

## Resumos de dissertações de mestrado e teses de doutorado apresentadas na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP de abril a junho de 2009

### Biologia Celular e Molecular

#### UM NOVO PAPEL PARA A MIOSINA-Va EM CONJUNTO COM A QUINASE DE ADESÃO FOCAL NA DINÂMICA DE ADESÃO E MIGRAÇÃO CELULAR

**Guilherme Pedreira de Freitas Nader**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Enilza Maria Espreafico

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/05/2009

As miosinas constituem uma importante classe de motores moleculares responsáveis, dentre outras funções, pelo tráfego de biomoléculas e espalhamento celular. Em células saudáveis, os motores moleculares são responsáveis pelo sequestro de moléculas pró-apoptóticas e, evidências diretas relacionam a miosina da classe V com esta regulação. A apoptose, processo de eliminação de células danificadas ou senescentes, constitui um processo que faz parte da homeostase tecidual e, portanto, do equilíbrio do organismo como um todo. Distúrbios na regulação do mesmo podem acarretar no desenvolvimento de doenças como o câncer. O processo de adesão, essencial para a proliferação e diferenciação celular, tem como mediadores essenciais as integrinas e a tirosina quinase de adesão focal (FAK), que executa diversos eventos de fosforilação relacionados, dentre outros processos, com adesão e migração. No presente trabalho, mostramos inicialmente, através de ensaios de dinâmica de adesão em matriz de fibronectina, que a fosforilação do resíduo de serina 1650 da miosina-Va (MVa) encontra-se aumentada em células que estão em suspensão em relação àquelas que estão aderidas há pouco tempo (30 min). Alguns experimentos realizados sugerem ainda um importante papel para a MVa em situações que ameaçam a sobrevivência celular: após submeter células de melanoma ao bloqueio de adesão, a MVa fosforilada sofre uma redistribuição passando para a periferia celular (nos pontos dos contatos focais), sugerindo que a mesma possa estar relacionada com a manutenção da adesão celular sob condições de estresse. Quando transfectada, a MVa localiza-se na ponta do filopódios e é capaz de aumentar o potencial adesivo de células mutantes para a mesma. Em outras abordagens observamos a ocorrência de interação entre MVa e FAK (imunoprecipitação, *pull down*) ou colocalização (microscopia confocal). Além disso, células mutantes para o gene MYO5A exibem falha nas funções de adesão e migração além de apresentarem a FAK mais recuada e menos evidente na periferia celular durante tