pacientes portadores de IC crônica não isquêmica (sem obstrução coronariana epicárdica significativa), C=13 e NC=17, ambos os gêneros (20 homens), idade = 53,6±10,7 anos, fração de ejeção do ventrículo esquerdo em repouso (FEVer) = 28,4±7,1%, clinicamente estáveis sob uso otimizado de medicamentos para IC à exceção de BBs. Os pacientes foram submetidos às seguintes avaliações antes e após BB: avaliação clínico-laboratorial, ventriculografia nuclear (VN) em repouso e sob estímulo com dobutamina nas doses de 5, 10, 20, 30 e 40: g/kg/min (avaliação de RCM(FEVE) = FEVE sob dobutamina – FEVE em repouso), cintilografia de perfusão miocárdica (avaliação do índice de gravidade perfusional em repouso – IGPr; diferença do IGP sob estresse e repouso – IGP(e-r); volumes ventriculares diastólico (VDFVE) e sistólico (VSFVE) finais do VE), teste cardiopulmonar em cicloergômetro (avaliação do consumo máximo de oxigênio - VO₂ max), teste de caminhada de 6 minutos (avaliação da distância percorrida no TC6min – dTC6min) e questionário de qualidade de vida de Minnesota (avaliação da escore de QV - EQV). O BB foi suspenso escalonadamente ao longo de 7 dias antes da realização da segunda VN com dobutamina. **Resultados:** A RCM(FEVE) decresceu em média de aproximadamente 25%

entre as fases pré- e pós-BB (28,3±19,2 vs 21,2±15,5), embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa (p=0,15). Na fase pré-BB, o pico de RCM(FEVE) ocorreu com 20: g/kg/min de dobutamina, enquanto, na fase pós-BB, ocorreu com 10: g/kg/min. Não se observou diferença estatisticamente significativa no IGPr (16,3±9,2 vs 17,6±9,2, p=0,25) e IGP(e-r) (-0,36±5,4 vs -0,1±4,1, p=0,82) pré- e pós-BB. Dos parâmetros avaliados (frequência cardíaca em repouso, FEVer, VO₂ max, dTC6min, etiologia chagásica, classe funcional da NYHA, VDFVE, VSFVE, IGPr, IGP(e-r) e EQV), a RCM(FEVE)(%) foi o único preditor de melhora de função sistólica ventricular esquerda com o uso de BB (5,6±4,5 vs 11,1±5,5, p=0,01). Observou-se correlação significativa entre RCM(FEVE) vs FEVer (r=0,43, p=0,01). O IGPr apresentou associação negativa significativa com FEVer (r=-0,39, p=0,02) e RCR(FEVE) (r=-0,48, p=0,007). Não houve correlação da IGP(e-r) com a FEVer (r=-0,04, p=0,82) e nem com a RCM(FEVE)max (r=0,02, p=0,89). Não se obteve correlação entre VO₂ máximo e FEVer (r=0,16, p=0,45). Entretanto, observou-se correlação positiva estatisticamente significativa entre VO₂max e RCM (FEVE) max (r=0,43, p=0,03). Observou-se correlação significativa entre EQV e RCM(FEVE)max (r=-0,57, p=0,005). Antes do BB, os pacientes chagásicos e não chagásicos apresentaram valores semelhantes de FEVer(%) (27,7±6,7 vs 29,0±7,6, p=0,61) e de RCM(FEVE)(%) (8,7±5,9 vs 11,5±6,8, p=0,32). Contudo, os primeiros apresentaram menor RCM(FEVE)(%) (3,6±6,3 vs 12,6±5,2, p=0,001) após o uso crônico desta medicação, comparativamente aos segundos. **Conclusões:** a) No grupo de miocardiopatas não isquêmicos como um todo, a magnitude de RCM não se modificou significativamente com uso crônico de BB. Contudo, o pico de RCM foi atingido mais precocemente (com menor dose de dobutamina) após BB; b) A RCM manteve correlação positiva com a FEVer, VO₂ max e escore de QV, e correlacionou-se negativamente com a gravidade e extensão das anormalidades de perfusão miocárdica em repouso (interpretadas como fibrose regional miocárdica); c) A RCM não apresentou correlação significativa com a extensão e a gravidade de anormalidades de perfusão miocárdica transitórias; d) A RCM foi preditora de melhora da FEVer com o uso crônico de BB em miocardiopatas não-isquêmicos; e) Não houve alteração na intensidade e extensão dos defeitos perfusionais miocárdicos em repouso e transitórios antes e após o uso crônico de BB; f) Miocardiopatas chagásicos apresentam menor magnitude de RCM após uso de BB que miocardiopatas não-chagásicos para o mesmo grau de disfunção sistólica ventricular esquerda em repouso.

AValiação da Toxicidade Local e Sistêmica Após Utilização do Polímero de Mamona para o Preenchimento de Defeitos Ósseos

Elaine Cristina de Freitas Leonel

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Albuquerque de Paula
Tese de Doutorado apresentada em 06/06/2007

Devido à importância da descoberta de novos biomateriais que possam auxiliar no fenômeno da cicatrização dos diversos defeitos que possam acometer aos tecidos ósseos, realizou-se a avaliação sobre a toxicidade local e sistêmica após a utilização do polímero de mamona como material de preenchimento de defeitos ósseos criados na tíbia de ratos. Para este propósito, empregou-se 60 animais, que foram divididos em cinco subgrupos, de acordo com o período de observação determinados, que foram 07, 15, 30, 60, 120 e 240 dias. Além disto, utilizou-se de outros 20 animais, que foram divididos em grupos de 30 e 60 dias de observação para a avaliação das características mecânicas do tecido neoformado. Em ambos os estudos, realizou-se a criação de defeitos ósseos em ambas as tíbias destes animais, atingindo inclusive a região da cartilagem de crescimento. A seguir, grânulos do polímero de mamona foram inseridos em meio aos defeitos ósseos criados nas tíbias do lado esquerdo, originando então o grupo experimental, enquanto o grupo controle foi formado pelas tíbias do lado direito dos animais que não nenhum tipo de material de preenchimento. Decorridos os períodos de observação de-

terminadas, os animais foram eutanasiados para a remoção de ambas as tíbias e fragmentos do fígado, rins, músculo esquelético e nervo periférico, sendo que a seguir prosseguiram-se as tramitações laboratoriais de rotina para análise histológica. Além disto, antes do sacrifício dos animais, foram removidas amostras do sangue dos mesmos, para avaliação bioquímica-enzimática de parâmetros (AST, ALT, ALP, LDH, CK, CREA, BUN e Ca) associados a verificação da manutenção de processos fisiológicos dos diversos órgãos e sistemas. Os resultados mostraram que o polímero de mamona apresentou-se como um material atóxico, não causando alterações dos parâmetros bioquímico-enzimáticos avaliados, assim como dos fragmentos tecidos removidos que não mostraram alterações nas características morfológicas dos mesmos. Sinais de reação inflamatória ou de corpo estranho não foram evidenciados em nenhum dos períodos analisados. Encontrou-se também que o polímero de mamona auxiliou no processo cicatricial, atuando como um osteocondutor. Além disto, ficou claro que o polímero de mamona estava sendo lentamente reabsorvido e substituído por tecido ósseo maduro. Desta forma, concluiu-se que o polímero de mamona mostrou-se como um material atóxico, biocompatível e que promoveu a neoformação óssea em meio a defeitos criados experimentalmente na tíbia de ratos.

ANÁLISE CLÍNICA E LABORATORIAL DE CASOS SUSPEITOS DE DENGUE E CORRELAÇÃO DA GRAVIDADE DESTES CASOS COM NÍVEIS SÉRICOS DE CITOCINAS CIRCULANTES E CARGA VIRAL DO VÍRUS DENGUE

Renata Teodoro Nascimento

Orientador: Prof. Dr. Benedito Antônio Lopes da Fonseca
Dissertação de Mestrado apresentada em 06/06/2007

A dengue é a doença mais importante causada por arbovírus no mundo. Com a introdução do sorotipo 3 no Brasil, a incidência de casos da doença, especialmente das formas hemorrágicas, aumentou de maneira significativa, representando um grave problema de saúde pública no país. A infecção pelos vírus dengue desencadeia diferentes síndromes clínicas, incluindo doença febril indiferenciada, dengue clássica e a febre hemorrágica do dengue/síndrome do choque do dengue. Os sinais e sintomas da doença podem sobrepor-se àqueles encontrados em outras patologias febris agudas, tomando seu diagnóstico baseado apenas em critérios clínicos pouco confiáveis. Apesar da grande quantidade de estudos, os mecanismos envolvidos na patogenia das infecções pelos vírus dengue permanecem pouco compreendidos. O presente estudo foi realizado com os seguintes objetivos: identificar possíveis

sinais, sintomas e alterações laboratoriais que auxiliem no diagnóstico da doença; avaliar a correlação entre a viremia e a produção de diferentes citocinas e a correlação destas variáveis com o grau de gravidade das alterações clínicas e laboratoriais. De janeiro a julho de 2003, 80 pacientes com suspeita clínica de dengue foram submetidos a uma avaliação clínica e laboratorial. A primeira avaliação dos pacientes foi realizada no período entre 2 e 19 dias após o início dos sintomas, em média 7,1 dias. Do total de pacientes incluídos, 52 (65%) apresentaram confirmação laboratorial do diagnóstico da dengue através da detecção de anticorpos do tipo IgM específicos por MAC-ELISA ou da presença de material genético do vírus por RT-PCR. A distribuição em relação ao sexo e idade foi bastante semelhante entre os dois grupos (pacientes com dengue e pacientes com outras patologias febris). A maioria dos pacientes com confirmação laboratorial do diagnóstico de dengue (60%) era de adultos jovens, com idades variando entre 21 e 40 anos. A reação em cadeia da polimerase foi positiva em 20 das 47 amostras positivas pela sorologia, com identificação ape-

nas do sorotipo 3 do vírus dengue. Das 40 amostras IgM positivas submetidas a RT-PCR em tempo real, 17 foram positivas, com detecção e quantificação de material genético do vírus dengue. Febre, cefaléia, dor retro-orbitária, artralgia, dores no corpo, presença de exantema acompanhado ou não de prurido, leucopenia, plaquetopenia, e elevação de transaminases e de gama-GT foram as alterações clínicas e laboratoriais mais frequentes entre os pacientes com confirmação laboratorial do diagnóstico da dengue. As variáveis que apresentaram simultaneamente elevadas sensibilidades e especificidades para o diagnóstico foram presença de exantema, leucopenia, plaquetopenia, e elevação de TGO. Apenas 3 pacientes preencheram os critérios para o diagnóstico de febre hemorrágica do dengue e todos apresentaram evolução para cura. Os níveis séricos de TNF- α , IL-5 e IL-12 não mostraram correlação com o grau de alterações laboratoriais entre os pacientes com diagnóstico confirmado da doença. Não houve diferença significativa entre os níveis séricos de TNF- α ao comparar pacientes com e sem confirmação laboratorial de dengue. Níveis séricos de IL-5 foram detectados em maior proporção em amostras de pacientes com confirmação laboratorial do diagnóstico. Houve correlação entre a viremia do vírus dengue e apenas duas variáveis: a intensidade da dor quantificada pela escala visual analógica e os níveis séricos de IL-5. O presente estudo é o primeiro no Brasil a avaliar a correlação entre a viremia e o padrão de citocinas produzidas em pacientes infectados pelo vírus dengue. Os resultados aqui apresentados corroboram a hipótese de que apesar da comprovação do auxílio de algumas alterações clínicas e laboratoriais na suspeita diagnóstica, a confirmação dos casos depende de métodos diagnósticos específicos para o vírus dengue. Os dados encontrados sugerem a correlação entre a presença de citocinas de um padrão de resposta imune do tipo Th-2 e maiores cargas virais do vírus dengue. Novos estudos que avaliem a relação entre a produção de outros mediadores da resposta Th-2 e a cinética da viremia durante as infecções por dengue, podem ser úteis para uma melhor compreensão dos mecanismos imunopatológicos da doença.

BASE DE DADOS ESTRUTURADA PARA PESQUISA DE LAUDOS NO AMBIENTE

José Henrique Pignatti dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Jorge Elias Junior

Dissertação de Mestrado apresentada em 12/06/2007

O uso de sistemas eletrônicos informatizados como apoio às atividades de pesquisas e ensino em medicina consolida-se como uma ferramenta de acesso às informações relacionadas a diversas categorias, em particular, a de exames, no entanto, seus achados e laudos, em geral, estão disponíveis sob o formato não estruturado, isto é, de texto livre ou narrativo, elaborados em diferentes estilos de redação e vocabulário o que dificulta a sua classificação e conseqüente recuperação. Neste contexto faz-se necessário o

desenvolvimento de uma ferramenta de indexação destes dados de maneira a possibilitar a sua localização precisa. A partir da comparação de duas abordagens, quais sejam a estruturação dos conteúdos narrativos dos laudos dos exames pela geração de "índices remissivos" e utilização de um produto como ORACLE CONTEXT OPTION foi possível a criação de índices de pesquisa e recuperação destas informações de maneira eficiente principalmente considerando o desempenho das consultas submetidas ao banco de dados. Os benefícios que esta implementação proporciona são inúmeros e vão desde o auxílio a diagnósticos a partir de estudos de casos similares até estatísticas de ocorrência de determinadas patologias relacionadas às características dos pacientes.

EFEITO DO TRATAMENTO COM O HORMÔNIO DO CRESCIMENTO (GH) DEPOT SOBRE A REMODELAÇÃO ÓSSEA E ULTRA-SONOMETRIA DE CALCÂNEO NO NANISMO POR MUTAÇÃO NO GENE DO GHRH-R

Miburge Bolívar Gois Júnior

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Albuquerque de Paula
Dissertação de Mestrado apresentada em 27/06/2007

O hormônio de crescimento (GH) e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I) são peptídeos que apresentam uma importante ação sobre a divisão, diferenciação e proliferação nas células ósseas. Pacientes adultos com deficiência do GH (DGH) apresentam baixa densidade mine-

ral óssea e aumento do risco de fraturas. Estudos demonstraram que a ação do GH sobre o metabolismo ósseo ocorre de forma bifásica e não há evidências do papel do GH sobre a resistência óssea em indivíduos com DGH. O objetivo do estudo atual foi avaliar a atividade de remodelação óssea por meio dos marcadores de formação e reabsorção do osso e a resistência óssea por meio da técnica de ultra-sonometria quantitativa de calcâneo: antes, durante e após terapia com GH de longa duração (GH Nutropin depot®) em indivíduos

adultos com DIGH com uma mutação que inativa o gene do receptor do GHRH (GHRH-R) (IVS1+1 GWA). Foram estudados 10 homens e 10 mulheres com DIGH e 20 controles, 10 homens e 10 mulheres saudáveis. A idade dos pacientes em ambos os grupos variou entre 22 a 76 anos e o tempo de aplicação da terapia com GH no grupo DIGH foi de 6 meses, com posterior retirada da terapia. Os indivíduos não podiam apresentar histórico clínico de patologias metabólicas, patologias ósseas, fraturas, imobilizações, história de alcoolismo e tabagismo ou em uso de terapia com anticonvulsivantes, corticoterapia, contraceptivo e reposição hormonal. Os indivíduos foram avaliados quanto ao metabolismo ósseo através do marcador de formação óssea osteocalcina e de reabsorção ICTP no grupo DIGH. A resistência óssea foi avaliada através do aparelho de ultra-sonometria quantitativa USQ (Achilles In Sight) através do T-score e do "Stiffness" em valores absolutos. Os marcadores de remodelação óssea e de ultra-sonometria de calcâneo no grupo DIGH foram realizada nos tempos: Basal (A0), 6 meses pós-GH (A6) e 6 meses (A12) e 12 meses (A18) após retirada da terapia. O grupo controle foi avaliado através do ultrassom de calcâneo nos tempos: basal (C0) e 12 meses (C12) ao longo do estudo. Os valores do IGF-I ($p < 0,001$) foram maio-

res no tempo (A6) em relação aos valores iniciais. A análise dos marcadores de remodelação óssea demonstrou que a osteocalcina no grupo DIGH aumentou no tempo (A6) ($p < 0,001$) e permaneceu alta no sexto mês após retirada da terapia (A12) ($p < 0,001$) em relação ao período (A0). Os valores do ICTP foram maiores no tempo 6 meses pós-GH (A6) ($p < 0,001$) em relação ao período (A0). Em relação à ultra-sonometria no grupo DIGH, os T-scores do Stiffness foram maiores nos tempos (A12) ($p = 0,04$) e (A18) ($p = 0,04$) após retirada da terapia em relação ao período (A0). Não houve diferença no Stiffness em valores absolutos nos indivíduos do grupo DIGH ao longo do estudo. O grupo DIGH apresentou valores T-score e Stiffness em valores absolutos menores que os dos controles nos tempos (A0xC0) ($p < 0,001$) e ($p = 0,04$) e valores do Stiffness nos períodos (A12xC12) ($p = 0,04$) ao longo do estudo. Nossos resultados indicam que a terapia com GH Nutropin depot induziu aumento significativo nos marcadores de remodelação óssea e melhora significativa em parâmetros ultra-sonométricos nos indivíduos DIGH e o aumento foi mais marcante no parâmetro de formação óssea. Após 12 meses sem o tratamento de GH depot o efeito sobre o metabolismo e resistência óssea foi mantido.

ESTUDO DA CONTRATILIDADE DA MUSCULATURA DO ASSOALHO PÉLVICO E DAS DISTÂNCIAS E ANGULAÇÕES LOMBO-SACRAIS E PÉLVICAS DE MULHERES IDOSAS

Lislei Jorge Patrizzi

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Ferriolli

Tese de Doutorado apresentada em 28/06/2007

O assoalho pélvico humano é uma estrutura muscular complexa. Relaciona-se diretamente com a cavidade pélvica e segmento lombo-sacral da coluna vertebral. O presente estudo tem por objetivo avaliar a contratilidade do assoalho pélvico e as distâncias e angulações lombo-sacrais e pélvicas de mulheres idosas e de meia idade. A casuística foi constituída por 40 mulheres que foram divididas em dois grupos: o Grupo I, composto por 22 mulheres com idade média de 71,5 anos (variação de 65 a 84 anos), e o Grupo II, composto por 18 mulheres com idade média de 45,6 anos (variação de 34 a 55 anos). Todas seguiram um protocolo de avaliação clínico-funcional individual constituído de oito partes: (1) identificação das pacientes, (2) avaliação antropométrica parcial, (3) avaliação de queixas clínicas, (4) anamnese, (5) exame genital, (6) perineometria digital, (7) eletromiografia de superfície e (8) ressonância magnética. Os resultados mostram menor força muscular nas mulheres do Grupo I quando comparado com as mulheres do Grupo II ($p = 0,006$), menor distância do assoalho pélvico à bexiga ao repouso e sob esforço nas mulheres do Grupo I ($p = 0,001$) e correlação entre (1) idade e número de gestações ($r = 0,41$ e $p = 0,008$) (2) idade e número de partos ($r = 0,36$

e $p = 0,02$), (3) idade e contração muscular sustentada ($r = -0,35$ e $p = 0,02$), (4) idade e força muscular ($r = -0,42$ e $p = 0,006$), (5) índice de massa corpórea e força muscular ($r = 0,44$ e $p = 0,004$), (6) contração muscular não sustentada e força muscular ($r = 0,43$ e $p = 0,005$), (7) contração muscular sustentada com força muscular ($r = 0,42$ e $p = 0,007$) e (8) contração muscular não sustentada e contração muscular sustentada ($r = 0,88$ e $p < 0,001$). Também observou-se correlação significativa entre (1) diâmetro ântero-posterior e ângulo de inclinação pélvica ($r = 0,34$ e $p = 0,03$), (2) ângulo lombo sacral e ângulo de inclinação pélvica ($r = -0,40$ e $p = 0,009$) e (3) distância do assoalho pélvico à bexiga em repouso e distância do assoalho pélvico à bexiga sob esforço ($r = 0,77$ e $p < 0,001$). Concluímos que (1) a força muscular do assoalho pélvico de mulheres idosas é inferior quando comparada com mulheres de meia idade, (2) a habilidade para a contração muscular sustentada e não sustentada da musculatura do assoalho pélvico avaliada por meio de eletromiografia de superfície não se mostrou significativamente diferente entre os grupos avaliados, (3) as medidas das distâncias e angulações pélvicas e lombo-sacrais não são diferentes entre os grupos avaliados, (4) a distância assoalho-pélvico bexiga em repouso e sob esforço é menor nas mulheres idosas e (5) não existe correlação entre as medidas das distâncias e angulações pélvicas e lombo-sacrais com a contratilidade da musculatura do assoalho pélvico.

EFEITOS DO CONSUMO DE SUPLEMENTOS PROTÉICOS NOS NÍVEIS DE HEMOCISTEÍNA EM PRATICANTES DE ATIVIDADE FÍSICA DE ACADEMIAS DE RIBEIRÃO PRETO-SP

Gisele Sales Gomes

Orientador: Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior
Dissertação de Mestrado apresentada em 29/06/2007

A homocisteína, um aminoácido não essencial que contém enxofre, é proveniente da metionina, através do consumo de proteína da dieta. Concentrações plasmáticas aumentadas de homocisteína e baixas em folato e B12, vitaminas presentes no metabolismo do aminoácido, estão associadas ao risco aumentado de doença vascular. O objetivo do trabalho foi avaliar o nível de homocisteína em praticantes de atividade física, em uso de suplementos protéicos, na cidade de Ribeirão Preto-SP. O trabalho foi dividido em duas fases, sendo que a primeira consistia em um levantamento sobre o consumo de suplementos nas academias (n=102). Para a segunda fase, foram selecionados 30 indivíduos do sexo masculino, que foram encaminhados à Unida-

de Metabólica do HCFMRP-USP/RP para coleta de dados referentes à composição corporal (IMC, bioimpedância elétrica e pregas cutâneas), exames bioquímicos (homocisteína, folato, vitamina B12, além de colesterol, HDL-col, triglicérides, glicemia e creatinina) e avaliação da dieta (recordatório de 24 horas e questionário de frequência alimentar). Posteriormente, estes indivíduos foram distribuídos em 3 grupos: controle, protéico e protéico-energético. Evidenciou-se que a maior parte dos entrevistados (52%) utilizava algum tipo de suplemento. A composição corporal foi semelhante entre os grupos, sem modificação pelo uso do suplemento. Os exames bioquímicos estavam adequados para a maior parte dos indivíduos, não havendo diferença entre os grupos. Houve uma elevada ingestão de proteína e baixa de folato e vitamina B12 na dieta. Conclui-se do trabalho que a inadequação da dieta ou o uso de suplementos protéicos ou protéico-energético não modificou os níveis de homocisteína e nem a composição corporal.

FARMACOLOGIA

MECANISMOS ENVOLVIDOS NA HIPORREATIVIDADE VASCULAR À ANGIOTENSINA II ASSOCIADA À GRAVIDEZ EM RATAS

José Wilson do Nascimento Corrêa

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina de Oliveira Salgado
Dissertação de Mestrado apresentada em 12/04/2007

Ao final da gestação de ratas se observa hiporreatividade a agentes constritores que tem sido atribuída à produção alterada de fatores endoteliais, como óxido nítrico (NO) e prostanoídes. Nesse estudo investigou-se a possível participação dos derivados da sintase do NO (NOS) e ciclooxigenase (COX) nas alterações de reatividade vascular a angiotensina (Ang) II em vasos isolados de ratas grávidas (19^o-20^o dia de gestação, G) e não grávidas (fase estro do ciclo estral, NG) de mesma idade. Também foi avaliada a contribuição relativa de receptores AT₂ da Ang II, cuja ativação poderia resultar em atenuação da resposta vasoconstritora induzida pela ativação dos receptores AT₁ da Ang II, na resposta deprimida a este peptídeo durante a gravidez. Após determinação da pressão arterial média (PAM), foram obtidas curvas concentração-efeito ou dose-resposta para

a Ang II em anéis de aorta com ou sem endotélio e leito arterial mesentérico (LAM) isolados de ratas G e NG, na presença ou ausência dos antagonistas dos receptores AT₁ (losartan, 1 µM) e AT₂ (PD123,319, 1 µM), dos inibidores da ciclooxigenase (diclofenaco, 10 µM) e da NOS (L-NNA, 100 ou 200 µM) isoladamente ou em associação. A pressão arterial das ratas G mostrou-se acentuadamente reduzida se comparada àquela de NG. As respostas vasoconstritoras à Ang II demonstraram um padrão concentração (aorta) ou dose-dependente (LAM) e se mostraram significativamente reduzidas em preparações de G em relação às de NG. Losartan promoveu um bloqueio reversível dos efeitos contráteis à estimulação por Ang II, enquanto que PD 123,319 não alterou significativamente tais respostas nos territórios vasculares avaliados. Em anéis de aorta, a remoção da camada endotelial potencializou as respostas contráteis à Ang II, mas não igualou as respostas de G àquelas de NG; o mesmo foi observado na presença de LNNA ou da associação de LNNA e diclofenaco. O diclofenaco não modificou as respostas para Ang II tanto em anéis de ratas G como NG. Em

LAM, a inibição da COX por diclofenaco sódico além de não reverter a hiporreatividade à Ang II observada em ratas G atenuou ainda mais as respostas vasoconstritoras à Ang II. O tratamento com LNNA aboliu a hiporreatividade observada para a Ang II em LAM de ratas G, tornando as respostas semelhantes àquelas de NG. Diclofenaco ou LNNA isoladamente não modificaram as respostas à Ang II no LAM

de ratas NG. Por outro lado, a associação de ambos reduziu as respostas à Ang II de NG sem alterar aquelas de G. A produção de NO endotelial, e não a de prostanóides ou ativação dos receptores AT_2 , é fator decisivo para o desenvolvimento da hiporreatividade à Ang II observada em LAM de ratas G. Na aorta, além do NO, outros fatores parecem estar envolvidos.

PAPEL DA IL-23 NO RECRUTAMENTO DE NEUTRÓFILOS E HIPERNOCICEPÇÃO MECÂNICA EM MODELO DE INFLAMAÇÃO IMUNE INDUZIDA POR mBSA

Henrique de Paula Lemos

Orientador: Prof. Dr. Fernando de Queiróz Cunha

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/04/2007

No presente trabalho foram investigados os possíveis mecanismos de participação da IL-23 em induzir a hipernocicepção e a migração de neutrófilos (MN) observadas em um modelo murino de inflamação de origem imune. Inicialmente, foi observado que a administração, i.p., de IL-23 induziu MN, a qual foi inibida por anticorpos (Ac) anti-IL-17, IL-1Ra, soro anti-TNF- α , MK886, indometacina (indo), etoricoxibe, IL-12 e IFN- γ , e exacerbada pela PGE₂. Ademais, a IL-23 induziu a expressão de COX-2 por células peritoneais. A PGE₂ também exacerbou, enquanto a IL-12 e a indo inibiram a produção de IL-17 induzida pela IL-23 em cultura de células peritoneais. A indo não inibiu a MN induzido pela IL-23 em camundongos deficientes tanto para a IL-12 quanto para o IFN- γ . Estes resultados sugerem o envolvimento de IL-17, TNF- α , IL-1 β , LTB₄ e prostanóides na MN induzida pela IL-23. Além disso, também sugerem que a PGE₂ produzida por COX-2 em resposta à IL-23 promova tal migração por exacerbar a produção de IL-17 através da inibição da produção de IL-12 e IFN- γ . A seguir, foi verificado que a MN para a cavidade articular observada no modelo de inflamação imune induzida pela imunização e desafio (i.a.) de camundongos com mBSA foi inibida por IL-23Ac e IL-

17Ac, soro anti-TNF- α , IL-12 ou indo e exacerbada pela PGE₂. Posteriormente, foi confirmado que os mecanismos envolvidos com a MN induzida pela IL-23 para a cavidade peritoneal eram os mesmos para cavidade articular. A seguir, foi observado que a MN induzida pela administração, i.a., de IL-17 foi inibida por MK886, soro anti-TNF- α , repertaxina e KCAC e LIXAc, porém não foi alterada pela indo e pelo IL-1Ra. Assim, o conjunto dos nossos dados associados a resultados anteriormente obtidos por nosso grupo de pesquisa nos permite sugerir que a MN induzida por mBSA para a cavidade articular ocorra por um mecanismo dependente da liberação sequencial de IL-23, IL-17, quimiocinas (LIX e KC), TNF- α , e LTB₄. E ainda que, paralelamente, a IL-23 possa agir por acentuar a produção de IL-17 através da indução da produção de IL-1 β , e PGE₂, esta última atuando através da inibição a produção de IL-12/IFN- γ . Em uma segunda etapa deste estudo, foi verificado que a hipernocicepção mecânica observada no modelo depende de IL-23, agindo via liberação de IL-17 e prostanóides, visto que: 1) IL-23Ac ou IL-17Ac e indo inibiram a hipernocicepção observada no modelo, e; 2) IL-17Ac e indo inibiram a hipernocicepção induzida pela IL-23. Em conclusão, este trabalho contribui para a elucidação, ao menos em parte, dos mecanismos ativados pela IL-23 para induzir MN e hipernocicepção mecânica em uma resposta inflamatória imune, sugerindo assim diferentes abordagens terapêuticas para doenças cuja patogênese seja dependente da IL-23.

PROTEASES MASTOCITÁRIAS E ALTERAÇÕES NA EXPRESSÃO DE RECEPTORES B₂ PARA A BRADICININA: REPERCUSSÕES FUNCIONAIS NO LEITO CORONARIANO DE CORAÇÕES SUBMETIDOS À SOBRECARGA PRESSÓRICA

Luiz Borges Bispo-da-Silva

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina de Oliveira Salgado
Tese de Doutorado apresentada em 10/05/2007

O desenvolvimento da hipertrofia cardíaca é acompanhado de inúmeras alterações precoces no coração, tais

como aumentos na densidade mastocitária e na expressão de receptores do subtipo B₂ para a bradicinina (BK). Ainda, tem-se demonstrado que leitos vasculares isolados são capazes de secretar proteases envolvidas no processamento de peptídeos vasoativos, o que permanece por ser estudado no leito coronariano. No presente estudo utiliza-

mos um modelo de hipertrofia cardíaca induzida pela sobrecarga de pressão com o objetivo de: (i) avaliar se a desgranulação mastocitária é capaz de alterar a reatividade vascular do leito coronariano à angiotensina (Ang) I e II; (ii) se o aumento na expressão de receptores B₂ cardíacos apresenta alguma repercussão funcional no leito coronariano; (iii) se o coração é capaz de secretar proteases que estejam envolvidas no processamento de Ang I e BK. Para tanto, foram utilizados ratos Wistar submetidos à falsa-cirurgia (FO) ou à coarctação da aorta abdominal suprarenal (COA). Os corações dos animais foram removidos para análises morfológicas, bioquímicas e funcionais, 1 ou 7 dias após a cirurgia. A COA causou um aumento na pressão arterial média dos animais no 1^o e 7^o dias após a cirurgia, no entanto, observou-se um aumento no diâmetro do cardiomiócito apenas no 7^o dia. A COA não alterou a densidade mastocitária em nenhum dos tempos avaliados. A desgranulação mastocitária com o composto 48/80 não alterou a reatividade do leito coronariano à Ang I (na presença de lisinopril, um inibidor da enzima conversora de angiotensina – ECA), nem à Ang II nos grupos FO e COA, 7 dias após a cirurgia. Atividades proteolíticas sobre a Ang I e BK são detectadas nos perfusatos cardíacos de animais FO e COA, 1 dia após a cirurgia. Dados obtidos com a utilização de inibidores de proteases sugerem atividades predominantes que podem ser atribuídas à ECA e às carboxipeptidases do tipo A (metabolismo de Ang I), e à ECA e às carboxipeptidases do tipo B (metabolismo de BK). Experimentos realizados com perfusatos coletados no perí-

odo de estabilização e durante 2 h de reperfusão, sugerem que o coração não acumula atividades proteolíticas, mas que este possui um contingente de enzimas, as quais deixam o coração durante a perfusão com o líquido nutriente. A COA alterou apenas a contribuição relativa das proteases envolvidas no metabolismo da BK. A desgranulação mastocitária não alterou o perfil proteolítico dos perfusatos sobre a Ang I e BK. A COA aumentou a expressão do RNAm dos receptores B₂ cardíacos, 1 dia após a cirurgia; entretanto, a maioria dos animais submetidos à COA apresentou uma hiporreatividade do leito coronariano à BK, trifosfato de adenosina (ATP) e nitroprussiato de sódio (NPS). Ainda, há correlação entre a pressão de perfusão basal do leito e a resposta vasodilatadora aos diferentes agentes no grupo FO, a qual encontra-se comprometida ou ausente no grupo COA. O L-NAME, um inibidor da sintase do óxido nítrico, reverteu a hiporreatividade ao NPS, mas não ao ATP. Assim, nossos dados sugerem que: a desgranulação mastocitária não é capaz de modular a resposta do leito arterial coronariano à Ang I, apesar das proteases mastocitárias aparentemente não deixarem o sítio de deposição após ativação celular; que o aumento da expressão dos receptores B₂ não possui repercussão funcional sobre esse território vascular, o qual apresenta alterações na capacidade vasodilatadora. Essas alterações podem estar associadas, em parte, a um aumento na síntese e/ou liberação de óxido nítrico. Por fim, sugerem que o coração possui um contingente de enzimas solúveis capazes de metabolizar Ang I e BK.

METABOLISMO DA BRADICININA, ANGIOTENSINA I E II NOS PERFUSATOS DOS LEITOS ARTERIAIS MESENTÉRICO E CARDÍACO DE RATOS NORMOTENSOS E ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS

Disney Oliver Sivieri Junior

Orientadora: Prof^a. Dra Maria Cristina de Oliveira Salgado
Tese de Doutorado apresentada em 18/05/2007

Os leitos vasculares podem exercer papel fundamental na liberação de proteases solúveis importantes para o metabolismo local de peptídeos vasoativos. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivos avaliar e caracterizar as possíveis proteases solúveis liberadas pelos leitos cardíaco e arterial mesentérico que atuam no processamento de bradicinina (BK), angiotensina (Ang) I e II e, ainda, verificar se a hipertensão espontânea altera o perfil proteolítico dos perfusatos. Para isso, os leitos vasculares foram isolados de ratos normotensos Wistar e espontaneamente hipertensos (SHR) e perfundidos em sistema fechado durante 2 h. Os perfusatos foram coletados, concentrados e incubados com BK, Ang I e II. Os produtos das reações foram analisados através de HPLC na presença e na

ausência de inibidores de proteases. Os resultados obtidos no presente trabalho mostraram que os perfusatos de leitos arteriais mesentéricos, tanto de animais normotensos quanto de SHR, possuem maior atividade proteolítica capaz de metabolizar Ang I, II e BK, quando comparados aos perfusatos cardíacos. Os perfis proteolíticos dos perfusatos mesentéricos de animais normotensos e hipertensos são qualitativamente similares, diferindo somente nas quantidades dos fragmentos gerados. A principal atividade proteolítica observada nos perfusatos mesentéricos, sobre o metabolismo da BK, está relacionada às carboxipeptidases do tipo B. Nesses perfusatos, a Ang I e II são metabolizadas preferencialmente por serinoproteases sensíveis à quimostatina e carboxipeptidases insensíveis ao MGTA, inibidor de carboxipeptidases do tipo B. No entanto, o estado hipertensivo altera o perfil de consumo para a Ang I e II nos perfusatos mesentéricos de animais SHR. Embora a enzima conversora de angiotensina (ECA) não

esteja presente nos perfusatos mesentéricos, é a principal atividade enzimática formadora de Ang II nos perfusatos cardíacos. O estado hipertensivo diminui o metabolismo de Ang II e BK nos perfusatos cardíacos. Ainda, outra diferença importante está relacionada à formação do fragmento Ang 5-10 a partir de Ang I que aparece somente nas reações com perfusatos cardíacos de animais normotensos, mostrando que esta atividade proteásica está ausente nos perfusatos de SHR. Contudo, a principal atividade proteolítica sobre o metabolismo de BK nos perfusatos cardíacos

está relacionada às endopeptidases insensíveis ao fosforamidon. Interessantemente, foram observadas atividades relacionadas à endopeptidase neutra nos perfusatos cardíacos até então não descritas na literatura. É importante salientar que o presente trabalho traz informações relevantes sobre as proteases solúveis secretadas pelos leitos vasculares, as quais podem participar no metabolismo de peptídeos vasoativos que estão na luz do vaso, reforçando a contribuição tecido-específica das enzimas que atuam nos sistemas caliceína-cinina e renina-angiotensina locais.

PAPEL DE RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE GLUTAMATO LOCALIZADOS NA SUBSTÂNCIA CINZENTA PERIAQUEDUTAL DE RATOS NA MODULAÇÃO DE RESPOSTAS DEFENSIVAS

Vivian Cristina Fontaniva de Lima

Orientador: Prof. Dr. Francisco Silveira Guimarães
Dissertação de Mestrado apresentada em 18/05/2007

Trabalhos anteriores sugerem que receptores metabotrópicos de glutamato (mGluR) podem modular reações defensivas na substância cinzenta periaquedutal dorsolateral (SCPdl). No entanto, os estudos até o momento envolveram a administração direta de agonistas mGluR, não sendo possível determinar se a ativação deste grupo de receptores na SCPdl tem papel relevante na modulação de reações defensivas quando os animais são expostos a eventos ameaçadores. Assim sendo, o principal objetivo deste projeto foi o de verificar o efeito da administração direta na

SCPdl de antagonistas mGluR de grupo I, o ácido (RS)-1-Aminoaidan-1,5-dicarboxílico (AIDA) e o 22-Metil-6-(feniletinil)-piridina (MPEP), no comportamento de animais submetidos a dois modelos de ansiedade, o labirinto em cruz elevado (LCE) e o teste de lamber punido de Vogel. Adicionalmente, verificamos nos dois modelos o efeito do (S)-3-carboxy-4-hydroxyphenylglycine (S)-4CPG, uma droga antagonista do mGluR de grupo I e agonista de mGluR de grupo II.

Os resultados mostraram que tanto o AIDA quanto o MPEP, mas não o (S)-4CPG, aumentaram a exploração dos braços abertos do LCE e o número de lambidas no teste de Vogel. Eles sugerem, portanto, que o antagonismo de receptores mGluR do grupo I na SCPdl produz efeito ansiolítico.

EFEITO DOS AGONISTAS β -ADRENÉRGICOS SOBRE O RELAXAMENTO VASCULAR EM AORTA DE RATOS HIPERTENSOS RENAI (2R-1C)

Ricardo Radighieri Rascado

Orientadora: Profa. Dra. Lusiane Maria Bendhack
Tese de Doutorado apresentada em 22/05/2007

O relaxamento induzido pela isoprenalina em aorta de ratos 2R-1C pode sofrer interferência do agonista utilizado na pré-contracção. Assim sendo, para se estudar drogas que atuam sobre receptores β -adrenérgicos, deve-se evitar o uso de catecolaminas como noradrenalina e fenilefrina. Em nosso estudo, a prostaglandina $F_{2\alpha}$ mostrou-se um agonista mais adequado para produzir a pré-contracção necessária para o estudo do relaxamento via receptores β -adrenérgicos. Além disso, para evitar os possíveis efeitos α -adrenérgicos da isoprenalina, no estudo dos receptores β -adrenérgicos, verificamos que foi necessário o uso do prazosin, antagonista α_1 -adrenérgico.

O relaxamento induzido pela isoprenalina foi menor em aorta de ratos 2R-1C que de ratos 2R, independentemente do agonista contrátil utilizado, indicando que existe um prejuízo no relaxamento induzido pelo agonista β -adrenérgico na hipertensão arterial. O relaxamento induzido pela forskolina, ativador direto da enzima adenilato ciclase foi semelhante entre aortas de ratos 2R-1C e 2R, e também entre artérias pré-contráidas com fenilefrina ou $PGF_{2\alpha}$. Estes resultados indicam que a produção de AMPc não é inibida na aorta de ratos 2R-1C e que o agonista utilizado para produzir contracção também não interferiu na produção de AMPc.

Em relação aos outros agonistas β -adrenérgicos a isoprenalina mostrou-se mais potente que a terbutalina, um agonista β_2 -adrenérgico seletivo, e que o BRL 37344, um agonista β_3 -adrenérgico. O cianopindolol, um agonista β_4 -adrenérgico seletivo não foi capaz de induzir relaxamen-

to vascular como os demais agonistas β -adrenérgicos.

Estudando o mecanismo de relaxamento induzido pela isoprenalina, nossos dados sugerem a participação do óxido nítrico (NO), uma vez que esse relaxamento foi diminuído em preparações pré-incubadas com os inibidores da NO-sintase e guanilato ciclase L-NAME e ODQ, respectivamente. A participação dos fatores endoteliais parece ser mais importante em aorta de ratos 2R do que de ratos 2R-1C. O NO também parece participar da resposta relaxante induzida pelos agonistas terbutalina e BRL 37344, sendo mais impor-

tante no relaxamento em anéis de aorta de ratos normotensos do que em anéis de aorta de ratos hipertensos.

Os nossos resultados sugerem a participação dos subtipos de receptores β_2 e β_3 -adrenérgicos no relaxamento de anéis de aorta de ratos normotensos e hipertensos renais. Parece haver maior predominância de receptores β_2 -adrenérgicos e praticamente não há evidências de receptores β_4 -adrenérgicos em aorta de ratos. Demonstramos que os efeitos dos agonistas β -adrenérgicos foram reproduzidos em estudos *in vitro*, *in situ* e *in vivo*.

PAPEL DOS RECEPTORES PROSTANÓIDES EP PERIFÉRICOS NA HIPERNOCICEPÇÃO INDUZIDA POR PGE₂

Marcos Antonio Rodrigues

Orientador: Prof. Dr. Carlos Amílcar Parada

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/06/2007

A prostaglandina E₂ (PGE₂) exerce suas atividades biológicas por meio de 4 receptores, EP1, EP2, EP3 e EP4. A ativação de cada um destes receptores ativa diferentes vias de sinalização intracelular. A literatura científica mostra que as prostaglandinas (PGs) induzem sensibilização dos neurônios nociceptivos periféricos, produzindo o fenômeno conhecido como hipernocicepção, por atuação direta em receptores EP neuroniais. Porém, recentemente foram observadas diferenças na magnitude e no tempo de duração da hipernocicepção induzida pela PGE₂ quando administrada nos tecidos dérmico e subcutâneo, o que sugere a existência de pelo menos dois tipos distintos de fibras C nociceptivas primárias responsivas à PGE₂. O objetivo do presente estudo foi verificar a participação relativa de cada um dos subtipos de receptor EP neuroniais na hipernocicepção mecânica induzida por PGE₂ no tecido dérmico e no tecido subcutâneo. Inicialmente foi observado que a hipernocicepção induzida pela PGE₂ em ambos os tecidos era mediada por fibras nociceptivas sensíveis à capsaicina (fibras finas do tipo C), uma vez que o pré-tratamento com capsaicina aboliu o efeito da PGE₂. Também foi observado que a administração intradérmica de iloprost, agonista seletivo para receptores EP1 e EP2, induziu hipernocicepção que não foi inibida pelo tratamento com o antagonista seletivo para receptores EP1 SC19220. Contudo, tanto o *knock-down* funcional de receptores EP1 (pelo tratamento com oligodesoxinucleotídeo *antisense* (ODN AS) contra EP1) quanto a administração de SC19220 inibiu o efeito da PGE₂ intradérmica ou da iloprost subcutânea. Os experimentos

também mostraram que os receptores do subtipo EP2 participam da hipernocicepção induzida pela PGE₂ em ambos tecidos. Já os receptores EP4 parecem participar apenas da hipernocicepção induzida no tecido subcutâneo, uma vez que nem o antagonista EP4-seletivo AH-23848 nem o tratamento com ODN AS contra EP4 alteraram o efeito induzido por PGE₂ intradérmica, embora tenha abolido a hipernocicepção no tecido subcutâneo. Por outro lado, os receptores EP3 parecem não estar envolvidos na hipernocicepção mediada pela PGE₂. Mais adiante, verificamos que a hipernocicepção induzida pela administração de PGE₂ no tecido dérmico é mediada por mecanismos envolvendo a proteína quinase dependente de AMPc (PKA), enquanto que, no subcutâneo, além da PKA, há também participação da proteína quinase Cε (PKCε). Interessantemente, observamos que a inibição de apenas um subtipo de receptor EP foi suficiente para induzir inibição completa da hipernocicepção induzida pela PGE₂, o que sugere a necessidade da atuação conjunta de receptores EP para que o efeito hipernociceptivo da PGE₂ aconteça. Em conclusão, os resultados sugerem que **1)** existem pelo menos dois tipos de fibras C sensíveis à PGE₂, sendo **2)** um destes situado mais superficialmente na derme e no qual os receptores EP1 e EP2 participam igualmente do desenvolvimento da hipernocicepção induzida pela PGE₂, e **3)** outro localizado mais profundamente na pele, no qual a ativação de receptores EP1, EP2 e EP4 contribui igualmente para o desenvolvimento da hipernocicepção induzida por PGE₂. Ainda, aparentemente, mecanismos intracelulares diferentes seriam ativados nestas fibras, levando à hipernocicepção. Embora os estudos sugiram a existência de dois subtipos de receptores EP1, este receptor e, principalmente, o subtipo EP2, podem ser considerados potenciais alvos farmacológicos para o controle da dor inflamatória aguda.

FISIOLOGIA

CONTROLE DA VENTILAÇÃO: HIPÓXIA E TEMPERATURA; E FUNÇÃO CARDIOVASCULAR E GASOMETRIA DURANTE A ESTIVAÇÃO EM *Lepidosiren paradoxa*

Glauber dos Santos Ferreira da Silva

Orientador: Prof. Dr. Mogens Lesner Glass

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/04/2007

O controle da ventilação pulmonar (V_I) em *Lepidosiren paradoxa* (um peixe pulmonado) assemelha-se ao controle dos vertebrados terrestres, possuindo fortes indícios da presença de quimiorreceptores centrais (CO_2/pH) e periféricos (CO_2/pH e O_2). Porém, os efeitos da interação entre temperatura e hipóxia sobre as respostas ventilatórias ainda não foram testadas. *Lepidosiren*, assim como *Protopterus*, estiva durante o período de seca. Entretanto pouco é conhecido sobre as possíveis alterações fisiológicas durante o processo de estivação em *L. paradoxa*.

Os objetivos desse trabalho foram avaliar as respostas ventilatórias em diferentes temperaturas (25 e 35°C) durante a hipóxia (somente no ar), e comparar a função cardiovascular e gases sanguíneos (O_2 , CO_2 e pH) em *L. paradoxa* durante os períodos de atividade e estivação.

O método de pneumotacografia foi utilizado para medir a V_I nas condições de normóxia (21%) e hipóxia (12%, 10% e 7%) nas diferentes temperaturas. Uma mistura de argila, terra e água foi feita para simular a condição de estivação (período de Maio a Agosto). Para análise, foram utilizados os testes ANOVA *two - way* para medidas repetidas com teste de Bonferroni de múltiplas comparações e teste t ($p < 0,05$).

Quanto menor a pressão parcial de O_2 (PO_2) do ar inspirado, maior a V_I . Todos os valores da ventilação durante a hipóxia foram maiores na temperatura de 35°C, com aumentos modulados principalmente pela frequência respiratória. Ou seja, houve interação significativa ($p < 0,001$) entre a temperatura e o percentual de O_2 inspirado.

Com relação à gasometria, a PO_2 do sangue arterial (PaO_2) diminuiu com o decréscimo dos níveis de O_2 inspirados. Não houve diferença significativa nos valores de PaO_2 nas duas temperaturas estudadas. A pressão parcial de CO_2 (PaCO_2) aumentou de ~22 mmHg a 25°C (em normóxia) para ~32 mmHg a 35°C (em normóxia), e a 35°C permaneceu elevada nos diferentes níveis de hipóxia. Concomitantemente, houve diminuição do pH de $7,51 \pm 0,05$ (controle à 25°C) para $7,38 \pm 0,04$ (controle à 35°C). Com relação ao $[\text{HCO}_3^-]_{\text{pl}}$, conteúdo de CO_2 e hematócrito não houveram mudanças significativas.

Na estivação, a PaCO_2 aumentou de 22 mmHg (período de atividade) para aproximadamente 37 mmHg. O $[\text{HCO}_3^-]_{\text{pl}}$ aumentou 1,8 vezes no período de estivação enquanto o pH reduziu apenas de 7,51 para 7,49 (não significativo). A PaO_2 diminuiu pouco, porém de forma significativa de 88 mmHg (atividade) para 81 mmHg (estivação). Com relação aos parâmetros cardiovasculares, não houve diferença nos valores de pressão arterial (sistólica, diastólica e média) entre os dois períodos. Porém, a frequência cardíaca apresentou uma queda significativa ($p < 0,05$) de ~32 para 28 (bpm). Como consequência, o duplo produto ($\text{FC} \times \text{P}_{\text{sist}}$) também diminuiu, indicando redução no metabolismo.

Houve interação significativa entre temperatura e hipóxia em *L. paradoxa*, a qual ocorre de forma semelhante aos tetrápodes: o aumento da temperatura provocou aumento da resposta ventilatória frente à hipóxia. As características de estivação em *Lepidosiren* também são similares às de *Protopterus* no primeiro mês de estivação, com redução do metabolismo em relação ao período de atividade. Os aumentos na PaCO_2 e $[\text{HCO}_3^-]_{\text{pl}}$ refletem alta dependência da troca gasosa através dos pulmões.

INGESTÃO ALIMENTAR E DESSENSIBILIZAÇÃO DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL EM MODELO DE TOLERÂNCIA À ENDOTOXINA

Beatriz de Carvalho Borges

Orientadora: Profa. Dra. Lucila Leico Kagohara Elias

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/04/2007

Durante a endotoxemia o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) é ativado e a ingestão de alimento é reduzi-

da, bem como o ganho de peso. Entretanto, a exposição repetida à endotoxina como, por exemplo, lipopolissacárido (LPS) induz dessensibilização das respostas do eixo HHA. A dessensibilização da resposta anorexígena a uma exposição repetida à endotoxina ainda não é satisfatoriamente conhecida. Este trabalho foi desenvolvido com o

intuito de estudar os efeitos de injeções intraperitoneais (i.p.) únicas ou repetidas de LPS sobre a ingestão de alimento e a ativação do eixo HHA, e a interação com fatores neuroendócrinos envolvidos no controle da ingestão alimentar. Ratos Wistar receberam injeções i.p. diárias de salina (NaCl 0,9%) ou LPS (100µg/kg) sendo agrupados da seguinte maneira: 6 injeções de salina, 5 injeções de salina + 1 de LPS, 5 injeções de LPS + 1 de salina e 6 injeções de LPS. Após 6 dias de tratamento, os ratos foram decapitados 2 horas após a última injeção para coleta de sangue do tronco para dosagem de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), corticosterona (CORT), prolactina (PRL), leptina e fator de necrose tumoral (TNF)- α . Um segundo subgrupo de ratos foi submetido ao mesmo tratamento para verificação diária da ingestão alimentar e peso corporal. Um terceiro subgrupo de ratos foi submetido ao mesmo tratamento, sendo 4 horas após a última injeção, submetido à anestesia e perfusão transcardíaca para obtenção de tecido hipotalâmico para determinação da expressão do RNAm do fator de liberação de corticotrofina (CRF), transcrito regulado por cocaína e amfetamina (CART), neuropeptídeo Y (NPY) e proopiomelanocortina (POMC), realizada por hibridização *in situ*. Uma única exposição ao LPS aumentou significativamente as concentrações plasmáticas de ACTH, CORT, PRL e TNF- α e a expressão do RNAm do CRF no núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN). Não houve alteração na concentração plasmática de leptina após tratamento com dose única de LPS. A ingestão alimentar e o peso corporal diminuíram significativamente após uma única administra-

ção de LPS. Observamos, também, que uma única dose de LPS induziu aumento da expressão do RNAm do CART no núcleo retroquiasmático (RCA) e na porção anterior do núcleo arqueado (ARC). Por outro lado, a administração de doses repetidas de LPS não induziu alteração nas concentrações plasmáticas de ACTH, CORT, PRL e TNF- α , quando comparada com os animais tratados com salina, evidenciando o processo de dessensibilização. O tratamento com doses repetidas de LPS induziu redução significativa nas concentrações plasmáticas de leptina. Além disso, a administração repetida de LPS não induziu aumento na expressão do RNAm de CRF no PVN e CART no RCA e ARC. A ingestão de alimento e o ganho de peso dos animais que receberam seis injeções de LPS não foram diferentes quando comparados aos animais controles. Não observamos alteração na expressão de RNAm de NPY e POMC no ARC nos grupos que receberam dose única ou repetida de LPS, quando comparada ao grupo salina. Os presentes dados confirmam a ativação do eixo HHA, produção de TNF- α e aumento da expressão de CRF no PVN após estímulo único com LPS. Adicionalmente, observamos que a hipofagia durante a endotoxemia está associada ao aumento de CART no ARC, porém sem participação dos neuropeptídeos POMC e NPY. Observamos também que o fenômeno de dessensibilização, em resposta à exposição repetida ao LPS, envolve o bloqueio da ativação do eixo HHA e da resposta anorexígena, os quais estão associados à redução da produção de TNF- α e da expressão de CRF e CART no hipotálamo.

GENÉTICA

EXPRESSÃO GÊNICA EM OÓCITOS BOVINOS ASSOCIADA À COMPETÊNCIA DE DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO

Fernando Henrique Biase

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Regina Martelli

Tese de Doutorado apresentada em 12/04/2007

Oócitos possuem RNAm e proteínas necessárias ao primeiro estágio do desenvolvimento embrionário, sendo que qualidade e quantidade de transcritos podem estar associadas ao potencial do oócito em desenvolver um embrião. Com base na hipótese geral que oócitos com diferentes potenciais de desenvolvimento embrionário possuem expressão gênica diferencial, os objetivos desse trabalho foram: (1) analisar comparativamente a quantidade de RNAm global em oócitos com alto e baixo potencial de desenvolvimento antes da maturação *in vitro* (MIV), após a MIV e

durante o desenvolvimento embrionário; (2) identificar genes com expressão limitada a oócitos, caracterizar a expressão em tecidos bovinos e comparar a abundância desses transcritos nos oócitos com alto e baixo potencial de desenvolvimento, bem como durante o desenvolvimento embrionário; (3) desenvolver um modelo retrospectivo de estudo que permita usar a informação do oócito nas análises de associação de elementos citoplasmáticos com seu potencial de desenvolvimento e, utilizando esse modelo retrospectivo, comparar a quantidade de RNAm entre oócitos que se desenvolvem e não se desenvolvem a blastocisto; (4) caracterizar funcionalmente os genes expressos em oócitos bovinos após a MIV. Os resultados mostraram que a classificação morfológica de COCs pode separar oócitos

com alto e baixo potencial de desenvolvimento antes da MIV. Os oócitos com alto potencial de desenvolvimento possuem, em geral, maior quantidade de RNAm quando comparados aos oócitos de baixo potencial de desenvolvimento. Comparado com o oócito não maturado, após a MIV a quantidade de RNAm foi reduzida a 0,69 x, diminuindo para 0,1 x em 2 células. Um aumento de ~4 x foi observado em embriões de 4 células, quando comparados embriões de 2 células. Uma nova redução na quantidade de RNAm foi evidenciada em 8 células e blastocistos, com novo aumento nos blastocistos eclodidos (~9 x). Oito genes foram identificados como provavelmente expressos exclusivamente em oócitos. Dois foram escolhidos para validação experimental em oócitos, embriões e tecidos somáticos e gonadais, sendo observada a expressão do gene *Pabpn1* apenas em oócitos e o gene *Mbd312* apenas em embriões nos estágios de 4, 8 células e mórula. Oócitos com alta competência de

desenvolvimento apresentaram maior quantidade de transcritos dos genes *Pabpn1* (1,7 x) e *Gapdh* (1,38 x), e oócitos de baixa competência de desenvolvimento não apresentaram transcritos do gene *Pabpn1* após a MIV. Um modelo retrospectivo de estudo da capacidade do oócito se desenvolver a blastocisto foi desenvolvido e validado. Entre os oócitos com alto potencial de desenvolvimento, após a MIV, não encontramos diferença de quantidade de RNAm entre aqueles que se desenvolveram, quando comparados aos que tiveram desenvolvimento bloqueado. O modelo permitiu ainda realizar análise funcional em larga escala dos genes expressos nos oócitos com alto potencial de desenvolvimento, com identificação de 9553 transcritos diferentes. De forma geral, as proteínas da maioria dos genes transcritos foram relacionadas a processos fisiológicos celulares ou metabólicos, com função de ligantes de outras proteínas ou ácidos nucleicos, no interior da célula.

EFEITOS DA PRÓPOLIS DE ABELHAS AFRICANIZADAS E MELIPONÍNEOS EM MICROORGANISMOS

Ana Paula Farnesi

Orientador: Prof. Dr. Ademilson Espencer Egea Soares
Dissertação de Mestrado apresentada em 19/04/2007

O presente trabalho teve por objetivo estudar a atividade antifúngica e antibacteriana de diferentes tipos de própolis, tanto de abelhas africanizadas (verde) quanto meliponíneos. A concentração inibitória mínima, sendo a menor concentração de um agente inibidor em que não se observa o crescimento macroscópico do microorganismo, foi determinada para todas as amostras de própolis. Para análise do perfil químico das amostras foi utilizada como metodologia (CLAE), visando determinar as classes de subs-

tâncias presentes nas amostras de própolis. Em todos os microorganismos testados as própolis das abelhas *Tetragonisca angustula*, *Plebeia droryana*, *Scaptotrigona bipunctata*, *Friesiometlitta varia* e *Nannotrigona testaceicornis* não apresentaram atividade antifúngica nem antibacteriana. Nenhuma das amostras de própolis testadas apresentou atividade antifúngica frente ao *Aspergillus nidulans*. A linhagem do fungo *Trichophyton rubrum* mostrou-se sensível a alguns tipos de própolis sendo que a própolis verde foi mais eficaz. Alguns tipos de própolis apresentaram atividade antibacteriana, indicando a importância dessas resinas na terapêutica humana e veterinária.

ESTUDO CITOGÊNÉTICO E MOLECULAR DE UMA POPULAÇÃO DE ALCOOLISTAS

Carla Ivane Ganz Vogel

Orientadora: Profa. Dra. Catarina Satie Takahashi
Tese de Doutorado apresentada em 27/04/2007

O alcoolismo é uma doença multifatorial que consiste numa interação de influências genéticas e ambientais, sendo um dos principais causadores de danos à saúde. Deste modo, é muito importante a realização de estudos que envolvam a investigação de danos provocados ao material genético pelo consumo excessivo de bebidas alcoólicas bem como daqueles que investiguem a susceptibilidade individual às doenças causadas pelo alcoolismo. As aberrações cromossômicas e os polimorfismos para enzimas de metabolização de xenobióticos são importantes instrumentos para estes estudos. Neste trabalho foram investigados o possível efei-

to clastogênico do álcool e também a possível associação entre a ocorrência dos genótipos nulos *GSTM1* e *GSTT1* e dos polimorfismos *CYP1A1-MspI*, *CYP2D6-BstNI* e *CYP2E1-PstI* com o desenvolvimento de cirrose e pancreatite, além da frequência da mutação *TaqA1* do gene *DRD2* em alcoolistas. Os indivíduos analisados foram alcoolistas com consumo diário de álcool >60g. Para a análise de AC foram analisados 26 alcoolistas e 22 indivíduos controles. Para o estudo dos polimorfismos genéticos a amostra compreendeu 124 alcoolistas crônicos e 124 controles. Os alcoolistas não-fumantes apresentaram um valor de IM maior do que os controles não-fumantes ($p = 0,03$). As frequências de ACs nos alcoolistas não foram diferentes das do grupo controle. Não foram encontradas associações de risco entre os genótipos nulos dos genes *GSTM1* e *GSTT1*, e os genótipos

mutantes de CYP2D6 e CYP2E1, e o desenvolvimento de cirrose e pancreatite. O genótipo homocigoto mutante m2/m2 do gene CYP1A1 apresentou um risco significativo para

o desenvolvimento de cirrose e pancreatite em alcoolistas. Não foram encontradas frequências significativas na ocorrência do alelo A1 do gene DRD2 em alcoolistas.

CARIÓTIPO ESPECTRAL (SKY) APLICADO AO ESTUDO E DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS DO SANGUE

Fábio Morato de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Tone

Tese de Doutorado apresentada em 27/04/2007

Com o advento do cariótipo espectral (SKY) a identificação de alterações cromossômicas em diversos cariótipos complexos tem sido realizada com sucesso. O SKY envolve a utilização de 24 sondas, cromossomo-específicas, permitindo a visualização de cada cromossomo em um único experimento. Essa metodologia utiliza os princípios de imagem espectral e espectroscopia de Fourier. Os objetivos desse estudo foram a aplicação do SKY a um painel de 8 neoplasias, em pacientes adultos, (Leucemia pro-linfocítica T, LPL-T; Leucemia linfoblástica aguda, LLA Ph+; Leucemia mielóide crônica, em crise blástica, LMC CB; Linfoma da zona do manto, LZM; síndrome mielodisplásica em associação à doença de Behçet, SMD-Behçet e três casos de leucemia mielóide aguda, subtipos M2, M4 e M5a) e em dois casos de leucemia da infância (LMC-CB e LLA-L3) com cariótipo anormal, visando-se determinar translocações crípticas, melhor definir rearranjos cromossômicos complexos observados pelo bandamento GTG e correlacionar os achados citogenéticos obtidos com a evolução clínica dos pacientes. Em 6 amostras investigadas foram encontradas alterações cromossômicas não descritas na literatura. Em 4 casos foi observado a co-existência de alterações cromossômicas específicas no mesmo paciente. O valor prognóstico relacionado à presença dessas alterações ainda não está bem definido. A análise de alterações cromossômicas com o SKY representa uma estratégia inédita nos casos de LPL-T. Nesse paciente foi possível a confirmação de duas translocações, envolvendo os cromossomos sexuais, identificação do anel, r[i(8)(q10)], e cromossomo marcador (cromossomo 5), presumivelmente decorrentes de instabilidade genômica. No paciente com diagnóstico de LLA Ph+ e presença da ins(15;14)(q22;q13q32), embora não se saiba quais as verdadeiras consequências moleculares e fenotípicas da presença da inserção, o provável rearranjo molecular entre os *loci* *TCRK/L* (14q13) e *PML* (15q22) pode resultar na expressão de um fenótipo consistente com leucemia linfóide, como observado nesse paciente. A co-existência de duas translocações cromossômicas específicas [t(8;14) e t(12;21)], associadas a fenótipos leucêmicos distintos, na LLA da infância representa um evento raro. Considerando os valores prognósticos individuais das translocações encontradas é provável que essa co-existência favoreça a manutenção de um prognóstico desfavorável.

Algumas alterações cromossômicas encontradas na LMC em crise blástica constituem novas anormalidades associadas a essa fase da doença. A t(2;14)(p12;q32), presumivelmente, envolvendo duas regiões específicas associadas a neoplasias de linhagem B (*IGK* e *IGH*), sugere uma estreita relação com a morfologia linfóide observada nesse paciente. A t(5;17)(q13;q21), descrita pela citogenética clássica como del(5)(q31), representa um exemplo da especificidade e maior resolução do SKY, quando comparado a citogenética clássica, na elucidação de alterações citogenéticas. O impacto acerca do prognóstico dessas alterações na LMC é complexo, heterogêneo e normalmente associado a diversos fatores. Pouco se conhece a cerca das implicações clínicas de anormalidades cromossômicas secundárias em linfomas. Entretanto, alterações associadas à banda 8q24, especialmente ampliações relacionadas ao gene *MYCC*, raras em LZM, estão associadas a um prognóstico desfavorável nesse subtipo de linfoma, conforme observado no paciente. Ainda nesse contexto, é importante ressaltar que alterações cromossômicas secundárias podem determinar o curso clínico de pacientes com LZM, mesmo se os parâmetros morfológicos e imunofenotípicos falharem em prever um prognóstico desfavorável. A associação entre SMD e doença de Behçet constitui-se um evento raro. A trissomia do cromossomo 8 sugere que essa anormalidade predisponha ao surgimento do fenótipo de Behçet. Entretanto, a presença de anormalidades cromossômicas adicionais, comumente encontradas em neoplasias mielóides, e observadas nesse paciente, conferir a essa anormalidade (trissomia 8) um valor prognóstico desfavorável. Na LMA-M2, o papel desempenhado pela t(5;11)(q35;q13) na leucemogênese é indefinido. Entretanto, essa investigação confirma a observação inicial de que não apenas a banda 11q23, mas anormalidades envolvendo a região proximal do braço longo do cromossomo 11, em particular a banda 11q13, podem estar associadas a rearranjos cromossômicos com outros cromossomos. A elevada diversidade de mutações e fusões protéicas associadas ao gene *MLL*, resultantes de rearranjos cromossômicos com uma variedade de genes parceiros, sugere a provável existência de múltiplos mecanismos moleculares para a leucemogênese. Embora, ainda não se saiba o valor prognóstico associado à presença da t(3;11;10), na LMA-M5a, presume-se que o provável envolvimento com os *loci* *BCL6* e *p63* (3q27) possa contribuir para a estratificação no prognóstico, já considerado desfavorável, em pacientes com anormalidades envolvendo a banda 11q23.

AValiação DA FERTILIDADE *in vitro* DE TOUROS DA REPRODUÇÃO PROGRAMADA E DA SOBREVIVÊNCIA DE EMBRIÕES PÓS-B

Fernanda Prado Elias

Orientador: Prof. Dr. Raysildo Barbosa Lôbo

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/04/2007

A biotecnologia reprodutiva tem despontado atualmente no cenário mundial como uma das ferramentas mais importantes para o desenvolvimento da pecuária já que acelera o processo de melhoramento genético dos rebanhos. O objetivo deste trabalho é verificar o efeito do touro e da biópsia na fase de 8-16 células na sobrevivência desses embriões produzidos *in vitro*. Para tanto, oócitos foram coletados de ovários oriundos de matadouro e maturados em meio de maturação em incubadora por 24h. Espermatozoides viáveis de 10 touros do Programa de Melhoramento Genético da Raça Nelore, obtidos por centrifugação em gradiente de Percoll, foram utilizados para Fecundação *in vitro*. Após 12h, os supostos zigotos foram cultivados em meio de cultivo e células do cumulus em incubadora.

Para cada touro foram formados um grupo teste e um grupo controle, com três repetições seguidas. No 3º dia de cultivo foi realizada a remoção dos embriões com número de células inferiores a 8 dos dois grupos, e os embriões do grupo teste sofreram a retirada de um blastômero com o auxílio de micropipetas e de um micromanipulador acoplado a um microscópio invertido. O cultivo prosseguiu até 168 horas da fertilização, quando foi feita a classificação dos embriões viáveis em blastocisto eclodido, blastocisto expandido (Bx), blastocisto (Bl) e blastocisto inicial (Bi), conforme características morfológicas. Os resultados mostraram que os touros diferem na produção de embriões *in vitro* nos dois grupos e no desenvolvimento de Bi, o procedimento de biópsia não interferiu no desenvolvimento de embriões totais, influenciando apenas no desenvolvimento de Be e Bx e há correlação positiva entre o desenvolvimento de embriões *in vitro* intactos por touro e a sua sobrevivência pós-biópsia.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE TRANSCRITOS GÊNICOS ENVOLVIDOS NA RESPOSTA E RESISTÊNCIA DE *Trichophyton rubrum* AOS ANTIFÚNGICOS FLUCONAZOL, ANFOTERICINA B E NISTATINA

Fernanda Gonzáles Paião

Orientadora: Profa. Dra. Nilce Maria Martinez Rossi

Tese de Doutorado apresentada em 02/05/2007

O entendimento dos mecanismos moleculares de resistência a antimicóticos pode ser de grande auxílio para o desenvolvimento de novos antifúngicos, através da descoberta de novos alvos e também para o refinamento e melhor administração de drogas já empregadas no tratamento de *Trichophyton rubrum* e de outros fungos patogênicos. Diante disso, o presente trabalho propõe o isolamento e a identificação de transcritos gênicos envolvidos na resposta e nos mecanismos moleculares de resistência de *T. rubrum* aos antifúngicos fluconazol, anfotericina B e nistatina. Com essa finalidade, foram realizados experimentos de expressão gênica diferencial (*Differential Display* e Híbridação Substrativa Supressiva) envolvendo a linhagem H6 (selvagem) exposta e não exposta aos antifúngicos acima mencionados e também linhagens mutantes F6 (resistente ao fluconazol) e N1 (resistente a nistatina). Dentre os genes responsivos ao fluconazol que tiveram sua expressão validada por *Northern Blot* estão transcritos similares a genes que codificam as seguintes proteínas: NIMA *interactive protein* (TINA) envolvida na divisão celular; *Copper resistance-associated P-type ATPase*, responsável por homeostase celular do cobre, *Carboxylic ester hydrolase*, relacionada ao metabolismo de lipídios e uma *DEAD helicase*, envolvida na transcrição. Os genes relacionados com o mecanismo

de resistência ao fluconazol codificam proteínas similares a três proteínas da via proteassomo-ubiquitina (*Translation initiation factor 3*, *proteasome subunit 3* e *transcriptional factor C2H2*); outras três relacionadas ao metabolismo de lipídios (*lysophospholipase*, *Phosphatidylethanolamine methyltransferase* e *Related to ethanolaminephosphotransferase*); duas proteínas da via de decaimento de RNA (*eukariotic peptide chain release* e *regulator of nonsense transcripts*) e uma proteína relacionada à biogênese celular. Um número significativo de genes que codificam proteínas relacionadas à resposta ao estresse causado por danos à membrana celular foi ativado na presença dos polienos, como por exemplo, os que codificam enzimas similares a diferentes HSPs (*Heat shock proteins*), como o transcrito similar a proteína HSP90, que apresentou alta expressão na presença de nistatina. Genes relacionados ao transporte celular também foram responsivos aos polienos, sendo que o gene que codifica uma *H⁺-ATPase* teve sua expressão confirmada por *Northern Blot* em resposta a anfotericina B e a nistatina. A clusterização destes genes foi fundamental para revelar possíveis mecanismos de resistência de *T. rubrum* ao fluconazol e, aos polienos anfotericina B e nistatina. Também foi realizado o mapeamento físico de dois genes (provenientes dos experimentos de expressão gênica) de *T. rubrum* usando eletroforese em campo pulsado (CHEF). Estes resultados demonstram que a atuação de genes de diferentes vias de *T. rubrum* é necessária para uma resposta adequada aos antifúngicos testados, revelando possíveis alvos celulares para o desenvolvimento de novas classes de antifúngicos.

POLIMORFISMO DOS GENES MUC1 E OSTEOPONTINA EM NOVILHAS DA RAÇA NELORE (*Bos taurus indicus*)

Fábio Ricardo Pablos de Souza

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Regina Martelli

Tese de Doutorado apresentada em 03/05/2007

A MUC1 e a osteopontina são glicoproteínas expressas na superfície luminal uterina com funções na proteção e adesão celular. A MUC possui função antiadesiva, enquanto a osteopontina desempenha função adesiva. A expressão de ambas é regulada pelo hormônio esteróide progesterona. Durante a fase receptiva do útero, a MUC1 é inibida por este hormônio, enquanto a osteopontina é estimulada. O objetivo deste trabalho é caracterizar o polimorfismo genético destas moléculas e analisar a associação entre o polimorfismo, a taxa de gestação e as diferenças esperadas na progênie (DEP) em novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*). A amostra foi constituída por 309 novilhas procedentes de duas fazendas participantes do Programa de Melhoramento Genético da Raça Nelore (PMGRNUSP). A amostra da primeira fazenda incluiu 56 novilhas férteis e foi utilizada para caracterização do polimorfismo e da estrutura do VNTR MUC1 na raça Nelore. A segunda amostra foi constituída por 76 novilhas com resultado positivo de gestação e 156 com resultado negativo de gestação e foi utilizada para caracterização do polimorfismo dos genes MUC1 e da osteopontina na raça Nelore, assim como para análise da

associação entre os polimorfismos e os fenótipos. O gene MUC1 apresentou 5 alelos constituídos por um VNTR formado por uma seqüência de 60 nucleotídeos. A seqüência da repetição *consensus* foi idêntica às seqüências descritas em caprinos e em *Bos taurus*. Descrevemos a seqüência de uma terceira repetição *consensus* na raça Nelore. O alelo 1 apresentou 10 repetições, o alelo 2 apresentou 12 repetições, o alelo 3 apresentou 15 repetições, o alelo 4 foi formado por 18 repetições, e o alelo 5 apresentou 24 repetições. O alelo com menor número de repetições apresentou a maior freqüência, sendo 0,70 na amostra do 1º grupo e 0,80 na amostra do 2º grupo. Em seguida, os alelos 2 e 3, alelos 4 e 5. A análise estatística não evidenciou associação entre o polimorfismo do gene MUC1 e a taxa de gestação e entre o polimorfismo e os valores esperados na progênie. Na amostra referente às novilhas da segunda fazenda, não identificamos o polimorfismo de nucleotídeo simples no íntron 4 (T/C) do gene da osteopontina, como descrito na raça Holstein. Sugerimos que a ausência deste polimorfismo possa constituir uma característica específica em *Bos taurus indicus*. Porém, dada a associação já descrita entre polimorfismo do gene da osteopontina e características de crescimento, não descartamos a hipótese de que, assim como o MUC1, tenha ocorrido uma seleção indireta devido aos critérios aplicados pelo Programa de Melhoramento Genético da Raça Nelore.

ANÁLISE DO TRANSCRIPTOMA DURANTE A ANTOGENIA DO TIMO

Danielle Aparecida Rosa de Magalhães

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Aleixo da Silva Passos Júnior

Tese de Doutorado apresentada em 10/05/2007

O timo é um órgão complexo estruturado por um estroma, o qual é formado principalmente por células epiteliais corticais (cTECs) e por células epiteliais medulares (mTECs) além de outros tipos celulares como células dendríticas (DC), macrófagos, linfócitos B e fibroblastos. Além disso, os precursores das células T originados da medula óssea chegam ao timo (timócitos) se maturando em linfócitos T, os quais migram para a periferia. O timo é, portanto, o local de eventos muito importantes durante a maturação do sistema imune, incluindo o controle de sua própria homeostase. No presente estudo, procuramos retratar as principais características do timo por meio da análise da expressão gênica em grande escala, isto é, descrevendo parte de seu transcriptoma. Fizemos uso da tecnologia dos cDNA *microarrays* em duas versões. Na primeira delas utilizamos cDNA *microarrays* construídos em lâminas de vidro e sondas fluorescentes marcadas com fluorocromos Cy3 ou Cy5 e, na segunda versão utilizamos cDNA *microarrays* em membranas de náilon e sondas radioativas mar-

cadadas com o isótopo ³³P. Para a análise dos dados, utilizamos programas de bioinformática dedicados, tais como o SAM (*Significance analysis of microarrays*) e o *Cluster and TreeView*. Três conjuntos de resultados foram possíveis. No primeiro conjunto observamos a ocorrência da expressão gênica promíscua (PGE) de antígenos de tecidos/órgãos parenquimatosos (TSAs), demarcando sua emergência temporal durante a ontogenia do timo murino, a qual é influenciada pelo *background* genético das linhagens isogênicas estudadas. A ocorrência da PGE no timo é associada às bases genético-moleculares da indução de tolerância imunológica nas células T, contribuindo com a prevenção da auto-imunidade. O segundo conjunto de resultados consistiu na análise da expressão gênica do timo de camundongos nocautes (KO) envolvendo genes importantes para a maturação das células T, tais como TCR κ , LAT, Rel-b, RAG-1 e CD3M, possibilitando a observação de seus efeitos na regulação da transcrição neste órgão. Finalmente, o terceiro conjunto consistiu na definição da dissecação molecular virtual do timo. Por meio de perfis de expressão gênica particulares exibidos por cada tipo principal que povoa o timo, foi possível dissecar este órgão usando a tecnologia dos cDNA *microarrays*.

A VIA DE SINALIZAÇÃO INSULÍNICA (IIS) NA DIFERENCIAÇÃO DE CASTAS EM *Apis mellifera*

Sérgio Vicente de Azevedo

Orientador: Prof. Dr. Klaus Hartmann Hartfelder

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/05/2007

O polifenismo facultativo, observado entre rainhas e operárias em insetos altamente eussociais tem como estímulo inicial uma alimentação diferencial na fase larval que afeta tanto o desenvolvimento geral das larvas quanto a diferenciação de órgãos e sistemas, principalmente o sistema reprodutor das fêmeas. A via de sinalização por insulina (IIS) é uma das principais vias que integra o desenvolvimento geral de animais com as suas condições nutricionais. O objetivo desse trabalho foi verificar possíveis relações entre a via de sinalização por insulina e a diferenciação das castas em abelhas *Apis mellifera*. A partir de análises do genoma de *Apis mellifera* anotamos genes integrantes desta via e verificamos que há dois genes codificadores para receptores de insulina, *InR1* (GB15492) e *InR2* (GB18331), dentro de cada casta, como também entre as duas castas. Em rainhas verificamos uma interessante variação na transcrição de *InR1*, que no terceiro instar larval foi cerca de cinco vezes maior que a transcrição de *InR2* e no quarto instar seguiu em níveis semelhantes ao de *InR2*. Essa variação de *InR1* pode estar relacionada ao teor de proteínas da geléia real oferecida às larvas de rainhas no

terceiro instar, que é maior do que teor de proteínas da geléia real oferecida a partir do quarto instar larval. Para as amostras de larvas de operárias observamos que os níveis dos transcritos dos dois receptores, *InR1* e *InR2*, foram baixos no terceiro estágio larval e aumentaram, de maneira semelhante, até o início do quinto estágio larval, o que pode ter sido devido a algum composto existente na geléia de operária que estimule a transcrição dos genes para os receptores de insulina. Foram feitas análises complementares dos níveis de transcrição dos genes *InR1* e *InR2*, em amostras de ovários, tanto de operárias quanto de rainhas, e em amostras de operárias adultas cultivadas em diferentes tipos de alimentações. Essas análises complementares evidenciaram que a transcrição dos genes para os receptores de insulina em *Apis mellifera* foi diferente nos ovários de ambas as castas, quando comparada às amostras de corpo inteiro, e que em operárias o transcrito do *InR1* foi dominante ao longo de quase toda a vida adulta, sendo superado pelo transcrito *InR2* apenas por volta de 13 e 15 dias. Além disso, uma relação positiva entre o conteúdo de proteína e a transcrição de *InR1* foi observada quando analisamos a sua transcrição em amostras de operárias adultas alimentadas com *bee bread*, uma dieta rica em proteína. Os resultados obtidos nesse trabalho, juntamente com os de Wheeler e colaboradores (2006), Seehus e colaboradores (2006), e Patel e colaboradores (2007), constituem as primeiras informações da via IIS em *Apis mellifera*, e servirão de base na busca da relação entre a dieta e os sinais downstream envolvidos na determinação de casta e diferenciação.

ORIGEM, DISTRIBUIÇÃO E RELAÇÃO GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE *CAPRA HIRCUS* DO NORDESTE DO BRASIL E SUA RELAÇÃO COM POPULAÇÕES DO VELHO MUNDO

Joelliton Domingos de Oliveira

Orientadora: Profa. Dra. Eucleia Primo Betioli Contel

Tese de Doutorado apresentada em 18/05/2007

O parentesco e a estrutura genética de catorze populações de cabras domésticas (*Capra hircus*) foram estimados com base nos dados de genotipagem (n=140) a partir de 13 locos microssatélites. Utilizamos análise de variância molecular (AMOVA), análise do componente principal (PCA) e estatísticas F (F_{IS} , F_{IT} e F_{ST}) para avaliar a diversidade genética (H_o , H_e e ad) desses animais. As distâncias genéticas entre as 14 populações foram calculadas a partir dos dados de frequência para os 13 marcadores microssatélites. Uma diferenciação moderada foi observada para as populações sem raça definida (incluindo a raça Anglo-Nubian-M), raças brasileiras nativas (Moxotó, Canindé), linhagens exó-

ticas puras (Alpine, Saanen, Toggenbourg e Anglo-Nubian) e o grupo nativo brasileiro Graúna. A AMOVA mostrou que a maior parte da variação genética total (88,51%) resultou das diferenças entre indivíduos dentro das populações, enquanto que a variação entre as populações correspondeu aos 11,49% restantes da variação genética. Usamos a matriz da distância genética de Reynolds e PCA para produzir um fenograma baseado nas 14 populações de cabras domésticas e encontramos três grupos, formados pelas populações sem raça definida, raças nativas e raças exóticas puras. A maior proximidade entre a raça Canindé do estado brasileiro da Paraíba e a raça Graúna do mesmo estado, do que com a raça geneticamente conservada Canindé do estado brasileiro do Ceará, assim como os valores de heterozigose e desvios significativos do equilíbrio de Hardy-Weinberg sugerem que havia um número elevado de homocigotos nas po-

pulações estudadas, e indicam a importância do Estado para a conservação das populações locais. A catalogação do perfil genético das populações brasileiras de cabras domésticas fornece uma informação essencial para programas de melhoramento genético e de conservação.

Neste trabalho foi descrita a sequência nucleotídica de um fragmento de 130pb da região controle do DNA mitocondrial de 99 indivíduos representantes de 7 raças nativas e 3 populações sem raça definida de caprinos do Nordeste do Brasil. Juntamente com as sequências originárias de *Capra hircus* da Europa, África e Ásia, foram obtidos diagramas filogenéticos com a finalidade de inferir a respeito da origem, distribuição e genética de populações das linhagens mitocondriais de caprinos do Velho Mundo e do Nordeste do Brasil. As análises de Median-Joining (MJ) e de expansão revelaram a existência de sete haplogrupos para a linhagem A de *Capra hircus* com base na predominância

numérica e topológica dos haplótipos A1, A2, A3, A4, A5, A6 e A7, sendo que A3 seria o haplótipo ancestral de todos eles. Estes haplótipos e haplogrupos foram descritos pela primeira vez neste trabalho. Oriente Médio/Próximo, Índia e Paquistão se destacaram como possíveis centros de origem do haplótipo A3. A distribuição dos haplogrupos foi atribuída à ocorrência de correntes migratórias partindo destes centros de origem em direção às demais regiões estudadas (Norte da África, Sub-Saara, Norte e Sul da Europa, China e Nordeste do Brasil). No Nordeste brasileiro, foram encontrados os haplótipos A5 e alguns de seus derivados, como também, derivados de A1 e A2. A maioria destes haplótipos estava presente também no Sub-Saara e na Europa, demonstrando que populações da África e da Europa contribuíram geneticamente como as principais populações fundadoras durante a introdução dos caprinos no Nordeste do Brasil.

SUPER-EXPRESSION, SILENCIAMENTO E ANÁLISE DA REGIÃO PROMOTORA DE UMA METILTRANSFERASE ESPECÍFICA DO PISTILO DE NICOTIANA TABACUM

Ricardo Augusto de Oliveira Rodrigues

Orientadora: Profa. Dra. Maria Helena de Souza Goldman
Dissertação de Mestrado apresentada em 26/06/2007

A biologia da reprodução das plantas é uma área de crescente interesse. O pistilo é um órgão de importância central no processo reprodutivo. Há diversos genes que são exclusivamente expressos neste órgão. Entre estes, foi encontrado por nosso grupo de pesquisa, um que codifica uma proteína com alta similaridade as metiltransferases dos ácidos salicílico, jasmônico e benzóico. Os ésteres metilados destes ácidos atuam na regulação do desenvolvimento, reprodução, defesa e sinalização. Este gene foi denominado NtPMT1 (*Nicotiana tabacum* pistil methyltransferase 1).

Os objetivos desse trabalho foram: Quantificar a expressão do gene NtPMT1 no pistilo de plantas de *N. tabacum* selvagens; Estudar a função dessa metiltransferase, através de plantas transgênicas super-expressando NtPMT1 e plantas com este gene silenciado; Estudar a regulação da expressão através dos transgênicos promotor NtPMT1::GFP/GUS.

A expressão do gene NtPMT1 foi quantificada nos diferentes órgãos de plantas selvagens de *Nicotiana tabacum*. Para a análise, foram utilizadas amostras de raiz, caule, folha, sépala, pétala, estame, estigma/estilete e ovário. O RT-PCR em tempo real resultou em valores significativos de expressão somente no estigma/estilete e ovário, comprovando que o gene NtPMT1 é específico do pistilo.

Para tentar identificar a função deste gene, a região codificadora de NtPMT1 foi inserida por recombinação BP/LR (sistema Gateway) nos vetores de expressão em plantas pK7WG2 (super-expressão) e pK7GWIWG2(I) (RNAi),

resultando nos vetores pRROEM e pRRiM, respectivamente. Os dois vetores foram transferidos para *N. tabacum* via *Agrobacterium tumefaciens*. A transformação resultou em 11 (pRROEM) e 13 (pRRiM) transgênicos independentes, confirmados por PCR. A quantificação por RT-PCR em tempo real demonstrou que todos os transgênicos pRRiM apresentaram redução na expressão do gene NtPMT1. As plantas pRROEM apresentaram alta expressão do gene NtPMT1 em folhas e estames, porém, em estigma/estilete e ovário, nenhum transgênico apresentou expressão maior que no selvagem. A quantidade de sementes produzida nos transgênicos pRRiM e pRROEM não diferiu da planta selvagem ($p=0,05$). Todos os transgênicos foram fenotipicamente indistinguíveis da planta selvagem.

A região promotora do gene NtPMT1 foi clonada no vetor pKGWFS7, para regular a expressão da fusão GFP/GUS, resultando no vetor pRR4, que foi transferido para *N. tabacum* via *A. tumefaciens*. A transformação resultou em 9 transgênicos independentes, confirmados por PCR. Cinco transgênicos pRR4 foram escolhidos para análise fluorimétrica, com amostras coletadas de folha, estame, estigma/estilete e ovário. Duas plantas transgênicas apresentaram expressão significativa da enzima β -Glucuronidase somente no estigma/estilete. Dessa forma, nenhuma planta transgênica NtPMT1::GFP/GUS foi capaz de reproduzir completamente o padrão endógeno de expressão do gene NtPMT1.

A região promotora NtPMT1 (2,7kb) foi completamente sequenciada. A análise *in-silico* da sequência desta região promotora revelou diversos elementos regulatórios, com funções relacionadas à resposta a luz (42%), defesa (17%), controle da transcrição (17%), hormônios (14%) e

outras (10%). Dessa forma, para estudar a regulação da expressão do gene NtPMT1 por alguns destes fatores, foram realizados tratamentos de plantas transgênicas GFP/GUS com ácido salicílico, metil salicilato, metil jasmonato e lesão tecidual. Nenhum tratamento apresentou alterações características de indução ou repressão da fusão dos genes repórteres GFP/GUS. Na análise do fotoperíodo, em amostras coletadas nos períodos da manhã, tarde e noite, dois transgênicos apresentaram aumento na atividade da enzima β -Glucuronidase predominantemente no estigma/estilete à noite. Porém, quando repetidas as análises, não se verificou tal padrão. Provavelmente outros fatores ambientais, que não foram totalmente controlados nas análises, são importantes na regulação da expressão de NtPMT1.

Para elucidar a regulação por fotoperíodo da expressão do gene NtPMT1 endógeno e evitar eventuais artefatos resultantes do gene quimérico NtPMT1::GFP/GUS, quan-

tificou-se a expressão do gene NtPMT1 nas plantas selvagens ao longo do dia/noite. Para tal, foram analisadas amostras de estigma, estilete, ovário e nectário, coletados pela manhã, tarde e noite. A análise por RT-PCR em tempo real mostrou que a expressão do gene endógeno parece não ser regulada pela hora do dia. A análise das diferentes partes do pistilo mostrou claramente que o gene NtPMT1 apresenta duas regiões de maior expressão: o estigma e nectário. Tais regiões correspondem aos locais de produção de exudato e néctar, respectivamente.

O ensaio histoquímico em estigma/estile de plantas transgênicas NtPMT1::GFP/GUS mostrou expressão da enzima β -Glucuronidase no tecido vascular. Em alguns cortes do ovário encontrou-se expressão na placenta, parede do carpelo e saco embrionário. Tais resultados são diferentes dos obtidos pela análise de hibridação *in situ* do gene endógeno.

GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

EFEITOS DA TERAPIA HORMONAL TRANSDÉRMICA DE BAIXA DOSE SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL DE 24 HORAS EM MULHERES HIPERTENSAS NA PÓS-MENOPAUSA

Márcia Neves de Carvalho

Orientador: Prof.Dr. Marcos Felipe Silva de Sá
Tese de Doutorado apresentada em 22/05/2007

Objetivos: Verificar os efeitos da terapia hormonal (TH) transdérmica de baixa dose sobre a pressão arterial sistólica (PAS) e a diastólica (PAD) avaliadas pela monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA) de 24 horas, utilizando as áreas sob as curvas, as cargas de pressão, as médias de pressão e a variação vigília-sono em mulheres hipertensas na pós-menopausa. Verificar os efeitos dessa terapêutica sobre o lipidograma e os sintomas do climatério.

Pacientes e métodos: Vinte e quatro mulheres hipertensas na pós-menopausa foram selecionadas. O tratamento anti-hipertensivo padronizado foi maleato de enalapril, 10 a 20 mg/dia, associado ou não à hidroclorotiazida, 25 μ g/dia. Treze mulheres fizeram uso de adesivo transdérmico contendo estradiol e noretisterona (25 μ g e

125 μ g de substância ativa/dia, respectivamente) e 11 não fizeram TH. A MAPA, o lipidograma e os sintomas climatéricos foram avaliados no tempo basal e após 3 e 6 meses de seguimento.

Resultados: Não foi observada diferença estatisticamente significativa em nenhuma das variáveis da MAPA (PAS, PAD, carga pressórica sistólica, carga pressórica diastólica, área sob curva sistólica, área sob curva diastólica e variação vigília-sono) e no lipidograma, nos três tempos do estudo, entre os grupos e dentro de cada grupo. Houve redução estatisticamente significativa do índice menopausal de Blatt-Kupperman no grupo tratado, após 3 e 6 meses de seguimento.

Conclusões: A TH transdérmica de baixa dose por seis meses foi eficaz na melhora dos sintomas climatéricos e não alterou os valores nem a variabilidade da pressão arterial de mulheres menopausadas com hipertensão arterial estágios 1 e 2, em uso de terapia anti-hipertensiva.

EFEITOS DO TREINAMENTO FÍSICO SOBRE A MODULAÇÃO AUTÔNOMICA DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E A CAPACIDADE AERÓBIA DE MULHERES PÓS-MENOPAUSA SEM O USO E EM USO DE TERAPIA HORMONAL

Daniel Iwai Sakabe

Orientador: Prof. Dr. Marcos Felipe Silva de Sá
Tese de Doutorado apresentada em 12/06/2007

O hipoestrogenismo, decorrente da fase pós-menopausa, determina uma série de alterações físicas, psicológicas e metabólicas na mulher, com piora significativa em sua

qualidade de vida. No entanto, são os efeitos da deficiência estrogênica a longo prazo que mais preocupam, pois podem levar a comprometimentos importantes, como as doenças cardiovasculares. Desta maneira, a terapia hormonal (TH) e o treinamento físico têm surgido como esquemas terapêuticos úteis para o controle das alterações presentes na pós-menopausa. **Objetivos:** o presente estudo teve como objetivos avaliar a modulação autonômica da frequência cardíaca (FC) e a capacidade aeróbia de mulheres pós-menopausa em uso ou não de TH, antes e após um programa de treinamento físico (PTF). **Casística e Métodos:** foram estudadas 18 mulheres sedentárias, divididas em 2 grupos, sendo: Grupo controle – 10 mulheres na pós-menopausa (50 a 60 anos) sem TH; Grupo TH – 8 mulheres na pós-menopausa (50 a 60 anos) com TH (valerato de estradiol + levonorgestrel). Ambos os grupos foram avaliados em dois momentos distintos: antes (avaliação) e após (reavaliação) um PTF de 3 meses de duração. Tanto na avaliação, como na reavaliação, as voluntárias foram submetidas a dois protocolos experimentais: protocolo 1 - para avaliação da modulação autonômica da FC, esta foi coletada em condições de repouso, nas posições supina e sentada, durante 15 minutos em cada posição; protocolo 2 - para avaliação da capacidade aeróbia, as voluntárias foram submetidas a um teste cardiopulmonar com protocolo incremental. Os índices avaliados no protocolo 1 foram: média da FC e dos intervalos R-R (iR-R), índice RMSSD dos iR-R, bandas de baixa (BF) e alta (AF) frequência da análise espectral, em unidades normalizadas, e razão BF/AF. No protocolo 2 foram comparados os valores de potência, consumo de oxigênio (VO₂) e FC no limiar de anaerobiose (LA) e no pico

do exercício. Para comparação entre os grupos estudados, foi utilizado o teste *t* de student não-pareado; para a comparação intra-grupo entre as condições de avaliação e reavaliação, o teste estatístico utilizado foi o *t* de student pareado. Nível de significância estabelecido em 5%. **Resultados:** em relação ao protocolo 1, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas tanto na comparação entre os grupos como na comparação entre as fases de avaliação e reavaliação, para os dois grupos estudados, em nenhum dos índices avaliados. Na análise dos resultados do protocolo 2, foram observadas diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre a condição de avaliação para a condição de reavaliação dos parâmetros potência e VO₂ no LA e no pico do exercício, para os dois grupos estudados. O grupo TH apresentou valores estatisticamente ($p < 0,05$) superiores do VO₂ na fase de reavaliação, quando comparado ao grupo controle. Ainda para o grupo controle, a FC no pico do exercício da reavaliação foi estatisticamente ($p < 0,05$) superior à da avaliação. **Conclusões:** o programa de treinamento físico realizado na intensidade do LA durante 3 meses promoveu ganhos aeróbios significativos, embora não tenha alterado a modulação autonômica da frequência cardíaca de mulheres menopausadas sem e em uso de terapia hormonal; tais ganhos parecem ser decorrentes principalmente de adaptações periféricas musculares. A terapia hormonal não teve influência importante sobre a variabilidade da frequência cardíaca e teve apenas efeito discreto sobre a capacidade aeróbia na reavaliação; esse efeito se deve possivelmente à reserva de vasodilatação presente em mulheres usuárias de reposição estrogênica, que se evidencia apenas em altas intensidades de exercício.

IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA

DESENVOLVIMENTO DE IMUNOTOXINA PARA TERAPIA ANTITUMORAL

Silvia Almeida Cardoso

Orientadora: Profa. Dra. Karla de Melo Lima

Dissertação de Mestrado apresentada em 26/04/2007

Imunotoxinas são compostos protéicos utilizados no tratamento de câncer, compostos por um anticorpo monoclonal ligado a uma toxina. A imunotoxina interage com antígenos na superfície de células cancerígenas, penetra nestas células por endocitose e exerce seu efeito citotóxico. As mais potentes imunotoxinas são produzidas de toxinas de bactérias e plantas. Proteínas inativadoras de ribossomo (RIPs) são N-glicosilases que depurinam a maioria

dos RNA ribossomais (rRNA), assim danificando ribossomos e impedindo a síntese de proteínas. RIPs são encontradas predominantemente em plantas superiores, mas também estão presentes em algas, fungos e bactérias. RIPs variam grandemente em suas propriedades físicas e efeitos sobre células. Baseado nas propriedades estruturais, RIPs vêm sendo classificadas em três tipos. RIPs tipo 2, como ricina e abri na, são proteínas heterodiméricas muito tóxicas que são constituídas por uma cadeia polipeptídica que possui atividade tóxica (cadeia A) ligada a uma cadeia lectínica com especificidade por galactose (cadeia B). Pulchelina é uma RIP tipo 2 isolada a partir de sementes da

planta *Abrus pulchellus tenuiflorus*, cujo fragmento de DNA que codifica a cadeia A da pulchelina foi previamente clonado e produzido de forma recombinante (rPAC) como proteína de fusão em *Escherichia coli*. Uma imunotoxina específica para o antígeno associado a tumor (Ca 19.9) foi preparada pela conjugação de rPAC, com mAb V12.22 (anti-

Ca19.9). Essa imunotoxina com pulchelina exerce atividade tóxica específica sobre linhagens celulares que expressam Ca19.9, reconhecidas pelo anticorpo V12.22, levando à inibição de proliferação de células alvo com IC50 (concentração que causa 50% de inibição) variando de 250pM a 3,25nM para ensaios com MTT ou vermelho neutro.

EFEITOS DO EXTRATO DA POLPA DO FRUTO DE *Tamarindus indica* L. SOBRE FUNÇÕES EFETORAS DE NEUTRÓFILOS HUMANOS ATIVADOS

Fabiana da Silva Paula

Orientadora: Profa. Dra. Yara Maria Lucisano Valim
Dissertação de Mestrado apresentada em 31/05/2007

Os neutrófilos são componentes do sistema imune inato responsáveis pela primeira linha de defesa contra patógenos invasores. Ao entrarem em contato com os microrganismos, estes são fagocitados e degradados por mecanismos dependentes e independentes de oxigênio, os quais correspondem aos processos denominados “burst” respiratório e desgranulação, respectivamente. Durante “burst” respiratório ocorre a produção de Espécies Reativa de Oxigênio (EROS) e na desgranulação são liberadas moléculas antimicrobianas, dentre as quais estão proteases como a elastase. Embora os mecanismos efetores realizados pelos neutrófilos tenham importância fundamental para a defesa do hospedeiro, em situações de intensa ativação celular, grandes quantidades de moléculas citotóxicas podem ser produzidas e liberadas no espaço extracelular, causando danos ao tecido. O acúmulo de EROS e enzimas proteolíticas no tecido hospedeiro está relacionado com a etiologia de várias doenças inflamatórias não infecciosas. Este fato tem levado a uma busca pelo entendimento dos mecanismos de ativação do neutrófilo, bem como substâncias que modulem as funções citotóxicas desta célula. Resultados promissores já foram obtidos em pesquisas com produtos naturais, principalmente provenientes de plantas. Trabalhos recentes demonstraram que o extrato da polpa do fruto de *Tamarindus indica* L. possui atividade antioxidante em sistemas não celulares e diante disso, neste estudo foram analisados os efeitos do extrato bruto da polpa do fruto de *T. indica*, bem como de suas frações, sobre a produção de EROS bem como sobre a desgranulação e a ativi-

dade da enzima elastase. Para analisar os efeitos do *T. indica* sobre a produção de EROS, foram realizados ensaios de quimioluminescência dependentes de luminol (QLlum) e lucigenina (QLluc), utilizando como estímulos o zimosan opsonizado (ZIops), o N-formil-metionil-leucil-fenilalanina (fMLP) e o Forbol-12-miristato-13-acetato (PMA). O extrato bruto inibiu de forma dose dependente a produção de EROS por neutrófilos ativados pelos três estímulos, sendo este efeito mais pronunciado ao utilizar o PMA como estímulo. As frações hexano e diclorometano também inibiram, de forma dose dependente, a produção de EROS induzida pelos três estímulos, sendo a hexano mais eficaz. Entretanto, as frações aquosa e butanólica causaram fraca inibição, sem relação com a dose. O efeito do extrato bruto de *T. indica* sobre um mecanismo efector independente de oxigênio foi verificado avaliando sua atividade sobre a liberação e a atividade da enzima elastase neutrofilica. Foi constatado que o extrato inibiu significativamente, de forma dose dependente, tanto a liberação quanto a atividade catalítica da enzima elastase. Utilizando os ensaios de exclusão ao corante azul de Tripán e de determinação da atividade da enzima lactato desidrogenase, verificou-se que o extrato bruto, bem como as frações aquosa, butanólica e diclorometano não possuem efeito citotóxico sobre os neutrófilos. Em concentrações elevadas, a fração hexano foi citotóxica, entretanto, nas concentrações que causaram os CI50, este efeito não foi verificado. Este trabalho mostra que o extrato da polpa do fruto de *T. indica* é capaz de modular mecanismos efetores dos neutrófilos dependentes e independentes de oxigênio. Estes resultados dão suporte para que sejam realizados estudos de purificação de princípio ativo e ensaios *in vivo* e clínicos para produção de fármacos a partir do fruto de *T. indica*.

PAPEL DE CCR5 NA MIGRAÇÃO DE CÉLULAS T REGULADORAS CD4+CD25+ NA PARACOC-CIDIOIDOMICOSE PULMONAR

Ana Paula Moreira

Orientador: Prof.Dr. João Santana da Silva
Tese de Doutorado apresentada em 01/06/2007

A paracoccidiodomicose (PCM) é uma doença crônica, granulomatosa, causada pela inalação de propágulos aéreos do fungo *Paracoccidioides brasiliensis*. As célu-

las T reguladoras CD4⁺CD25⁺ (Treg) estão presentes em lesões pulmonares de pacientes com PCM e podem estar envolvidas nos casos de recidivas, comumente relacionadas a esta micose. Como a migração dessas células é parcialmente dependente do receptor de quimiocina CCR5, avaliamos o papel do mesmo durante a infecção por *P. brasiliensis* em camundongos C57BL/6 e geneticamente deficientes de CCR5 (CCR5^{-/-}). Os dados obtidos neste estudo demonstraram que no dia 3 após a infecção, camundongos CCR5^{-/-} apresentam aumento significativo (p<0,05) da migração de células CD11b⁺, CD11b⁺CD11c⁺ e GR1⁺ para os pulmões, resultando em extensa lesão inflamatória. Contudo, no dia 15, os camundongos CCR5^{-/-} são capazes de controlar o crescimento e disseminação das leveduras e apresentam granulomas significativamente (p<0,05) mais compactos. As linhagens de camundongos apresentaram semelhante DTH e migração de linfócitos T e B para as lesões. Porém, na ausência de CCR5, a porcentagem de cé-

lulas T CD4⁺CD25⁺ foi significativamente (p<0,05) diminuída e o número de células FOXP3⁺ no pulmão foi menor quando comparado com camundongos selvagens. Após a transferência adotiva de células T CD4⁺CD25⁺ provenientes de camundongos selvagens para CCR5^{-/-} ocorreu um aumento significativo (p<0,05) da quantidade de fungos nos pulmões, enquanto que a transferência de células CD4⁺CD25⁻ promoveu um maior controle do crescimento das leveduras. Finalmente verificamos que a infecção por *P. brasiliensis* resulta em grande inibição da proliferação das células do baço de camundongos selvagens, a qual pode ser inibida pela adição de anticorpos anti-CTLA-4 ou anti-GITR. No entanto, camundongos CCR5^{-/-} não apresentam distúrbios na proliferação celular. Em conjunto os resultados revelam que CCR5 modula a migração e a função supressora das células T reguladoras CD4⁺CD25⁺ favorecendo a sobrevivência do fungo dentro dos granulomas.

AValiação DA APOPTOSE DE NEutrÓFILOS DO SANGUE PERIFÉRICO DE PACIENTES COM ARTRITE REUMATÓIDE EM DIFERENTES ESTÁGIOS DA DOENÇA

Daiani Cristini Oliveira Andrade

Orientadora : Profa.Dra. Yara Maria Lucisano Valim

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/06/2007

A Artrite Reumatóide (AR) é uma doença autoimune degenerativa que acomete 1% da população mundial, sendo mais comum em mulheres com idade entre 30 e 50 anos. É caracterizada principalmente por inflamações articulares persistentes que levam à conseqüente destruição da cartilagem. Durante o processo inflamatório ocorre influxo predominante e contínuo de polimorfonucleares neutrófilos (PMNs), os quais se acumulam na cavidade sinovial, fazendo da artrite reumatóide um protótipo de doença caracterizada pela inflamação neutrofílica.

Trabalhos anteriores mostraram que PMNs da sinóvia reumatóide apresentam um aumento em sua meia-vida e ainda, sugerem que a presença de citocinas pró-inflamatórias pode estar envolvida neste processo. A presença prolongada destas células ativadas no sítio inflamatório contribui para a lesão tecidual. Desta maneira, a apoptose dos neutrófilos é considerada o mecanismo chave para o controle do processo inflamatório. Sendo assim, este presente trabalho tem como objetivo esclarecer se esse “atraso” no processo de apoptose também é observado em neutrófilos da circulação de pacientes e se diferentes estágios da doença poderia contribuir para tanto, bem como relacio-

nar ao perfil de produção de algumas citocinas pró-inflamatórias como IL-12, IL-8, G-CSF, Mip-1 α e β e IP-10.

Através do monitoramento da exposição de fosfatidilserina pela marcação com Anexina-V, observamos que no sangue periférico de pacientes com AR, a população de neutrófilos que expõe o fosfolípide é menor que a observada nos indivíduos saudáveis. Tal fato parece depender do estágio da doença, uma vez que na população de neutrófilos de pacientes com AR em atividade foi observada uma porcentagem ainda menor de células apoptóticas quando comparada com àquela dos outros grupos analisados. Embora quando realizados os testes de análises estatísticas esses valores não tenham sido significantes, essa diferença entre os grupos analisados foi considerada relevante dentro do nosso contexto experimental.

Análises realizadas por citometria de fluxo, através de imunoensaio baseado em *beads* de captura revelaram níveis mais altos de IL-8 e IL-12 também no soro de pacientes com AR ativa quando comparados aos níveis observados nos demais grupos (p<0,05). As concentrações de IP-10, Mip-1 α e β , também se mostraram maiores no soro destes pacientes. Ainda, observamos uma tendência para uma maior produção de G-CSF nestes pacientes com a doença em atividade, o que leva à uma maior liberação de neutrófilos na circulação destes pacientes, contribuindo para o aumento da inflamação.

NEUROLOGIA

UTILIZAÇÃO DA VOLUMETRIA PARA DISCRIMINAR IDOSOS NORMAIS DE PACIENTES COM DOENÇA DE ALZHEIMER E COMPROMETIMENTO COGNITIVO LEVE

Luciana Rodrigues Pinto Dantas

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos dos Santos
Dissertação de Mestrado apresentada em 20/04/2007

A diferenciação entre casos iniciais de doença de Alzheimer (DA), comprometimento cognitivo leve (CCL) e alterações próprias do envelhecimento pode não ser uma tarefa simples na fase inicial do processo. A volumetria da imagem de RNM é uma técnica quantitativa com capacidade para mensurar atrofia discreta de regiões específicas, o que pode ser utilizado para inferências sobre a progressão temporal da doença, especialmente quando dirigida para as estruturas temporais mesiais. Assim, o objetivo deste estudo é utilizar a volumetria de todo o encéfalo, lobo temporal, córtex entorrinal, amígdala, hipocampo e suas subdivisões (cabeça, corpo e cauda) tentando diferenciar entre pacientes e idosos normais. Estudamos três grupos pareados de 15 indivíduos, classificados como DA, CCL ou normais, por avaliações clínicas, neurológicas, neuropsicológicas e por RM. A volumetria global e das regiões foi normalizada pelo volume intracraniano. Todas as mensurações foram realizadas por delimitação manual, em imagens volumétricas de todo o encéfalo, com precisão de 1mm^3 , utilizando protocolos validados por outros autores. A confiabilidade intra-observador e inter-observadores foi testada em cinco casos. O modelo linear de efeitos mistos foi usado para com-

parações entre estruturas de um mesmo indivíduo e entre indivíduos dos diferentes grupos, com nível de significância de 5%. Não houve diferença significativa entre os lados direito e esquerdo, exceto para as medidas do lobo temporal em controles normais e pacientes com CCL onde o lado esquerdo foi menor. Não foram encontradas diferenças entre os grupos com a medida global do encéfalo. O volume do lobo temporal diferenciou DA de CCL e normais ($p < 0,01$), mas não CCL de normais. Resultado semelhante foi encontrado para a volumetria da amígdala e hipocampo. A volumetria do córtex entorrinal diferenciou apenas CCL de DA no lado direito, com tendência à esquerda, sugerindo problemas com a delimitação anatômica da estrutura. A segmentação da cabeça e cauda do hipocampo mostrou diferença significativa apenas entre DA e normais e o corpo do hipocampo mostrou resultados semelhantes àquelas encontradas para o hipocampo total. Em conclusão, em nosso estudo a volumetria se mostrou uma ferramenta útil para diferenciar pacientes com DA de pacientes com CCL e idosos normais, mas não foi possível diferenciar pacientes com CCL de idosos normais na nossa amostra. A volumetria de todo o encéfalo não foi discriminante. A volumetria do lobo temporal total, da amígdala e do hipocampo foi especialmente útil. Não encontramos vantagens da segmentação das sub regiões do hipocampo (cabeça, corpo e cauda) versus o hipocampo total.

MAPEAMENTO DO CÓRTEX SOMATOSENSORIAL ATRAVÉS DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL: POSSÍVEIS APLICAÇÕES CLÍNICAS EM ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO E EPILEPSIA EXTRATEMPORAL

Ana Paula Valadares

Orientador: Prof. Dr. Dráulio Barros de Araujo
Dissertação de Mestrado apresentada em 18/05/2007

Introdução: Um objetivo importante das técnicas quantitativas de neuroimagem é caracterizar a atividade normal do cérebro humano e determinar sua integridade funcional quando comprometido por diferentes enfermidades cerebrais, tais como Acidente Vascular Encefálico (AVE) e Epilepsia. Recentemente, com a evolução das imagens funcionais por ressonância magnética, *Functional Magnetic Resonance Imaging* (fMRI), abriu-se a possibilidade de se realizar o mapeamento de certas áreas cerebrais, de forma absolutamente não-invasiva. Por herança dos estudos de

tomografia por emissão de pósitrons, *Positron Emission Tomography* (PET), a tMRI utilizou, de início, exclusivamente, paradigmas em bloco, no qual o indivíduo realiza uma tarefa por um período de tempo relativamente longo e repousa por um período de igual duração. No entanto, algumas funções corticais podem apresentar processos de adaptação, ou habituação, como pode ser o caso do córtex somatosensorial. Uma maneira de minimizar o efeito de acomodação no sinal da tMRI é a utilização de paradigmas mais modernos, conhecidos por evento-relacionado (ER), em que o paciente é estimulado por um curto período de tempo e descansa por aproximadamente cinco vezes esse período. Ainda, esse tipo de paradigma toma-se bastante interessante na aplicação clínica, em especial por apresen-

tar resultados menos contaminados por artefatos de movimento. **Objetivos:** Este trabalho teve dois grandes objetivos principais: o primeiro foi desenvolver um dispositivo capaz de padronizar, com precisão, o estímulo tátil; o segundo foi comparar dois diferentes paradigmas, em bloco e ER, no mapeamento do córtex sensitivo, em indivíduos assintomáticos, em pacientes pós-AVEi (Acidente Vascular Encefálico isquêmico) e em crianças com epilepsia extratemporal. Paralelamente ao primeiro tentamos observar um possível fenômeno de habituação no córtex sensitivo. **Materiais e Métodos:** Desenvolvemos um dispositivo pneumático de idealização do estímulo tátil. Realizamos os exames em 35 voluntários com e sem o dispositivo, em sete pacientes pós-AVEi e quatro pacientes com epilepsia de lobo extratempo-

ral eleitos à cirurgia. **Resultados:** O dispositivo mostrou-se eficiente pra mapear o córtex sensitivo no paradigma em bloco e no paradigma ER mediante estimulação tátil manual ou com o uso do dispositivo ($p < 0,01$). Os achados em pacientes pós-AVEi e Epilepsia também demonstram eficiência no mapeamento do córtex sensitivo, sem no entanto demonstrar uma condição ideal para o mapeamento porque os resultados variam entre os indivíduos. **Conclusões:** Os resultados encontrados sugerem que ambos os paradigmas são eficientes para o mapeamento do córtex somatosensorial, pacientes pós-AVE parecem se beneficiar mais do paradigma em bloco. O paradigma ER é eficiente para o mapeamento do córtex sensitivo porém são necessários mais estudos para aplicação em pacientes.

EXAME DE AFASIA M1-ALPHA: UMA PROPOSTA PARA READEQUAÇÃO AO PORTUGUÊS

Fabiane Couto Garcia

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui
Dissertação de Mestrado apresentada em 30/05/2007

Desde meados do século XX vêm em contínuo crescimento as pesquisas em avaliação das afasias, sendo criados inúmeros testes em diferentes países. Alguns desses instrumentos de avaliação foram traduzidos e adaptados à população brasileira, dentre eles o Protocolo Montreal-Toulouse de Exame de Afasia M1-Alpha. A partir de então, o M1-Alpha é uma das baterias de testes de afasia mais citadas e aplicadas no Brasil, entretanto, sofreu algumas críticas desde sua adaptação à língua portuguesa. **Objetivo:** Deste modo, a presente dissertação teve como objetivo analisar as falhas do Exame de Afasia M1-Alpha expostas pela literatura, aplicar este instrumento de avaliação em 35 indivíduos sem alterações neurológicas, avaliar a necessidade de readaptação cultural e linguística pela conjugação dos resultados anteriores e sugerir modificações para o seu aprimoramento. **Método:** Para isso, foi realizada uma revisão de literatura sobre linguagem, afasia, avaliações das afasias, seus fatores interferentes, a concepção do Exame de Afasia M1-Alpha e a descrição de suas críticas e sugestões. Em seguida, selecionou-se 35 sujeitos sem alterações neurológicas, acompanhantes dos pacientes dos ambulatórios de neurologia do HCFMRP-USP, utilizou-se uma

anamnese enfocando o gênero, faixa etária, o nível de escolaridade, a nacionalidade, dominância manual, o multilinguismo, o hábito de leitura e de escrita. Após foi realizada a avaliação de linguagem com o M1-Alpha e foi solicitado aos participantes que descrevessem todas as figuras nele contidas. **Resultados:** Então foram coletados os dados, encontrando que 97,1% dos participantes cometeram algum erro nas provas do M1-Alpha, maior número de erros nas provas de expressão oral e compreensão escrita, ausência do aumento do grau de complexidade entre as provas de compreensão escrita com mais erros para palavras, mais erros para repetição que para leitura e denominação com diferença estatisticamente significativa, correlação entre escolaridade e compreensão escrita de frases complexas e cópia e falhas nas interpretações de algumas figuras em todas as provas. **Discussão:** Foram analisadas as críticas e sugestões, conjugados os dados da análise e dos resultados e direcionadas algumas sugestões para a readaptação do Exame de Afasia M1-Alpha. **Conclusões:** Comprovaram-se as vantagens na utilização do M1-Alpha e a necessidade de readaptação cultural e linguística deste instrumento, tais como: modificação de algumas figuras, inclusão de avaliação das habilidades pragmáticas, exclusão do artigo na ordem dada nas provas de compreensão, criação de oposições grafêmicas e alteração em alguns estímulos das provas de repetição e leitura em voz alta.

ESTUDO DA ETIOLOGIA DA PRIMEIRA CRISE EPILÉPTICA EM PACIENTES INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

Thaís Mourão Vasconcelos de Mattos

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui
Dissertação de Mestrado apresentada em 31/05/2007

Introdução: As crises epiléticas são complicações conhecidas da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, presentes em 4 a 11% dos pacientes. Conhecer a

causa das crises é importante para fins terapêuticos e profiláticos. **Pacientes e Métodos:** Estudamos cinquenta e dois pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) que apresentaram o primeiro episódio de crise epiléptica. Os dados foram coletados durante internação no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto no período de janeiro de 2002 a julho de 2005. **Resultados:** A maioria dos pacientes era do sexo masculino (65%) com idade média de 36,2 anos. Os pacientes possuíam condições definidoras de aids e contagem de lin-

fócitos T CD4+ média de 64/mm³. As prováveis causas mais comuns nos 52 pacientes estudados foram lesões expansivas, encefalopatia pelo HIV e meningite. A causa presumida mais comum foi toxoplasmose, encontrada em 18 (35%) pacientes. Nenhuma causa foi encontrada em seis pacientes (12%), apesar de investigação completa. **Conclusão:** Nosso estudo sugere que no nosso Hospital o primeiro episódio de crise epiléptica tem, na maioria das vezes, uma infecção oportunista como causa.

TRATAMENTO PROFILÁTICO INTERMITENTE DA CRISE FEBRIL: ESTUDO COM O CLOBAZAM E CLONAZEPAM

Francini Cruz Gomes da Fonseca Sepulcri

Orientadora: Profa. Dra. Regina Maria França Fernandes
Dissertação de Mestrado apresentada em 01/06/2007

A Crise Febril (CF) é um evento comum e próprio da infância, estimando-se que cerca de 2% a 5% das crianças apresentarão pelo menos uma crise epiléptica na vigência de febre nos primeiros anos de vida. Mesmo com elevado número de estudos sobre este tema, ainda há questionamentos referentes à melhor terapia, menor taxa de efeitos colaterais e à decisão de iniciar o tratamento. O tratamento profilático intermitente com benzodiazepínicos na CF é a terapêutica mais indicada na atualidade. Assim sendo, o presente estudo foi conduzido objetivando avaliar a eficácia do Clobazam e Clonazepam intermitentes, em crianças com CF que apresentassem pelo menos um fator preditivo de recorrência, analisando ainda os efeitos adversos das medicações e a associação da presença de fatores preditivos com recidiva de CF. Avaliamos prospectivamente crianças submetidas à profilaxia intermitente, atendidas no HCFMRP-USP, durante o período de abril de 2002 a outubro de 2004, sendo selecionados 96 pacientes de forma randomizada quanto à medicação prescrita, Clobazam 0,5mg/kg/dia ou Clonazepam 0,1mg/kg/dia. Vinte e sete crianças foram excluídas durante o seguimento por falta de adesão, não necessidade da utilização da profilaxia e evolução com crises afebris, sendo consideradas 71 crianças, 29 (40,8%) sub-

metidas à profilaxia com Clobazam e 42 (59,2%), com Clonazepam, tendo 2 crianças utilizado ambas as medicações devido à troca por efeitos colaterais. A eficácia do tratamento profilático intermitente foi demonstrada quando comparamos 2,9% dos quadros febris com recidivas, em vigência do uso adequado da medicação profilática, contra 56% com a não utilização ($p < 0,01$, X^2), sendo a taxa de recidiva de 2,5%, com a utilização do Clobazam e 3,4% do Clonazepam, sem diferenças entre os grupos ($p=0,676$, X^2). Os efeitos colaterais ocorreram em 52,1% das crianças, sendo transitórios e limitantes em apenas 1,4% destas, com predomínio de vômitos, no grupo do Clobazam ($p=0,033$, X^2), e de ataxia com o Clonazepam ($p=0,033$, X^2). Nossas crianças antes do tratamento apresentavam tendência à recidiva, demonstrada pelo número de fatores preditivos presentes (91,5% com mais de um fator) e pelo número de CF (66,2% com 2 ou mais CF) antes do tratamento. Após a introdução da profilaxia, houve recidiva de CF em apenas 8,4% das crianças que utilizaram a medicação, o que evidencia grande diminuição da expressividade destes fatores de risco sob efeito do tratamento. A introdução da profilaxia intermitente com Clobazam ou Clonazepam mostrou-se eficaz diminuindo significativamente o número de quadros febris com recidiva, quando as drogas foram utilizadas adequadamente. Os efeitos adversos foram transitórios na grande maioria, mas não limitantes. No âmbito geral, a introdução da profilaxia deve ser considerada em crianças com CF com presença de fatores preditivos de recidiva.

SCREENING DE UMA BIBLIOTECA DE EXPRESSÃO DE cDNA DE CEREBELO DE RATO USANDO-SE COMO SONDA O ANTICORPO ANTI-KM+ E EXPRESSÃO DE DREBRINAS EM DISPLASIA CORTICAL FOCAL IIB ASSOCIADA COM EPILEPSIA DE DIFÍCIL CONTROLE MEDICAMENTOSO

Roberta de Assis Maia

Orientador: Prof.Dr. Antonio Roberto Martins
Tese de Doutorado apresentada em 01/06/2007

p83 é uma proteína com massa molecular aparente de 83 kDa, supostamente ainda não descrita, específica de sistema nervoso, e desenvolvimento regulada. p83 interage

fortemente com laminina, Tau, tubulina e *heat shock protein* 90 β . p83 foi inicialmente detectada por imunohistoquímica e *western blot* usando-se um anticorpo anti-lectina KM⁺ purificado por afinidade. Sua purificação a partir de cérebro de rato está em progresso.

Identificar o envolvimento de p83 em processos do Sistema Nervoso Central humano é um passo necessário em direção à compreensão de sua função biológica. Uma biblioteca de expressão de cDNA de cerebelo de rato (Lambda ZAP II, Stratagene) foi submetida ao *screening*, usando-se um anticorpo específico para isolar o cDNA de p83. O anticorpo anti-KM⁺ foi pré-adsorvido contra proteínas de *E. coli* XL1 Blue MRF', antes de ser usado no *screening*. As membranas foram reveladas por imunodeteção cromogênica (fosfatase alcalina e NBT/BCIP). A análise de todos os clones Lambda ZAP II foi feita por excisão *in vivo* do fagomídeo pBluescript, subclonagem em *E. coli* XL1 Blue MRF', purificação do DNA plasmidial e digestão com Eco RI. A seqüência correspondente ao clone isolado foi analisada usando-se ferramentas e bancos de dados do NCBI.

A seqüência nucleotídica mostrou identidade com

as isoformas A e E de drebrina. As isoformas A e E de drebrina foram detectadas em adulto e embrião, respectivamente. Drebrina A é uma proteína sistema nervoso-específica, desenvolvimento regulada e associa-se com F-actina. Embora drebrina e p83 compartilhem propriedades em comum, nossos dados de *western blot* indicaram que parecem não se tratar da mesma proteína.

Nós investigamos a expressão de drebrina em Displasia Cortical Focal tipo IIB, comparando com córtex normal. As secções de tecido foram coradas com hematoxilina-eosina e prata (Bielchowsky). Secções foram processadas por imunohistoquímica usando-se os anticorpos anti-drebrina M2F6 e o DAS2, e recuperação antigênica. A detecção foi feita usando-se um anticorpo biotilado, e DAB como cromógeno. Os tecidos displásicos (13 casos) foram obtidos cirurgicamente de tecidos exibindo epilepsia droga-resistente. Os controles foram obtidos de necrópsia de 15 pacientes sem história prévia de doenças neurológicas ou alterações patológicas.

Nossos resultados sugerem uma associação entre drebrina e DCF IIB, um distúrbio do desenvolvimento cortical.

AVALIAÇÃO CLÍNICA E MOLECULAR DE PACIENTES COM OFTALMOPARESIA EXTERNA PROGRESSIVA E MUTAÇÕES DO DNA MITOCONDRIAL

Elmano Henrique Tôres de Carvalho

Orientadora: Prof Dra Cláudia Ferreira da Rosa Sobreira
Dissertação de Mestrado apresentada em 04/06/2007

PEO é uma manifestação comum das doenças mitocondriais. Pode estar relacionada a mutações primárias do mtDNA, apresentando-se como casos esporádicos ou com padrão de herança materna; ou podem estar relacionadas a deleções múltiplas do mtDNA secundárias às mutações do nDNA, neste caso apresenta-se com padrão de herança autossômico dominante ou recessivo. O estudo foi realizado com 5 pacientes com PEO e deleções múltiplas do mtDNA (grupo I) e 17 pacientes com PEO e mutações primárias do nDNA (grupo II). Foram descritos parâmetros clínicos, histoenzimológicos e moleculares e os grupos comparados entre si e com os relatos prévios da literatura. A média da idade de início dos sintomas em nossos pacientes foi de 42,2 anos no grupo I e 13,4 anos no grupo II. O sintoma inicial foi oftalmoparesia em todos os pacientes dos grupos I e II. Em quase todos os pacientes, PEO não foi o único achado da avaliação clínica. Os quadros clínicos mais frequentemente associados à PEO foram: fraqueza muscular (4 pacientes no grupo I e 10 pacientes no grupo II);

disfagia (3 pacientes no grupo I e 5 pacientes no grupo II); distúrbio da condução cardíaca (4 pacientes no grupo I e 7 pacientes no grupo II) e paresia facial bilateral (1 paciente no grupo I e 5 pacientes no grupo II). Outros achados clínicos relevantes menos frequentes foram mialgia, ataxia, déficit auditivo neurosensorial bilateral, polineuropatia e redução da capacidade vital pulmonar. Observamos aumento das dosagens séricas de CK em apenas 1 paciente de cada grupo (até 1,5 vezes o limite superior) e o lactato sérico dosado após esforço físico foi aumentado em 4 pacientes do grupo I e em 9 pacientes do grupo II (até 4,5 vezes o limite superior). Ao exame eletroneuromiográfico, a alteração mais frequente foi o padrão miopático em 1 paciente do grupo I e em 6 pacientes do grupo II; polineuropatia sensitivo-motora axonal foi evidenciada em 1 paciente de cada grupo. A avaliação anatomopatológica demonstrou proliferação mitocondrial subsarcolemal em várias fibras de todos os pacientes (RRF), a maioria delas evidenciando atividade ausente da COX. O estudo molecular demonstrou deleções múltiplas do mtDNA em todos os pacientes do grupo I e, nos pacientes do grupo II, mutação de ponto A3243G em 2 pacientes e deleções únicas em 15 pacientes, sendo em 10 deles, a deleção única de 4997bp, conhecida por deleção comum.

ESTUDO RANDOMIZADO SOBRE A UTILIDADE CLÍNICA DO SPECT ICTAL EM PACIENTES COM EPILEPSIA MESIAL TEMPORAL REFRATÁRIA

Tonicarlo Rodrigues Velasco

Orientador: Prof. Dr. Américo Ceiki Sakamoto
Tese de Doutorado apresentada em 04/06/2007

A síndrome epiléptica mais frequentemente encontrada na prática clínica é a epilepsia do lobo temporal mesial associada à esclerose hipocampal (EMT-EH). As crises epilépticas associadas à EMT-EH são comumente intratáveis do ponto de vista farmacológico, mas podem ser controladas através da lobectomia temporal (LT), com taxas de cura que podem chegar a 80% (Engel, 2001). A seleção de pacientes para a cirurgia depende da convergência dos dados da investigação pré-operatória, e, nos dias atuais, tem sido possível com exames não invasivos, dentre eles o vídeo-EEG, a ressonância magnética (RM) e a tomografia computadorizada por emissão de fóton único ictal (SPECT) (Thadani, 1995). O SPECT ictal é considerado um método

sensível e confiável na determinação do lado de início das crises em pacientes com EMT-EH, com taxas de acurácia em torno de 90% (Newton, 1995). Entretanto, apesar de extensa literatura em relação ao uso do SPECT ictal em epilepsias focais, não há estudos analisando a real utilidade do exame na tomada de decisões durante a avaliação pré-cirúrgica de pacientes com EMT. Através de um estudo prospectivo e randomizado examinamos se a realização do SPECT ictal é realmente crítica na avaliação pré-cirúrgica de pacientes com EMT. Nossos resultados não suportam a hipótese de que o SPECT ictal forneça informação adicional na lateralização das crises epilépticas, nem de que altere a indicação da cirurgia e nem de que altere o prognóstico cirúrgico pós-operatório. Os resultados vêm de encontro a dados de literatura afirmando que o SPECT ictal pode ser redundante na lateralização das crises em pacientes com epilepsia do lobo temporal. Além disso, quando o exame foi realizado, o custo da internação aumentou 35%.

EFEITO DO PRÉ-CONDICIONAMENTO PRODUZIDO PELA HIPOGLICEMIA NA GÊNESE E PROGRESSÃO DA EPILEPSIA NO MODELO DE STATUS EPILEPTICUS INDUZIDO POR LÍTIO-PILOCARPINA

Flávia Araújo Guedes

Orientador: Prof. Dr. João Pereira Leite
Tese de Doutorado apresentada em 05/06/2007

A epilepsia do lobo temporal (ELT), é a forma mais freqüente de epilepsia em adultos, esta associada a uma grande perda neuronal na região do hilo e nas camadas de células piramidais CA1 e CA3. Há também uma reorganização dos axônios das células granulares, as fibras musgosas, na camada molecular interna.

O condicionamento (PC) é um fenômeno no qual breves episódios de insultos subletais tais como isquemia global, hipóxia e curtos episódios de crises, conferem proteção contra uma injúria induzida por insultos mais severos subsequentes. Não existem dados na literatura sobre os efeitos do PC usando hipoglicemia (HPG) na gênese e progressão da epilepsia.

O objetivo deste trabalho foi utilizar um PC com HPG e o modelo de SE induzido por lítio-pilocarpina para avaliar os efeitos do PC na evolução comportamental da epilepsia, morte neuronal hipocampal e reorganização sináptica das fibras musgosas.

Ratos Wistar foram submetidos a HPG através da injeção de insulina (2U/100g de peso do animal) e vinte quatro horas após ao SE pela injeção de lítio (127,17 mg/kg, i.p) seguido da injeção de pilocarpina (25mg/kg, s.c.). Os animais foram sacrificados em 7, 15 e 60 dias após o SE. Outro grupo foi submetido somente ao SE induzido por lítio e pilo-

carpina e sacrificados igualmente ao grupo anterior. Os cérebros de todos os animais foram processados para avaliação histológica da contagem celular (coloração de Nissl), degeneração neuronal (histoquímica de Fluoro-jade B), neurônios que expressam somatostatina (imunohistoquímica) e reorganização sináptica das fibras musgosas (coloração de neo-Timm). Adicionalmente, no grupo de 60 dias foi feita a avaliação das crises recorrentes espontâneas (CREs).

Nossos resultados foram: 1) a latência para o início das CREs bem como o número total de CRE foi similar nos grupos com e sem PC; 2) a latência para o início do SE foi maior no grupo experimental com PC comparada aos animais do grupo sem PC; 3) o número de células do grupo SE com 60 dias sem PC foi menor que o grupo PC na região de CA2; 4) o número de células marcadas pela coloração de Fluoro-Jade no grupo SE de 7 dias sem PC foi maior que os grupos experimentais de um e 15 dias com e sem PC no subcampo CA3a; 5) o número de células que expressam somatostatina foi similar nos grupos experimentais com e sem PC; 6) A intensidade de reorganização sináptica das fibras musgosas foi semelhante nos grupos experimentais com e sem PC, e esta reorganização teve um aumento progressivo com o aumento do período entre o SE e o sacrifício. De acordo com os resultados, nos concluímos que o condicionamento, utilizando um episódio de 2 horas de HPG, 24 horas antes do SE, não interfere na ocorrência das CRE, nem previne a perda celular hipocampal e reorganização sináptica das fibras musgosas induzidas pelo SE.

EVOLUÇÃO NEUROLÓGICA E MANIFESTAÇÕES SISTÊMICAS DE UMA POPULAÇÃO PORTADORA DE MIELOPATIA ASSOCIADA AO HTL V-I

Patricia Toscano Barreto Nogueira Onofre

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui
Dissertação de Mestrado apresentada em 05/06/2007

A mielopatia associada ao HTL V-I (HAM), também conhecida como paraparesia espástica tropical (TSP), é uma doença crônica progressiva que afeta a medula espinal e a substância branca do cérebro. Menos de 5% dos portadores crônicos do HTL V-I desenvolverão essa complicação. As primeiras manifestações da doença ocorrem na quarta década da vida e observa-se relação mulher/homem de 2: 1. O objetivo do estudo foi a revisão de casos retrospectivos e o acompanhamento evolutivo de pacientes portadores do retrovírus HTL V-I e as manifestações clínicas neurológicas e sistêmicas. **Casística e Método: Resultados:** Foram incluídos 110 pacientes com idade entre 20 e 69 anos,

concluindo o estudo, 88 pacientes, dentre os quais, 26 (29,5%) eram portadores da mielopatia associada ao HTL V-I (HAM/TSP) e 62 (70,4%) assintomáticos. O sexo feminino predominou no grupo sintomático (76,9%). A idade de início dos sintomas variou de 27 a 61 anos (média de 47,3 anos +/- 13,7 anos, mediana de 48 anos). Os maiores fatores de risco no grupo sintomático foram transfusão de sangue e promiscuidade. O sintoma clínico predominante foi o distúrbio esfinteriano e a manifestação inicial mais comum foi a perda de força nos membros inferiores (69,2%). Duas pacientes (7,6%) apresentaram Lupus eritematoso sistêmico e uma paciente a Síndrome de Reiter e uma variedade de anormalidades dermatológicas e oftalmológicas. **Conclusão:** Embora o quadro clínico seja similar ao da literatura, as manifestações não neurológicas são frequentes nos nossos pacientes.

PAPEL DO PRION CELULAR NA MODULAÇÃO DO EXERCÍCIO FÍSICO E DA RESPOSTA COMPORTAMENTAL AO ESTRESSE

Patrícia Barreto Costa Nico

Orientador: Prof. Dr. Roger Walz
Dissertação de Mestrado apresentada em 06/06/2007

No presente trabalho, foi analisado o efeito do estresse agudo nos níveis de ansiedade expressos por camundongos nocaute para a proteína prion celular (Prnp^{0/0}). Os camundongos nocaute e seus respectivos controles (Prnp^{+/+}) foram submetidos a três tipos clássicos de estresse agudo. Os tipos agudos de estresse escolhidos foram imobilização física, choques elétricos leves randomizados e natação. Um grupo foi avaliado no estado basal. Após serem submetidos aos diferentes tipos de estresse agudo, os animais foram avaliados na tarefa de labirinto elevado em cruz e campo aberto. Em estado basal e em após a imobilização, não houve diferenças significativas entre os animais selvagens e os animais nocaute. Observamos, porém, que, após sessão de choques randômicos ou natação, houve alterações significativas em alguns dos parâmetros analisados. Os animais nocautes para o gene da proteína prion celular mostraram níveis de ansiedade menores do que os animais controles. Devido ao fato dos animais mostrarem alterações na atividade locomotora durante a realização dos experimentos, acrescentamos uma tarefa de natação forçada. Os animais nocaute mostraram significativamente menor resistência física ao nado forçado. Esse achado é sugestivo de que os animais nocaute para proteína prion celular apresentem menor resistência física ao exercício. A

proteína prion celular PrP^c é altamente expressa no Sistema Nervoso Central, entretanto, é também expressa no tecido muscular sugerindo que sua função não esteja limitada ao SNC. Com o intuito de investigar o papel fisiológico da PrP^c no músculo, os animais Prnp^{+/+} e Prnp^{0/0} foram submetidos a diferentes tipos de protocolos de exercícios e depois tiveram sua performance comparada. Os camundongos Prnp^{0/0} apresentaram uma diminuição da atividade locomotora. A partir desse achado, a avaliação da respiração mitocondrial nos músculos cardíaco e esquelético foi realizada com o propósito de analisar a existência de alguma alteração que justificasse a diminuição do desempenho observado. A análise da respiração mitocondrial foi realizada depois que os camundongos foram submetidos a diferentes tipos de intensidades de exercícios. Os parâmetros avaliados foram estágios 3 e 4, razão de controle respiratório (RCR) e potencial de membrana mitocondrial. Os tecidos musculares, cardíaco e esquelético dos camundongos Prnp^{0/0} quando comparados com seus respectivos controles tipo selvagem não apresentaram diferenças. Concluímos que os camundongos Prnp^{0/0} apresentam diminuição na capacidade de natação e atividade muscular em condições de exercício extremo, porém não foram encontradas alterações na respiração mitocondrial que possam ser responsabilizadas por tal fato. Nossos resultados indicam que futuras investigações devem ser conduzidas a fim de se conhecer mais sobre a função da PrP^c na fisiologia muscular e seu possível papel nas diferentes patologias neuromusculares.

CARACTERIZAÇÃO NEUROPATOLÓGICA DA SINTASE NEURONAL DO ÓXIDO NÍTRICO E DAS PROTEÍNAS DE CHOQUE TÉRMICO 70 E 90 NA EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL ASSOCIADA OU NÃO A COMORBIDADES PSIQUIÁTRICAS

Ludmyla Kandravicius

Orientador: Prof.Dr. João Pereira Leite

Tese de Doutorado apresentada em 08/06/2007

Comorbidades psiquiátricas em epilepsia são muito freqüentes, especialmente aquelas que têm o lobo temporal como área epileptogênica principal. A escassez de dados neuropatológicos e bioquímicos da associação entre os tipos mais comuns de distúrbios psiquiátricos e a epilepsia levou-nos ao estudo de hipocampos de pacientes com ausência ou presença de depressão ou psicose na epilepsia do lobo temporal mesial. Além de medidas de densidade neuronal e neo-brotamento, verificamos a expressão da sintase neuronal do óxido nítrico (nNOS), bastante estudada, separadamente, em epilepsias e distúrbios psiquiátricos. O óxido nítrico (NO) produzido pela nNOS tem sido identificado como fonte de radicais livres, com envolvimento em diversas patologias do sistema nervoso, mas também em mecanismos fisiológicos de plasticidade sináptica e neurotransmissão glutamatérgica. Também analisamos a expressão das proteínas de choque térmico 70 (HSP70) e 90 (HSP90), sendo esta última muito pouco estudada em epileptogênese, em situações de comorbidade de epilepsia e distúrbios psiquiátricos. A HSP70 é a principal proteína induzível por situações de stress como crises epilépticas. Estudos com modelos animais relatam aumento de expressão de HSP70 proporcional à severidade das crises. HSP90 tem funções chaperona, é ligante de cálcio, calmodulina, ATP e regula a sintase do óxido nítrico, receptores esteróides, Tau, actina, tubulina e filamentos intermediários. Devido à provável proteção mediada por HSP70 e ao papel desempenhado por HSP90 na interação com proteínas fatores-chave na epileptogênese, acreditamos que um estudo de caracterização delas poderia ser de utilidade na compreensão dos princípios que regem a epilepsia e distúrbios psiquiátricos como a depressão e a psicose. Buscamos assim a elucidação da eventualidade destes mecanismos de alterações neurais compartilharem do mesmo substrato

patológico. Quarenta e três hipocampos foram obtidos de pacientes com ELTM fármaco-resistente com ausência e presença de depressão ou psicose submetidos a hipocampectomia. Hipocampos controle (n=6-10) foram obtidos em necrópsia de sujeitos sem história prévia de doenças neurológicas. Secções em parafina dos hipocampos foram submetidas a coloração por hematoxilina e eosina, histoquímica de neo-Timm e imunohistoquímica para nNOS, HSP70 e HSP90. Pacientes epilépticos com depressão exibem maior QI que os com psicose e apresentam mais crises parciais complexas com generalização secundária que os epilépticos sem comorbidades psiquiátricas. No pós-operatório os pacientes epilépticos sem comorbidades psiquiátricas são mais bem sucedidos do que os com depressão, que por sua vez apresentam maior permanência de auras no pós-operatório do que os demais. Pacientes com psicose tendem a ter menor sucesso na remissão completa de crises. Pacientes epilépticos com depressão exibem maior neo-brotamento na camada molecular interna que os epilépticos sem comorbidades psiquiátricas e que os epilépticos com psicose. Pacientes epilépticos exibem maior imunorreatividade para nNOS que os controle. Dentre os epilépticos, os com psicose exibem menor expressão na maioria das regiões hipocampais. Há fortes indícios que o aumento da expressão de nNOS seja benéfico tanto para a melhoria da epilepsia quanto da psicose. Pacientes epilépticos exibem maior imunorreatividade para HSP70 que os controle. Dentre os epilépticos, os com psicose exibem menor expressão na camada granular, CA2 e CA3. É provável que o aumento de expressão de HSP70 seja benéfico para epilepsia, mas não para psicose. Pacientes epilépticos exibem maior imunoreatividade para HSP90 que os controle. Dentre os epilépticos, os com psicose exibem menor expressão no hilo, CA3 e CA4. É quase certo um papel protetor de HSP90 tanto em epilepsia quanto em psicose. Os resultados, em seu conjunto, confirmam a grande importância das moléculas estudadas, que podem ser úteis na compreensão dos mecanismos envolvidos na gênese, ao que tudo indica, comum em vários pontos da epilepsia e dos distúrbios psiquiátricos.

ESTABELECIMENTO DE UM MODELO EXPERIMENTAL DE NEUROTUBERCULOSE

Fabiola Cristina Ribeiro Zucchi

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui

Tese de Doutorado apresentada em 11/06/2007

A tuberculose (TB) é um grave problema de saúde pública. Somente no ano de 2004, cerca de 9 milhões de pessoas desenvolveram TB ativa e mais de 2 milhões de

pessoas morreram da doença. O desenvolvimento de novos modelos experimentais de TB seriam de grande utilidade para elucidar mecanismos fisiopatológicos da doença e testar esquemas terapêuticos para a prevenção e contenção da doença. Além disso, o desenvolvimento de novas vacinas torna-se indispensável como ferramenta de prevenção e controle da TB.

A TB no sistema nervoso central (SNC), assim como em outros tecidos do organismo, promove a ativação de células inflamatórias. No SNC a micróglia desempenha este papel, sendo capaz de produzir ou ser influenciada por mediadores solúveis. Vários mediadores estão envolvidos nos mecanismos moleculares decorrentes da infecção e inflamação causados pela TB, entre eles: NFkB, iNOS e VEGF. A ativação do NFkB, um fator de transcrição citoplasmático que sob estímulo migra para o núcleo celular, tem íntima relação com a indução da iNOS e de VEGF. A resistência intracelular a patógenos, inclusive ao *Mycobacterium tuberculosis*, parece estar associada a expressão de iNOS em macrófagos.

O óxido nítrico (NO) tem papel importante na comunicação intercelular, estimulando a síntese de mediadores inflamatórios, como as citocinas, e regulando sua própria produção endógena. Estas citocinas por sua vez também podem induzir a atividade do NFkB e a expressão da iNOS e VEGF. O VEGF é um potente ativador de permeabilidade vascular e de angiogênese, envolvido na ruptura da barreira hemato-encefálica. Neste estudo, mostramos a caracterização morfológica e imuno-histoquímica de um modelo murino de TB no SNC, com a indução da doença pela inoculação de BCG. Com este modelo experimental obtivemos

importantes resultados que podem esclarecer mecanismos envolvidos na fisiopatologia da neuro-TB humana. A indução de meningite e tuberculomas foi possível através da inoculação de 10^4 cfu de BCG no cerebelo de camundongos, por estereotaxia, e esta indução foi dependente do tempo. A confirmação do diagnóstico foi feita pela detecção de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), nas lesões tuberculosas. Observamos, ao longo do tempo (1 a 6 dias; 1, 2, 4 e 8 semanas) o recrutamento de diferentes populações gliais (micróglia e astrócitos) no sítio de injeção. Houve aumento de produção e ativação NFkB nas lesões tuberculosas, caracterizada pela translocação da molécula do citoplasma para o núcleo celular. Houve expressão de iNOS restrita às lesões tuberculosas, além do aumento de expressão de VEGF nestas lesões. Além disso, camundongos imunizados com a vacina gênica hsp65, contra a TB, não expressam VEGF em suas lesões. Esta vacina parece conferir um efeito protetor em nosso modelo experimental, reduzindo a expressão de VEGF, e consequentemente reduzindo seu efeito angiogênico decorrente do processo inflamatório. O recrutamento glial, e a produção de mediadores solúveis (NFkB, iNOS e VEGF) pelo hospedeiro, em resposta à invasão do patógeno no SNC, parecem estar envolvidos na fisiopatologia da neurotuberculose, como demonstrado neste modelo experimental. Nosso modelo permitirá investigar fatores possivelmente responsáveis pelo desenvolvimento e manutenção de lesões tuberculosas no SNC. O objetivo final seria elucidar a fisiopatologia desta grave doença e compreender eventos moleculares envolvidos na produção de lesões. O conhecimento gerado poderá permitir o delineamento de terapias específicas e efetivas.

O RASTREIO OCULAR EM CRIANÇAS COM DIFICULDADES DE APRENDIZAGEM

Roberta Alves de Oliveira

Orientador: Prof.Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui
Dissertação de Mestrado apresentada em 11/06/ 2007

Apesar da dificuldade de aprendizagem ser comum em sala de aula, sua detecção precoce e tratamento ainda é um desafio para os profissionais que lidam com essa dificuldade. Diversos autores constataram alterações do rastreo ocular lento em crianças com essa queixa, porém, muito se tem questionado quanto à utilização dos resultados para o diagnóstico dessas crianças. No presente estudo, avaliamos o movimento em 56 crianças, entre 8 a 10 anos de idade, cursando da segunda à quarta série do ensino fundamental, sendo 32 com dificuldades de aprendizagem da leitura e escrita e 24 do grupo controle, que não apresenta-

vam as dificuldades. Tais resultados foram analisados e comparados através do “ganho”, que consiste na relação entre a velocidade dos olhos e a do estímulo, e são fornecidos pelo próprio computador. Os resultados demonstraram que houve diferença significativa no desempenho das crianças na curva do meio na frequência de 0,10 Hz. As crianças com dificuldades de aprendizagem apresentaram média superior às crianças do grupo controle, porém não houve diferença entre os movimentos do rastreo ocular nas demais curvas nas frequências de 0,10, 0,20 e 0,40 Hz. Não foram constatadas diferenças também no desempenho das crianças do grupo com dificuldades quando analisadas as variações de frequências. A análise do rastreo ocular horizontal através da Vetolectronistagmografia não identificou as crianças com dificuldades de aprendizagem.

ATAXIA ESPINOCEREBELAR DO TIPO 7: ESTUDO GENÉTICO-MOLECULAR, ORIGEM ANCESTRAL E CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DO ENVOLVIMENTO DO SNC ATRAVÉS DE IMAGENS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR

Salomão da Cunha Linhares

Orientador: Prof. Dr. Wilson Marques Júnior

Tese de Doutorado apresentada em 11/06/ 2007

A Ataxia espinocerebelar do tipo 7 é uma doença de distribuição mundial e com uma frequência estimada menor que 1:100.000 habitantes. Sua frequência no Brasil foi estimada entre 2% a 4,4%. Recentemente foram detectadas 3 famílias brasileiras portadoras de AEC7, não correlatas, e este trabalho tem como finalidade caracterizá-las nos aspectos clínicos e genético-molecular, com ênfase ao estudo do efeito fundador. As características fenotípicas dos pacientes das 3 famílias foram semelhantes e estão de acordo com os achados da literatura. A maioria dos pacientes iniciou a doença com ataxia, seguida da queda da acuidade visual. A idade de início da doença nas gerações apresentou diferença significativa nas gerações III e IV e correlacionou-se negativamente com os respectivos números de repetições CAG na geração III ($r = -0,813$; $p = 0,000$) e na geração IV ($r = -0,668$; $p = 0,002$). As três famílias juntas originaram até o

presente momento 147 casos da doença. A distribuição dos pacientes nas respectivas gerações, evidenciou um pico no número de acometidos na segunda geração das Famílias II e III e na terceira geração da Família I, fato inédito na literatura, que sinaliza a existência de um provável ciclo da doença. Foram detectados nos familiares sadios 3 indivíduos com alelos de tamanhos intermediários. Um dos indivíduos apresentou 24 repetições CAG e outros dois apresentaram 36 repetições, respectivamente. A existência de alelos intermediários facilitaria o reinício de um novo ciclo da doença, porque atuariam no sentido inverso ao da extinção da doença. O estudo qualitativo de imagens comprovou importante atrofia do tronco cerebral em 11 pacientes portadores de AEC7, sugerindo que a ponte é a estrutura mais comprometida do SNC e que esta alteração antecede o comprometimento do cerebelo e da região supratentorial. Na análise dos haplótipos ficou claro que as 3 famílias brasileiras aqui estudadas apresentam uma origem comum, sendo portanto descendentes de um mesmo ancestral, sugerindo um efeito fundador regional.

OFTALMOLOGIA, OTORRINOLARINGOLOGIA E CIRURGIA DE CABEÇA E PESCOÇO

HISTOLOGIA DA CONJUNTIVA DE PACIENTES SOROPOSITIVOS PARA O VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA TIPO 1 COM DISFUNÇÃO DO FILME LACRIMAL, EM USO DE TERAPIA ANTIRETROVIRAL COMBINADA

Márcia Lopes Rodrigues

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Lourdes V. Rodrigues

Tese de Doutorado apresentada em 28/05/2007

Objetivos: verificar a presença de alterações no epitélio conjuntival e de ceratoconjuntivite seca em pacientes com aids, em uso de HAART; verificar se há influência da recuperação imunológica na superfície ocular de pacientes com aids; comparar as características do epitélio conjuntival e da ceratoconjuntivite seca em pacientes com aids em uso de HAART e em pacientes imunológicos soronegativos; avaliar a resposta terapêutica ao tratamento de olho seco. **Pacientes e métodos:** estudo observacional, quantitativo e analítico, realizado no Centro de Especialidades da Prefeitura de Votorantim e no CHS (Sorocaba). Os pacientes foram divididos em 2 grupos: Controle – pacientes imunoló-

gicos soronegativos para o HIV; Estudo – paciente com HIV em uso de HAART, subdivididos em grupo I (com recuperação imunológica) e grupo II (sem recuperação imunológica). A definição para recuperação imunológica foi a contagem de linfócitos TCD4, de pelo menos 60cels/mm³ e manutenção dessa contagem por pelo menos 2 meses. Os pacientes foram avaliados de acordo com a sintomatologia (OSDI), teste de Schirmer coloração rosa bengala, BUT e citologia de impressão conjuntival. Os pacientes foram tratados com colírio lubrificante, gel ou solução tópica de Ciclosporina A de acordo com a intensidade do quadro de olho seco. Tempo de acompanhamento: 90 dias. Método estatístico: qui-quadrado. **Resultados:** 60 pacientes foram examinados, sendo 15 do grupo controle e 45 do grupo estudo, com tempo médio de doença de 13,2 anos e 8,3 anos, respectivamente. 86,67% dos pacientes do Grupo Controle

e 88,8 % dos pacientes do Grupo estudo apresentaram queixas de olho seco. Os pacientes do Grupo estudo apresentaram maior número de alterações à coloração com rosa bengala ($p < 0,05$). Pacientes com HIV e retinite inativa por CMV apresentaram maior risco de desenvolverem disfunção do filme lacrimal. Pacientes imunológicos soronegativos apresentaram melhor resposta à terapia durante o acompanhamento. Nenhum medicamento anti-retroviral esteve diretamente relacionado ao risco de desenvolver olho seco. Entretanto, pacientes que já haviam utilizado mais de um esquema de poliquimioterapia apresentaram maior sintomatologia de olho seco. Pacientes com recuperação imunológica

mostraram maior número de alterações ao BUT e à coloração com rosa bengala. **Conclusão:** a etiologia da disfunção do filme lacrimal nos pacientes soropositivos é multifatorial; a síndrome do olho seco manifesta-se mais precocemente nestes pacientes; infecção viral prévia pelo CMV pode desencadear processo inflamatório autoimune na glândula lacrimal, causando olho seco; a alta toxicidade medicamentosa das drogas anti-retrovirais pode levar à disfunção lacrimal e ceratites inespecíficas; os pacientes soropositivos respondem mais lentamente à terapêutica para olho seco; a Ciclosporina A aparece como tratamento promissor da síndrome de olho seco nos pacientes soropositivos.

PERFIL DE FLUÊNCIA DA FALA E ATIVIDADE DOS MÚSCULOS OROFACIAIS DE SUJEITOS COM GAGUEIRA E FALANTES FLUENTES

Rosana Luzia Rodrigues Gomes de Freitas

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia Maria de Felício

Dissertação de Mestrado apresentada em 31/05/2007

O objetivo desta pesquisa foi comparar sujeitos com queixa de gagueira e sem queixa de fala quanto: ao perfil de fluência da fala, à condição miofuncional orofacial, à atividade eletromiográfica dos músculos masseteres, temporais, orbicular da boca, fascículos superior e inferior e supra-hióideos. Participaram 10 sujeitos com gagueira e 10 sem gagueira, denominados como grupo controle, pareados por gênero e idade, cuja média foi 13,4 anos (mínimo = 10 e máximo = 18 anos). Os grupos foram definidos a partir da análise de amostras de fala, de acordo com a avaliação do perfil de fluência da fala do ABFW-Teste de Linguagem. Posteriormente, os sujeitos passaram por avaliação das condições miofuncionais orofaciais, na qual foi utilizado o protocolo com escores AMIOFE. Para a análise da atividade muscular foi utilizado o Eletromiógrafo K6-IEMG Light Channel Surface Electromyography (Myo-tronics Co. Seattle, WA, EUA) de oito canais. Foram empregados eletrodos duplos, de superfície de cloreto de prata, descartáveis (Duotrodes, Myo-tronics Co., Seattle, WA), contendo um gel condutor (Myogel- myo-tronics Co., Seattle, WA). Os eletrodos foram posicionados nos músculos masseter e temporal, bilateralmente, orbicular da boca, fascículos superior e inferior e na musculatura supra-hiódea, seguindo a orientação das fibras musculares. Um eletrodo de referência (terra) foi posicionado próximo à nuca do sujeito. As condições clínicas investigadas foram: apertamento dental em máxima intercuspidação habitual, emissão de uma palavra e duas frases; compressão labial, lateralização dos lábi-

os unidos para a direita e esquerda, protrusão labial, retração labial, mastigação de barra de cereais, repouso antes e após os exercícios, e as tarefas de língua, envolvendo sua protrusão, lateralidade intra e extra bucal direita e esquerda, retração, elevação intra-oral, abaixamento intra-oral e vibração. Os dados relativos ao perfil de fluência da fala e às condições miofuncionais orofaciais foram analisados pelo teste Mann-Whitney. Os dados da eletromiografia foram normalizados pela atividade do apertamento dental em máxima intercuspidação habitual e transformados em logaritmo na base 10. A comparação dos grupos foi realizada pelo teste *t-Student* para dados não pareados. Não houve diferença entre os grupos quanto à frequência de disfluências comuns, mas sim quanto à frequência de disfluências gagas. A análise do perfil de fluência da fala permitiu caracterizar precisamente os grupos de sujeitos gagos e falantes normais. Nas condições miofuncionais orofaciais o desempenho na função de deglutição foi a única diferença verificada entre os grupos. Não houve diferença entre os grupos estudados quanto à atividade eletromiográfica dos músculos temporal e masseter e do músculo orbicular da boca, fascículo inferior, nas condições clínicas analisadas. A atividade do músculo orbicular da boca, fascículo superior, do grupo com gagueira foi significativamente menor do que no grupo controle, para a maioria das condições clínicas analisadas. O presente estudo permitiu concluir que os grupos estudados apresentaram perfis de fluência diferentes na fala espontânea, fato que permitiu a caracterização destes como grupo de sujeitos com gagueira e grupo controle. Em relação à eletromiografia, a diferença entre os grupos foi evidenciada pela menor atividade do músculo orbicular da boca, fascículo superior, no grupo com gagueira em comparação ao grupo controle.

ORTOPEDIA

AValiação DO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DE BAIXA DOSE DE NEOSTIGMINA OU DEXAMETASONA POR VIA ESPINHAL ASSOCIADA À CLONIDINA NA DOR AGUDA PÓS-OPERATÓRIA

Fabrcio dos Santos Veloso

Orientadora: Profa. Dra. Gabriela Rocha Lauretti

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/05/2007

Introdução e Objetivos: Dados recentes direcionam para a utilização da analgesia multimodal para o controle da dor pós-operatória. O objetivo do estudo foi avaliar se a associação de neostigmina intratecal, dexametasona epidural ou ambas exacerbaria o efeito analgésico da anestesia raquidiana com doses pré-fixadas de bupivacaína e clonidina (GC). **Métodos:** 60 pacientes submetidos a procedimentos ortopédicos de pequeno porte sob raquianestesia com 30 µg de clonidina e 10 mg de bupivacaína foram avaliados de forma prospectiva, aleatória e duplamente-encoberta. Os pacientes foram divididos em 4 grupos e receberam como fármacos adicionais 10 mg de dexametasona epidural (GD); 1 µg de neostigmina intratecal (GN); ou 10 mg de dexameta-

sona epidural associada à inclusão de 1 µg de neostigmina à combinação de clonidina e bupivacaína intratecal (GDN). Foram avaliados analgesia e efeitos adversos. **Resultados:** Os grupos foram demograficamente semelhantes. O tempo para requisição do primeiro analgésico (cetoprofeno) e o consumo de analgésicos foi semelhante entre o GC e o GN. A adição de 10 mg de dexametasona via epidural resultou em 16 horas de analgesia pós-operatória, e menor consumo do cetoprofeno em 24 horas de avaliação. A combinação dos quatro fármacos (30 µg de clonidina, 10 mg de bupivacaína e 1 µg de neostigmina) à 10 mg de dexametasona epidural resultou em 20 horas de analgesia pós-operatória e menor consumo de cetoprofeno ($p < 0,05$) comparado ao GD. **Discussão e Conclusões:** Adição de 1 µg de neostigmina intratecal aumentou o tempo de analgesia da combinação de bupivacaína e clonidina intratecal com dexametasona epidural, sem aumentar a incidência de efeitos adversos.

ENXERTO CORTICOESPONJOSO HOMÓGENO PROCESSADO QUIMICAMENTE, ESTERILIZADO EM ÓXIDO DE ETILENO E EMBEBIDO EM MEDULA ÓSSEA AUTÓGENA. ESTUDO EXPERIMENTAL EM CÃES (*Canis familiaris*, LINNAEUS 1758)

Vitor Aparecido Castania

Orientador: Prof. Dr. José Batista Volpon

Tese de Doutorado apresentada em 04/05/2007

Foi estudado experimentalmente o desempenho biológico de um tipo de enxerto ósseo homogêneo, processado quimicamente, esterilizado em óxido de etileno e embebido em medula óssea autógena. De cães doadores adulto-jovens foram obtidos blocos cilíndricos de 1,0 x 1,0 cm da epífise distal do fêmur, com auxílio de uma trefina. Os ossos assim obtidos foram clareados, desengordurados, esterilizados em óxido de etileno e mantidos em estoque. Trinta cães adultos jovens foram usados como receptores do enxerto e foram alocados em dois grupos. No grupo I (experimental) os animais foram operados e, criado, transversalmente, com trefina de 1,0 cm de diâmetro externo, um espaço cilíndrico de 1,0 cm de diâmetro por 1,0 cm de altura na epífise distal do fêmur direito, onde foi encaixado o enxerto preparado e que foi previamente embebido em medula óssea do próprio animal retirada por punção óssea na crista

ilíaca. Três semanas depois, o mesmo animal foi submetido ao mesmo procedimento cirúrgico no fêmur esquerdo. Os cães deste grupo foram sacrificados seis semanas após a primeira cirurgia. O grupo II constituiu o controle e foi formado por vinte cães adulto-jovens em que, primeiro, foi retirado um cilindro de osso da epífise distal do fêmur esquerdo e, em seguida, no mesmo tempo cirúrgico, foi criado o mesmo espaço no fêmur direito, com uma trefina de um centímetro de diâmetro interno e, então, encaixado o bloco de osso retirado do fêmur do outro lado do mesmo animal. Estes animais foram subdivididos em dois subgrupos de dez cães cada, em relação ao tempo de sacrifício. Em um subgrupo os cães foram sacrificados três semanas após, enquanto que, no outro subgrupo, foram sacrificados seis semanas após a cirurgia de implantação do enxerto. O processo de incorporação do enxerto foi avaliado pela histologia convencional e histologia de fluorescência óssea, pela injeção prévia de tetraciclina. A comparação foi entre os grupos I e II, nos períodos de três e seis semanas pós-implante. As áreas dos enxertos homogêneos com 21 dias pós-implante, geralmente mostraram-se visíveis, na maioria

das vezes, formadas por trabéculas finas irregulares, sem osteócitos, porém com áreas de neoformação óssea. Já os enxertos autógenos, a área do osso implantado era bem visível, com trabéculas de osso antigo, mais adelgaçadas, em menor número que o osso receptor, porém com intensa deposição de osso neoformado. Para os enxertos homogêneos com 42 dias pós-implante, a área do enxerto estava bem definida e integrada ao osso adjacente, composta por trabéculas antigas com predomínio de osso neoformado

sobre a superfície. Nos enxertos autógenos com 42 dias pós-implante, as trabéculas tinham orientação comum, com espaço intertrabecular preenchido por tecido conjuntivo denso, em algumas áreas, e por medula óssea madura em outras. O enxerto homogêneo processado e esterilizado em óxido de etileno e embebido em medula óssea apresentou boa atividade biológica, embora, com integração mais lenta e menor desempenho em relação ao enxerto autógeno, o que o torna um bom substituto para este último.

ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DA INTERFACE DO PARAFUSO EXPANSOR COM O TECIDO ÓSSEO

Leandro Sérgio da Silva

Orientador: Prof. Dr. Helton Luis Aparecido Defino
Dissertação de Mestrado apresentada em 05/06/2007

Foi realizado um estudo experimental para a avaliação histomorfométrica da interface dos parafusos expansores utilizados no sistema de fixação anterior da coluna cervical. Foram utilizadas no estudo cinco vértebras cervicais de ovelhas (C4), nas quais os parafusos foram inseridos. O parafuso expensor de 18,5mm de comprimento e 5,0mm de diâmetro externo (Ulrich) foi inserido em ambos os lados da vértebra C4. Após a perfuração com broca de 2,5mm, no lado esquerdo o parafuso era inserido sem o parafuso interno de expansão. No lado direito o parafuso era inserido com o parafuso interno de expansão. Na porção inferior da vértebra foi confeccionado o orifício piloto com broca de 2,5mm sem a introdução de implante. A região da vértebra contendo os parafusos e o orifício piloto foi processado para estudo histológico da interface dos im-

plantes e o tecido ósseo e da parede do orifício piloto. Por meio do estudo histomorfométrico foi avaliada a densidade óssea total, fora da rosca, dentro da rosca e a medida linear de contato entre o tecido ósseo e o implante. Não foi observada diferença da densidade óssea total e densidade óssea fora das roscas entre a interface óssea dos parafusos expandidos e não expandidos, tendo sido observada diferença entre o parafuso expandido e o orifício piloto. A densidade óssea fora das roscas não apresentou diferença estatística nas comparações entre os parafusos expandidos, não expandidos e orifício piloto. A densidade óssea dentro da rosca apresentou diferença entre o parafuso expandido e o não expandido, e ambos apresentaram diferença estatística em relação ao orifício piloto. A medida linear de contato osso e implante expandido e não expandido, apresentaram diferença estatística, e o orifício piloto apresentou diferença estatística com o parafuso expandido. A expansão do parafuso alterou os parâmetros histomorfométricos de avaliação do contato entre o implante e o tecido ósseo sem provocar alterações no tecido ósseo adjacente.

PATOLOGIA

ALCOOLEMIA EM VÍTIMAS FATAIS DE CAUSA VIOLENTA OCORRIDAS EM RIBEIRÃO PRETO E REGIÃO NO PERÍODO DE 2002 A 2004

Carolina Melo Cândido de Paula

Orientador: Prof. Dr. Bruno Spinosa De Martinis
Dissertação de Mestrado apresentada em 13/04/2007

O Laboratório de Toxicologia Forense/CEMEL/FMRP/USP analisou 400 amostras de sangue de vítimas fatais, de causa violenta, para a determinação de alcoolemia.

Em relação às causas jurídicas de morte, as amostras foram provenientes de vítimas de acidentes, homicídios, suicídios e de outras causas externas. Os acidentes de trânsito foram estudados com maior ênfase devido à importância e impacto sócio-econômico que essas mortes representam em todo o mundo. A existência de legislação no nosso País sobre o consumo de etanol e a condução de veículos automotores,

que estabelece o limite máximo permitido de 0,6 g de álcool por litro no sangue para a condução de veículos, torna obrigatório os exames toxicológicos em vítimas nessas condições. O estudo teve como objetivos conhecer a relação entre a concentração de álcool no sangue e as mortes de causa violentas considerando os parâmetros sexo e faixa etária, com a finalidade de prover dados científicos às autoridades legais brasileiras, que contribuam para melhorar o controle e a legislação sobre o consumo de bebidas alcoólicas na sociedade, e evidenciar a necessidade do exame de alcoolemia em outros tipos de causas de morte violenta como homicídios e suicídios. Para a investigação da alcoolemia, foram coletadas amostras de sangue em artérias periféricas ou central, durante o exame necroscópico. Estas foram acondicionadas em frascos apropriados, identificadas e imediatamente armazenadas sob refrigeração até o momento das análises. As análises de etanol foram realizadas pela técnica de cromatografia em fase gasosa com detector de ionização por chama (GC-FID) utilizado amostrador automático para a introdução da amostras na fase vapor (Headspace). Foram preparadas concentrações de 0,5; 1,0; 3,0; 5,0 g/L de etanol para a construção da curva analítica para quantificação e determinação dos tempos de retenção, limites de detecção e quantificação da técnica. A identificação positiva de etanol

foi feita pela comparação dos tempos de retenção do pico eluído na amostra com o pico do padrão do etanol. A quantificação foi realizada através do método de padronização interna utilizando isobutanol como padrão interno. Quanto aos resultados, as amostras mais analisadas para alcoolemia, entre as mortes violentas foram, respectivamente, os acidentes, principalmente os de trânsito, seguidos dos homicídios, suicídios e outros tipos de morte violenta. A média de idade dos indivíduos envolvidos nessas ocorrências foi de 36,3 anos, havendo predominância das amostras do sexo masculino, sendo que mais que 50% das vítimas apresentaram alcoolemia positiva, com valores acima do permitido por lei. Concluímos que, na amostra de referência, o álcool está altamente correlacionado com as mortes de causas violentas; que é imprescindível a solicitação e realização do exame de alcoolemia em todas as mortes de causa externa, independentemente do motivo, gênero e faixa etária. Ainda podemos concluir que existe a necessidade da investigação de outras drogas lícitas e ilícitas, com especial atenção em vítimas fatais que não apresentaram resultados de alcoolemia positivos. Tais resultados toxicológicos poderão ser úteis para melhor interpretação dos casos e elucidação das mortes, podendo contribuir para o estabelecimento de medidas legais, preventivas e punitivas.

TOXICIDADE DA CLOREXIDINA INJETADA NA PATA DE CAMUNDONGOS E ADICIONADA EM CULTURA DE FIBROBLASTOS L929

Gisele Faria

Orientador: Prof. Dr. Marcos A. Rossi

Tese de Doutorado apresentada em 04/06/2007

Como a clorexidina (CHX) tem sido recomendada como solução irrigadora de canais radiculares e como curativo de demora, o objetivo do presente estudo foi caracterizar *in vivo* a lesão induzida pela injeção de CHX a 0,125, 0,25, 0,5 e 1,0% na pata de camundongos em intervalos de tempo selecionados (24 e 48 horas e 7 e 14 dias) e *in vitro* o modo e a causa morte celular (necrose e/ou apoptose) e o estresse causado pela exposição de fibroblastos L929 em cultura a concentrações crescentes da droga (0,000125, 0,00025, 0,0005, 0,001, 0,002, 0,004, 0,008 e 0,016%) por 24 horas. A proliferação celular foi avaliada por meio da incorporação de metil-3H-timidina ao DNA das células e imunomarcagem para PCNA. A ultraestrutura foi analisada em microscópio eletrônico de transmissão e de varredura e o citoesqueleto das células por meio de marcação para actina e α -tubulina. Citometria de fluxo (Anexina-V FITC/iodeto de propídeo) foi empregada para diferenciar células necróticas de apoptóticas. Também, foi efetuada marcação para retículo endoplasmático, Bcl-2 (B-célula CLL/linfoma 2),

Hsp70 (proteína de choque térmico 70) e Grp78 (*glucose-regulated protein 78*). Quando injetada no espaço subplantar da pata traseira de camundongos, a CHX induziu alterações necróticas na epiderme, derme e tecido subcutâneo em associação com uma resposta inflamatória reacional, particularmente nas concentrações mais elevadas. Em cultura de fibroblastos, a CHX induziu a diminuição da proliferação celular, causou morte celular por apoptose e necrose, desestruturação do citoesqueleto, alteração da morfologia celular, aumento da área das células, dilatação do retículo endoplasmático rugoso e acúmulo de proteínas nas cisternas. Além disso, a CHX causou aumento da expressão de Hsp70, de Grp78 (indicadores de estresse celular) e de Bcl-2 (proteína anti-apoptótica). Em conclusão, a CHX injetada no espaço subplantar da pata traseira de camundongos induz efeitos tóxicos severos. Além disso, a CHX adicionada em cultura de fibroblastos causou estresse do retículo endoplasmático como consequência do acúmulo de proteínas nas cisternas e induziu a morte celular por necrose e apoptose via estresse do retículo endoplasmático, além de causar estresse celular. Os resultados sugerem que a CHX poderia ter um efeito desfavorável na resolução de lesões periapicais em decorrência de sua ação tóxica sobre as células do tecido em torno do ápice dentário.

AVALIAÇÃO DA CONCORDÂNCIA EM DIFERENTES FASES DO PROCESSO DIAGNÓSTICO, EMBASADA NA NECROPSIA, NO HCFMRPUSP, NOS ANOS DE 1980, 1990 E 2000

Márcio Henrique Carvalho Grade

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia

Tese de Doutorado apresentada 04/06/2007

O processo diagnóstico na medicina traduz-se por uma complexa interação entre conhecimentos, habilidades e procedimentos técnicos em condições de incerteza. As variáveis que o cercam são inúmeras e de difícil caracterização, dificultando o desenvolvimento de estudos mais aprofundados sobre o processo de elaboração do diagnóstico. O papel da necropsia na avaliação da performance do diagnóstico clínico já está bem demonstrado, sendo geralmente aceito que ela pode ser usada como uma ferramenta para analisar possíveis discrepâncias. A literatura médica vem apresentando com maior frequência a questão dos erros no cuidado à saúde, e têm proposto que novos estudos são necessários para avaliar os erros diagnósticos e com isto propiciar condições para uma melhora desta questão. Nós propusemos um estudo para verificar a concordância diagnóstica em três fases deste processo, em pacientes do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Analisamos retrospectivamente todos os diagnósticos de trezentos pacientes que faleceram em nosso hospital, sendo cem pacientes para cada ano escolhido para este estudo (1980, 1990 e 2000). Classificamos os diagnósticos em: clínicos iniciais, considerados aqueles de entrada do paciente sem o apoio de exames complementares dentro do hospital; clínicos finais, todos os realizados durante a internação e após o óbito; necroscópicos, todos os diagnósticos elencados no relatório final deste procedimento. Utilizamos três grandes grupos para comparar estas fases: concordância, discordâncias maiores e discordâncias menores. Com estes achados realizamos uma avaliação do processo diag-

nóstico. As doenças do aparelho circulatório formaram o maior grupo de causas básicas de óbito seguido pelas neoplasias. O percentual de realização de necropsias foi ao redor de 75%. O número total de procedimentos diagnósticos pesquisados aumentou de 236 em 1980 para 366 em 2000, principalmente devido a exames não invasivos como as ultrassonografias e as tomografias. As discrepâncias maiores não apresentaram melhora percentual, mantendo-se estáveis ao redor de 21% no período do estudo. Houve um aumento das concordâncias diagnósticas (de 41 para 55%) confrontando o diagnóstico clínico final e o necroscópico, porém às custas de diminuição das discrepâncias menores. Das variáveis analisadas de idade, gênero, tempo de estadia hospitalar, admissões anteriores, vulnerabilidade, exames comuns, modernos e totais, apenas a de admissões apresentou diferença estatística na comparação de pacientes com discrepâncias maiores em relação aos demais, com $p=0,006$, tendo o grupo dos demais pacientes uma média maior (de 1,85 x 1,35). A avaliação do processo diagnóstico através da comparação entre o diagnóstico clínico inicial e o clínico final mostrou concordância entre os passos em cerca de 80%. Os casos com discrepâncias maiores à necropsia em relação ao diagnóstico clínico final, apresentaram 90% de concordância entre o diagnóstico clínico inicial e o final. Este achado reforça a tese de que o encerramento prematuro do diagnóstico parece ser o principal fator relacionado com a manutenção destas discrepâncias. O aumento de concordância diagnóstica deu-se, portanto, com a diminuição de discrepâncias menores, sem alteração nas maiores que são aquelas que poderiam ter influenciado no prognóstico do paciente. A disponibilidade de novos exames e tecnologias de ponta não foi suficiente para alterar este quadro.

SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

VALOR DIAGNÓSTICO DA INTERLEUCINA IL- 6 E PROTEÍNA C- REATIVA (PCR) EM INFECÇÃO BACTERIANA DE INÍCIO PRECOCE EM RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO COM DESCONFORTO RESPIRATÓRIO

Maria Aparecida do Carmo Rego

Orientadora: Prof. Dra. Marisa Márcia Mussi Pinhata

Tese de Doutorado apresentada em 16/04/2007

Objetivo: Avaliar o valor da quantificação da proteína C-reativa (PCR) e interleucina-6 (IL-6) para o diagnós-

tico de infecção de início precoce em recém-nascidos pré-termos com desconforto respiratório.

Métodos: Coorte prospectiva de 186 recém-nascidos nos quais os níveis séricos de PCR e IL-6 foram mensurados ao início do desconforto respiratório (suspeita de infecção) e 24h após. Os neonatos foram classifica-

dos em *Grupo I: Infectados* (sepse ou infecção confirmada, sepse ou infecção clínica e pneumonia); *Grupo II: possivelmente infectados* e *Grupo III: não infectados*. Após definição dos pontos de corte pela curva ROC, calcularam-se os valores de sensibilidade e especificidade para cada um dos testes ou combinação desses.

Realizou-se análise de regressão múltipla para explorar a associação entre PCR e IL-6 e as seguintes variáveis hipertensão arterial materna, tipo de parto (vaginal ou cesárea), escore de Apgar de 5º minuto, peso de nascimento, idade gestacional, restrição de crescimento intra-uterino e presença de ventilação mecânica (ventilação mandatória com pressão positiva intermitente ou ventilação de alta frequência).

Resultados: *Grupo I:* n=44 (sepse ou infecção confirmadas, n=3; sepse ou infecção clínica, n=17; pneumonia, n=24). *Grupo II:* n=42 e *Grupo III:* n=100. As quantificações séricas de IL-6 e PCR foram realizadas em amostras de 155 crianças. Em 19 crianças só foram obtidas amostras à suspeita de infecção e em 12 delas somente 24h após. Em todas as amostras disponíveis quantificaram-se ambas PCR e IL-6. Com exceção dos valores de IL-6 (24h), os níveis séri-

cos de IL-6(0h); PCR(0h) e PCR(24h) foram significativamente maiores no *Grupo I* do que nos outros dois grupos. Considerando-se apenas os *Grupos I e III*, a PCR (24h) foi a que apresentou maior área sob a curva ROC (0,80; IC95%: 0,71–0,89; p=0,000). Em termos de índices fixos, o melhor desempenho dos testes foi obtido quando IL-6(0h) \geq 36 pg/dl foi combinada a PCR(24h) \geq 1mg/dl, resultando em sensibilidade de 93%, especificidade de 40%, Valor Preditivo Positivo (VPP) de 42%, Valor Preditivo Negativo (VPN) de 92% e taxa de probabilidade negativa de 0,19.

Pela análise de regressão IL-6 (0h), PCR (0h) e PCR (24h) foram positivamente associadas à infecção e parto vaginal. A resposta de 24h da IL-6 foi associada positivamente somente à ventilação mecânica.

Conclusão: Devido aos baixos valores de especificidade e VPP, a IL-6 e PCR, mesmo que associadas, são limitadas para distinguir recém-nascidos com infecção daqueles sem infecção. No entanto, dosagens de IL-6 (0h) $<$ 36 pg/dl combinadas às de PCR(24h) $<$ 1mg/dl podem reforçar a não administração de antibióticos aos recém-nascidos com desconforto respiratório, devido ao VPN elevado e à taxa de probabilidade negativa baixa.

ESTADO VACINAL DE CRIANÇAS COM ARTRITE REUMATÓIDE JUVENIL

Cássia Maria Barduco de Carvalho

Orientadora: Prof Dra Virgínia Paes Leme Ferriani

Dissertação de Mestrado apresentada em 23/04/2007

O termo Artrite Reumatóide Juvenil (ARJ) designa um grupo heterogêneo de doenças de etiologia desconhecida cuja principal característica é a presença de artrite crônica. Uma das preocupações em relação aos pacientes com ARJ se refere à indicação adequada das vacinas. Ainda não há um consenso em relação à vacinação nessas crianças. Avaliando os protocolos de imunização praticados em crianças, há poucas informações específicas com relação às doenças reumáticas, o que torna difícil a indicação de algumas vacinas, pois os efeitos da imunossupressão da ARJ e de seu tratamento podem afetar a segurança e eficácia de certas vacinas. Além disso, há relatos de casos na literatura associando imunização e desenvolvimento de doenças reumáticas. No Brasil, não há uma orientação específica para crianças e adolescentes com doenças reumáticas. O objetivo principal desse estudo descritivo e retrospectivo foi avaliar, através de consulta ao cartão de vacinas, entrevista com pacientes e responsáveis e revisão de prontuários, o estado vacinal de 60 crianças com ARJ em acompanhamento no ambulatório de Reumatologia Pediátrica do Hospital da Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-Universidade de São Paulo há pelo menos um ano. A média de idade do início dos sintomas da ARJ foi de 6,2 anos e a maioria dos pacientes apresentavam ARJ poliarticular (55%). Observamos que

todos os pacientes com ARJ haviam recebido as vacinas contra tuberculose (BCG), pólio, sarampo e a vacina tríplice bacteriana (difteria, tétano e coqueluche). No entanto, foi detectado atraso de algumas das vacinas preconizadas pelo Ministério da Saúde do Brasil (principalmente as vacinas contra hepatite B e febre amarela) em 30 pacientes (50%). Alguns pacientes receberam vacinas especiais (que não constam no calendário básico do Ministério da Saúde do Programa Nacional de Imunização): vacina contra hepatite A (22 pacientes-36%), varicela (16 pacientes-26%), pneumococo (21 pacientes-35%) e meningococo (11 pacientes-18%), a maioria delas indicadas pela equipe médica de Reumatologia Pediátrica durante o acompanhamento. Durante o seguimento, foram identificados seis pacientes que apresentaram piora ou reativação da ARJ após imunização e as vacinas relacionadas foram: hepatite B (2 pacientes), vacina oral contra pólio (2 pacientes), hepatite A (1 paciente). Além disso, outros seis pacientes receberam vacinas num período menor de um mês antes do início dos sintomas de ARJ: dois receberam vacina contra hepatite B; um recebeu vacina oral contra pólio e hepatite B, um recebeu vacina oral contra pólio e tríplice bacteriana; um recebeu vacina oral contra pólio; e um recebeu vacina contra sarampo. Portanto, houve uma associação temporal entre a administração dessas vacinas e o início, reativação ou piora da ARJ. Não podemos afirmar que houve uma relação causal, pois devem ser realizados estudos clínicos controlados e prospectivos com maior número de pacientes para melhor elucidação.

DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE EQUILÍBRIO (PATAMAR) DO ÓXIDO DE DEUTÉRIO NA SALIVA DE RECÉM-NASCIDOS A TERMO SAUDÁVEIS

Luís Ângelo Marti Traver

Orientador: Prof.Dr. José Simon Camelo Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 12/06/2007

A análise de composição corporal constitui tema de grande importância para prática clínica diária, sendo que diversos métodos podem ser empregados para a determinação da composição corporal. Dentre esses métodos, o interesse no uso de isótopos estáveis tem ganhado cada vez mais espaço entre a comunidade científica. Dentre os isótopos estáveis, o deutério tem despontado como marcador de escolha para pesquisas clínicas em diversas faixas etárias, sobretudo em Pediatria. Entretanto, para que as análises que utilizam o método de diluição do deutério no cálculo da água corporal total possam apresentar real confiabilidade, etapas rigorosas da metodologia de seu uso devem ser respeitadas. Um aspecto fundamental para o uso do deutério é o conhecimento de seu tempo de equilíbrio ou momento em que é atingido o patamar de equilíbrio isotópico de seus níveis no fluido corporal a ser utilizado, uma vez que a coleta de amostras biológicas em períodos

de tempo inadequados pode levar ao erro dos resultados obtidos. Com o objetivo de se determinar o tempo de equilíbrio do deutério na saliva de pacientes neonatais após a ingestão de uma dose oral desse isótopo, este estudo avaliou vinte recém-nascidos a termo saudáveis, sendo dez do sexo masculino e dez do sexo feminino. Cada recém-nascido avaliado teve uma amostra de saliva coletada antes de receber uma dose oral de 100mg/Kg de óxido de deutério na concentração de 10 átomos%. Posteriormente foram coletadas amostras salivares por cinco horas consecutivas, com intervalo de tempo de uma hora entre cada coleta. A análise dos níveis de enriquecimento do deutério para a constatação de seu tempo de equilíbrio foi realizada através do espectrômetro de massas de razões isotópicas, conforme as normas padronizadas pela Agência Internacional de Energia Atômica (IAEA). O resultado obtido permite afirmar que o equilíbrio ou patamar do óxido de deutério na saliva dos recém-nascidos estudados ocorreu a partir da terceira hora após a ingestão oral do isótopo. Para o melhor de nosso conhecimento, este é o primeiro estudo sobre o tempo de equilíbrio do deutério em saliva de recém-nascidos a termo, amamentados ao seio durante as avaliações.

SAÚDE MENTAL

“VIGILÂNCIA DO DESENVOLVIMENTO” EM PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA: TRIAGEM PARA DETECÇÃO DE RISCOS PARA PROBLEMAS DE DESENVOLVIMENTO EM CRIANÇAS

Margaret Rose Santa Maria Mengel

Orientadora: Profa. Dra. Maria Beatriz Martins Linhares

Tese de Doutorado apresentada em 20/04/2007

O Programa de Saúde da Família (PSF) no Brasil deve manter ações preventivas orientadas para a detecção de riscos ao desenvolvimento e à saúde da criança, assim como a identificação de recursos para aliviar e neutralizar o efeito de adversidades. O presente estudo teve por objetivo geral sistematizar, aplicar e avaliar um procedimento de “Vigilância do Desenvolvimento”, que consistiu na triagem para rastrear riscos para problemas de desenvolvimento e comportamento da criança e para identificar recursos protetores na criança e no ambiente familiar. Para tanto, os objetivos específicos foram: a) identificar os problemas de desenvolvimento e comportamento da criança; b) identificar

os problemas no ambiente familiar; c) identificar os recursos da criança e do ambiente familiar; d) verificar as associações entre os indicadores globais de desenvolvimento, de linguagem e de comportamento das crianças e as variáveis da própria criança e do seu ambiente psicossocial; e) identificar o melhor modelo de predição dos problemas de desenvolvimento e comportamento da criança e da inserção na educação infantil; f) avaliar a validade preditiva dos procedimentos de avaliação de Vigilância do Desenvolvimento. A amostra foi constituída por 120 crianças não-clínicas, de seis a 44 meses de idade, provenientes de uma comunidade cadastrada no Núcleo IV do PSF da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP. Na avaliação utilizou-se o Teste de Denver-II, Lista LAVE, Roteiro de Entrevista para Risco Psicossocial, Índice de Risco Psicossocial (Rutter), Inventário HOME, CBCL 1½ - 5, Escala de Even-

tos Vitais, Escala Modos de Enfrentamento de Problemas e Questionário ABIPEME. O procedimento de coleta envolveu uma visita domiciliar para avaliação da criança, entrevista com o cuidador e observação do ambiente familiar. Após cerca de um ano foi realizada a reavaliação das crianças. Verificou-se que 33% delas encontravam-se em risco para problemas de desenvolvimento; esta porcentagem foi próxima às encontradas em estudos brasileiros e americanos. Verificou-se alta incidência na amostra de indicadores de problemas de linguagem (39%) e de comportamento (48%). As famílias apresentavam risco psicossocial devido às condições de moradia precária, baixa escolaridade e qualificação profissional dos pais, e problemas financeiros. Em que pese essas adversidades, foi encontrada boa estimulação ambiental e adequada interação no contexto familiar, situando-se na média pelo HOME. A baixa escolaridade

paterna foi preditora do risco no desenvolvimento global da criança. A linguagem expressiva em risco foi predita tanto pela história do estado nutricional da criança abaixo do normal aos seis meses, quanto pelo alto índice de risco psicossocial familiar. Os problemas de comportamento, por sua vez, foram preditos por ausência de renda própria da mãe e temperamento negativo da criança. O fato de a criança não ter antecedentes mórbidos, a mãe ter renda própria e enfrentar problemas buscando suporte social foram preditores da inserção da criança na educação infantil. O modelo de triagem de vigilância do desenvolvimento mostrou ser sensível para detecção de riscos no desenvolvimento das crianças após um ano da avaliação. Os achados do presente estudo fornecem subsídios para planejamento de medidas preventivas na área de desenvolvimento e saúde mental da criança no âmbito do PSF.

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE USO DE ÁLCOOL EM MUNICÍPIO COM CARACTERÍSTICAS RURAIS NO ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL

Evani Helena Coelho de Azevedo Marques

Orientador: Prof.Dr. Frederico Guilherme Graeff

Tese de Doutorado apresentada em 05/05/2007

Estima-se que dois bilhões de pessoas sejam usuárias atuais de bebidas alcoólicas no mundo e que seu uso indevido seja a terceira causa mais comum de anos de vida perdidos por incapacidades. A prevalência de problemas relacionados ao uso de álcool varia nas diferentes regiões do mundo, atingindo cerca de 10% dos homens adultos na Europa e partes do Leste Europeu, em 2000. No Brasil, a totalidade dos estudos sobre o uso de álcool refere-se a grandes centros urbanos, sentindo-se carência de dados referentes às áreas rurais.

Esta pesquisa objetiva estudar algumas características referentes ao uso de álcool numa pequena cidade com características rurais da região nordeste de São Paulo (Cássia dos Coqueiros, 2.800 habitantes), tendo sido apresentada ao Programa de Saúde Mental da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção do título de doutor. Um questionário estruturado que investigava dados demográficos, padrões de consumo e problemas relacionados ao uso de álcool (o qual incluía o “Alcohol Use Disorders Identification Test” - AUDIT) foi aplicado a 1.902 habitantes, com idade igual ou superior a 12 anos, correspondente a 87,6% da população-alvo.

A prevalência de usuários atuais de álcool foi de 30,8%, com valores de 44,5% para os homens e 16,9% para as mulheres. Verificou-se aumento significativo dessa prevalência em relação à idade até a faixa dos 25-34 anos, com progressiva diminuição após a mesma. Observou-se uma

relação diretamente proporcional quanto à escolaridade, com valores extremos de 41,0% entre aqueles com curso superior e de 20,5% entre os que nunca freqüentaram escola. Fenômeno idêntico foi observado em relação ao estrato social, com valores extremos de 40,4% e 28,8% para os indivíduos pertencentes ao conjunto dos estratos sociais B+C comparados àqueles dos estratos D+E, conforme o Critério de Classificação Econômica Brasil. Os indivíduos pertencentes às religiões denominadas “pentecostais” (agrupadas segundo a preconização de algum tipo de abstinência) apresentaram grau significativamente menor de uso de álcool atual. Não foram encontradas associações estatísticas significativas entre este último e área de residência (rural ou urbana) ou estado civil.

Entre os usuários atuais de álcool, 3,2% iniciaram o seu uso com idade de 7 a 11 anos e 55,7% antes dos 18 anos. A maioria desses usuários consumia álcool numa freqüência de até 2-4 vezes por mês. Cerveja foi o tipo de bebida mais consumida por ambos os sexos nos diferentes estratos sociais. A intenção de interromper o consumo foi demonstrada por 15,9% dos usuários atuais de álcool, sendo que a maioria pertencia a classes de menor renda. Uso indevido de álcool, conforme o resultado do AUDIT associou-se significativamente ao sexo masculino e uso concomitante de tabaco. Não foram observadas associações estatísticas entre o resultado do AUDIT e área de residência, escolaridade, estrato social, estado civil e religião.

Pela sua considerável relevância o problema do uso indevido de álcool faz por merecer o desenvolvimento de programas dirigidos à sua profilaxia e ao seu controle nessa população de características rurais.

ALTERAÇÕES VOLUMÉTRICAS NO TRANSTORNO DO PÂNICO: UM ESTUDO DE MORFOMETRIA BASEADA NO VÓXEL

Ricardo Riyoiti Uchida

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guilherme Graeff
Tese de Doutorado apresentada em 23/05/2007

Introdução: Anormalidades em estruturas cerebrais envolvidas na neurobiologia do medo e da ansiedade têm sido implicadas na fisiopatologia do Transtorno do Pânico (TP). **Objetivo:** Determinar anormalidades cerebrais estruturais em pacientes com TP comparados com controles saudáveis. **Método:** O volume de estruturas cerebrais relacionadas com ansiedade foram adquiridos em imagens de Resonância Magnética (RM) de 19 pacientes com TP e 20

controles saudáveis através da Morfometria Baseada no Vóxel (MBV) otimizada. **Resultados:** Aumento relativo de substância cinzenta foi encontrado através da MBV em ínsula e giro temporal esquerdos, bem como em tronco cerebral de pacientes com TP. Diminuição de volume de substância cinzenta ocorreu em cíngulo anterior direito. **Conclusões:** Estes resultados identificam em pacientes com TP alterações em regiões que têm sido implicadas na ansiedade e seus Transtornos. A ínsula e o cíngulo anterior podem ser relevantes na fisiopatologia do TP, visto que participam do processo de percepção e avaliação de estímulos interoceptivos. As estruturas anormais em tronco cerebral podem estar envolvidas na geração de ataques de pânico.

PADRÕES DE REATIVIDADE À DOR E RECUPERAÇÃO EM NEONATOS PRÉ-TERMO

Juliana Thomazatti Chimello

Orientadora: Profª. Dra. Maria Beatriz Martins Linhares
Dissertação de Mestrado apresentada em 01/06/2007

Estudos sobre dor em neonatos baseiam-se mais em indicadores comportamentais e fisiológicos pontuais do tipo *escore* do que padrões processuais de respostas. O presente estudo teve por objetivo descrever padrões individuais de reatividade à dor e recuperação de neonatos pré-termo em procedimento de coleta de sangue e verificar o efeito do sexo e idade gestacional nos padrões de reatividade e recuperação dos neonatos. A amostra foi composta por 48 neonatos pré-termo (Med=31 semanas) e muito baixo peso (Med=1.145 gramas) internados na Unidade de Terapia Intensiva Neonatal do HCFMRP/USP. Foram estabelecidas cinco fases na observação do procedimento de coleta de sangue: *Linha de Base* (LB), *Preparação para Punção* (PP), *Punção* (P), *Recuperação Com Manuseio* (RCM) e *Recuperação Sem Manuseio* (RSM). Foi realizada filmagem da atividade facial do neonato e o estado de vigília e sono e a frequência cardíaca foram registrados à beira da incubadora. Os prontuários médicos foram analisados, a fim de se obter dados sobre características e evolução clínica dos neonatos. As vídeo-gravações da atividade facial dos bebês foram analisadas posteriormente pelo *Neonatal Facial Coding System* (NFCS) e o padrão de reatividade à dor e recuperação dos neonatos foi analisado utilizando-se escores e medidas de latência, magnitude e duração das respostas comportamentais e fisiológica, com comparação intra-grupo das fases de observação. O observador era "cego" em relação à fase analisada e às características clínicas dos neonatos. Na fase de Preparação para Punção,

os neonatos passaram significativamente a estados de maior ativação fisiológica e comportamental em relação à fase de Linha de Base, indicando antecipação da reatividade à dor frente ao estímulo do manuseio. Na fase de Punção, os neonatos apresentavam significativamente maior ativação comportamental e fisiológica do que na Linha de Base e na fase de Preparação para Punção. Na fase de Recuperação Com Manuseio os neonatos apresentaram frequência cardíaca significativamente mais alta do que nas demais fases. Na fase de Recuperação Sem Manuseio 31% dos neonatos continuaram ativados do ponto de vista comportamental em relação à Linha de Base, sendo que a frequência cardíaca permaneceu aumentada em 83% dos neonatos em relação ao padrão basal. A análise dos escores do NFCS indicou que na fase de Recuperação em relação às demais fases houve uma diminuição da atividade facial indicativa de dor. Entretanto, ao se analisar as magnitudes de resposta de atividade facial, observou-se que apenas 10% dos neonatos se recuperou. Não foi detectada diferença significativa entre os padrões de reatividade e recuperação à dor de acordo com o sexo. Os neonatos de menor idade gestacional apresentaram maior magnitude de resposta de frequência cardíaca frente ao estímulo doloroso da punção, enquanto que os de maior idade gestacional apresentaram maior magnitude de resposta de frequência cardíaca frente ao estímulo do manuseio. Nota-se a importância de se avaliar os padrões de reatividade comportamental e fisiológica à dor e recuperação em neonatos pré-termo com muito baixo peso, a fim de melhor compreender o funcionamento desses neonatos, o que contribui para as medidas de alívio da dor, minimizando seus efeitos adversos a médio e longo prazo no desenvolvimento da criança.

EQUIPES DE SAÚDE MENTAL: AVALIAÇÃO DA SATISFAÇÃO E DO IMPACTO DO TRABALHO EM HOSPITALIZAÇÃO INTEGRAL E PARCIAL

Sérgio Ishara

Orientador: Prof. Dr. Antônio Waldo Zuardi

Tese de Doutorado apresentada em 15/06/2006

Os avanços na compreensão da doença mental, em uma perspectiva bio-psico-social, ampliaram os recursos terapêuticos, promovendo a utilização de abordagens multidisciplinares e o surgimento de serviços substitutivos ao hospital psiquiátrico tradicional. Estudos sobre a satisfação e a sobrecarga de profissionais que integram equipes de serviços de saúde mental têm sido recomendados pela Organização Mundial de Saúde, visando a sistematização de processos de avaliação e o aprimoramento da qualidade dos serviços. Neste estudo, trabalhadores que integram equipes em serviços de hospitalização integral e parcial, do município de Ribeirão Preto, responderam as escalas da OMS de avaliação da satisfação (SATIS-BR) e do impacto no trabalho (IMPACTO-BR) em profissionais de serviços de saúde mental e o Inventário de Sintomas de Stress de Lipp (ISSL), visando à investigação dos níveis de satisfação, sobrecarga e estresse profissional. Participaram do estudo 172 sujeitos, sendo 136 profissionais contratados e 36 médicos residentes de psiquiatria. A coleta de dados foi realizada em seis unidades psiquiátricas, das quais três eram de um hospital universitário, sendo um hospital dia, uma enferma-

ria e uma enfermaria de internação breve. As outras três unidades foram um centro de atenção psicossocial e duas unidades de um hospital psiquiátrico, sendo uma masculina e uma feminina. Na amostra de profissionais contratados, os resultados apontaram escore médio de satisfação de 3,26 (faixa entre 1 e 5), tendo ocorrido maior satisfação nos fatores “Qualidade do Serviço” e “Relacionamentos no Trabalho” e, menor nos fatores “Condições de Trabalho” e “Participação no Serviço”. Diferenças significativas entre escores de satisfação puderam ser observadas entre duas unidades de um mesmo complexo hospitalar. Para a amostra de profissionais contratados, o escore médio de sobrecarga foi 1,85 (faixa entre 1 e 5) e os resultados da aplicação do ISSL mostraram ocorrência de estresse em 23% dos participantes, estando quase todos na fase de resistência, com predominância de sintomas psicológicos. Na comparação das amostras estudadas, foram observados maiores escores de sobrecarga e maior ocorrência de estresse entre os médicos residentes, em relação aos profissionais contratados. Observou-se correlação negativa entre resultados da satisfação e sobrecarga. Conclui-se pela necessidade de realizar avaliações contínuas e regulares dos serviços, a fim de monitorar a satisfação e o impacto do trabalho, visando ao desenvolvimento dos serviços, com qualidade de vida dos profissionais e um melhor atendimento aos usuários.

SAÚDE NA COMUNIDADE

ALTERAÇÕES LIPÍDICAS NA POPULAÇÃO NIPO-BRASILEIRA DE MOMBUCA, GUATAPARÁ - SP

Roberta Carvalho de Figueiredo

Orientador: Prof. Dr. Laércio Joel Franco

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/04/2007

Introdução: Estudos epidemiológicos com populações migrantes trazem resultados promissores para a compreensão da etiopatogenia das DCNT. A observação que populações migrantes apresentam padrões distintos de morbimortalidade, quando comparados aos residentes de seu local de origem, em conseqüências de mudanças em seus hábitos e costumes, no processo de adaptação ao novo ambiente, tem propiciado a produção de vasta literatura científica sobre o assunto. Elevadas prevalências de obesidade abdominal, diabetes, dislipidemias e hipertensão arterial já foram descritas, em estudo realizado com a população

nipo-brasileira adulta de Bauru, SP. Uma população de origem japonesa, que ainda mantenha muito de seus hábitos de vida tradicionais, apresentaria baixa freqüência de dislipidemias e de diabetes? Para tentar responder essa pergunta, estudou-se uma população de origem japonesa que vive no distrito de Mombuca, Guatapará-SP, que chegou ao Brasil mais recentemente (1962) e que até os dias atuais vive em uma comunidade semi-rural, mantendo muito de seus hábitos de vida tradicionais. **Objetivo:** Analisar as alterações lipídicas dos nipo - brasileiros adultos de Mombuca, Guatapará - SP, relacionando-as com algumas condições clínicas. **Casuística e métodos:** Total de 131 indivíduos, de ambos os sexos, sem miscigenação, participaram do estudo transversal conduzido no ano de 2005. Foram aplicados questionários (sócio-demográfico, de saúde e nutricional) e

coletadas amostras de sangue para realização de exames bioquímicos. Foram considerados alterados os valores de colesterol total ≥ 200 mg/l, de HDL-colesterol < 40 mg/dl e < 50 mg/dl, respectivamente para homens e mulheres, de LDL-colesterol ≥ 130 mg/dl e de triglicérides ≥ 150 mg/dl. Os indivíduos com pelo menos uma das frações lipídicas alterada, ou que estivessem em uso de medicação hipolipêmica, tiveram o diagnóstico de dislipidemia. **Resultados:** A população de estudo apresentou uma média de idade de 56,7 anos, com predominância de indivíduos de 1ª geração (issei), 70,4% dos homens e 67,5% das mulheres. Empregando-se os pontos de corte do IMC para adultos asiáticos, encontrou-se 21,4% dos indivíduos com sobrepeso e 42,0% com

obesidade. Os homens apresentaram valor médio de CA de 88,6cm e as mulheres 83,1cm. Na população total, a prevalência de hipertensão foi de 48,1% e de diabetes mellitus de 13,7%. Síndrome Metabólica foi diagnosticada em 20,4% dos homens e em 32,5% das mulheres. A prevalência de dislipidemia foi elevada, 76,3% para a população total, 68,5% para o sexo masculino e 81,8% para o sexo feminino. **Conclusão:** Os resultados mostraram uma alta prevalência de dislipidemia nessa população, mais freqüente no sexo feminino e nos indivíduos obesos ou com obesidade abdominal, evidenciando possuírem alto risco para o aparecimento de doenças cardiovasculares e a necessidade programas de intervenção para prevenir esse grupo de doenças.

ESTUDO DE DOADORES DE SANGUE COM SOROLOGIA REAGENTE PARA HEPATITES B E C, HIV E SÍFILIS NO HEMOCENTRO DE RIBEIRÃO PRETO

Oranice Ferreira

Orientador: Prof.Dr. Afonso Dinis Costa Passos
Dissertação de Mestrado apresentada em 27/04/2007

Uma das maiores preocupações relacionadas à segurança transfusional é a possibilidade de transmissão de doenças/infecções através de sangue transfundido, entre as quais se encontram as hepatites B e C, o HIV e a sífilis. Este trabalho teve como objetivo estudar doadores que passaram pelo processo de seleção pré-doação no Hemocentro de Ribeirão Preto e apresentaram resultados de testes sorológicos positivos para essas doenças/infecções. Estudou-se a freqüência dos resultados positivos entre os indivíduos que doaram sangue no Hemocentro de Ribeirão Preto ou em seu Posto de Coleta Central, de 1º de julho de 2005 a 31 de julho de 2006. Os indivíduos com resultados sorológicos positivos confirmados em um segundo teste foram caracterizados segundo algumas variáveis demográficas e socioeconômicas, tendo sido identificados seus fatores de risco e as causas determinantes de sua não-detecção na triagem clínica (TC). Estudaram-se também o comportamento dos doadores em relação à auto-exclusão confidencial (AEC) e os fatores determinantes desse comportamento.

Participaram da pesquisa 106 doadores, predominantemente do sexo masculino e casados, com menos de 40 anos de idade e baixa escolaridade. Eram principalmente doadores de primeira vez, procedentes de Ribeirão Preto e da região de Ribeirão Preto e pertencentes aos estratos econômicos C e D.

As freqüências de marcadores sorológicos positivos encontradas foram: 0,07% para o HbsAg; 0,03% para o anti-HIV; 0,13% para o VDRL; 0,21 para o anti-HCV.

Cerca de 40% dos participantes assumiram ter omitido fatores de risco na TC. Os motivos mencionados foram: não se sentir à vontade para falar ou não achar relevante fazê-lo; confiar totalmente nos exames; ter como objetivo conhecer sua condição sorológica; encontrar problemas relacionados à entrevista/triador; não confiar no sigilo das informações; sentir constrangimento diante de acompanhantes. Apenas 1,9% dos participantes utilizaram a AEC, e as justificativas alegadas foram: estar se sentindo bem e, por isso, não julgar necessário; não se considerar de risco; não achar que tivesse mentido na entrevista.

Os achados indicam a necessidade de mudar a abordagem dos doadores na TC, de rever os procedimentos de captação de doadores e de reavaliar profundamente os procedimentos de orientação/conscientização dos candidatos à doação, procurando tornar esses procedimentos mais eficazes.

MULHERES ESTERILIZADAS VOLUNTARIAMENTE PELO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE EM RIBEIRÃO PRETO – SP, SEGUNDO O TIPO DE PARTO

Adriana Martins Rodrigues

Orientadora: Profa.Dra. Elisabeth Meloni Vieira
Dissertação de Mestrado apresentada em 03/05/2007

No Brasil, a saúde, como direito do cidadão e dever do Estado, é garantida pela constituição de 1998. Em 1983 foi criado o PAISM, propondo a perspectiva de atendi-

mento integral à saúde da mulher, com o objetivo de considerar, no âmbito da saúde, também o entorno social, emocional e psicológico da mulher, bem como as questões relacionadas à contracepção. No entanto, sua implantação ainda não se realizou efetivamente até o momento atual, o que pode ser observado pela alta prevalência de gestações indesejadas, dificuldade de acesso a informações sobre planejamento familiar, predomínio da esterilização cirúrgica feminina como método contraceptivo e da cesárea como via de parto, aspectos que ferem os direitos sexuais e reprodutivos das mulheres. Um novo contexto tem se desenhado a partir da implantação da Lei 9 263, que regulamenta o planejamento familiar, e pela qual a esterilização cirúrgica é aprovada e passa a ser ofertada pelo sistema público de saúde, o que, por sua vez, permite a desvinculação da esterilização com o parto. O presente estudo tem por objetivo conhecer as características das mulheres que se esterilizaram pelo SUS, em Ribeirão Preto, entre 2000 e 2004, segundo o tipo de parto, cesárea e parto vaginal. A amostra foi composta por 235 mulheres esterilizadas nos primeiros cinco anos de oferta da esterilização cirúrgica (2000-2004).

Os dados foram coletados através de entrevistas domiciliares, utilizando-se questionário estruturado. Os resultados demonstraram que a maioria das mulheres esterilizadas era branca, casada, com escolaridade até o ensino fundamental e pertencia à categoria socioeconômica C e D. A maioria foi esterilizada entre 30 e 39 anos de idade, com média de 33,3 e mediana de 33 anos, 52,3% faziam uso da pílula como método contraceptivo antes da esterilização. Elas têm, em média, 3,2 filhos e 51,7% teve o primeiro filho entre 13 e 19 anos de idade. Este estudo indicou que as mulheres esterilizadas, em sua maioria, têm mais filhos, começaram a ter filhos mais cedo, usaram mais contraceptivos enquanto esperavam pela cirurgia e se esterilizaram mais tarde quando comparadas aos resultados de outros estudos. Em relação ao tipo de parto, 71,2% dos partos ao longo da trajetória reprodutiva dessas mulheres foram vaginais, enquanto 28,8% cesáreas, o que aponta para o importante aspecto da desvinculação da esterilização com a cesárea, como objetiva a Lei, e que essas mulheres que tiveram, em sua maioria, partos vaginais, estão tendo melhor acesso à esterilização.

GERENCIAMENTO DE CUSTOS DE MATERIAL DE CONSUMO EM UM HOSPITAL DE ENSINO

Maria Eulália Lessa do Valle Dallora

Orientadora: Profa. Dra. Aldaísa Cassanho Forster
Dissertação de Mestrado apresentada em 29/06/2007

O aumento dos gastos e custos na saúde é acompanhado com preocupação pelos gestores. O conhecimento dos custos é passo fundamental para a gestão dos hospitais. Na composição dos custos hospitalares, o item material de consumo representa parcela significativa. Nos hospitais de ensino, organizações complexas, a gestão dos custos de materiais de consumo vem assumindo grande importância. Este trabalho foi desenvolvido no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Os objetivos foram: caracterizar os gerentes dos centros de custos auxiliares e produtivos; verificar o gerenciamento de custos de material de consumo, nas dimensões direção, planejamento e controle; verificar a utilização das informações disponibilizadas pela instituição sobre custos de material de consumo; identificar o conhecimento dos gerentes sobre conceitos elementares de custos e acerca dos materiais de consumo com maior impacto financeiro na programação dos centros de custos. A população do estudo constituiu-se dos gerentes dos centros de custos auxiliares e produtivos. Participaram da pesquisa 40 responsáveis aos quais foi aplicado um questionário que incluía uma escala tipo Likert com 29 afirmativas. Dos geren-

tes participantes há predominância do sexo feminino (70%); 65% são profissionais da área da saúde; 80% têm mais de 15 anos de formado; 87,5% atuam no Hospital há mais de 10 anos denotando experiência no setor; 82,5% assumiram o cargo há menos de 19 anos; 70% sem especialização em administração, gestão em saúde ou gestão de serviços, porém, 57,5% informaram possuir outra titulação técnica. Das afirmativas, 55% apresentaram, em média, repostas dos gerentes coerentes com uma gestão adequada de custos com materiais de consumo. Pela importância do tema entende-se que este índice é baixo, sem possibilidade de comparação com outro parâmetro na literatura disponível. O planejamento e controle são as funções do gerenciamento dos custos com materiais de consumo mais desenvolvidas pelos gerentes, enquanto que a função direção apontou práticas pouco rigorosas. Os gerentes apresentaram baixo conhecimento sobre os conceitos elementares de custos hospitalares. Demonstraram conhecer os materiais de consumo com maior impacto financeiro na programação dos centros de custos sob sua responsabilidade. As informações disponibilizadas pela Instituição são pouco aproveitadas, não sendo bem compreendidas e, segundo os respondentes, não representam a realidade da área. A melhoria desse resultado requer maior capacitação e conscientização dos gerentes dos centros de custos e também aprimoramento do sistema de gestão institucional, de forma a propiciar maior autonomia e responsabilização dos gerentes.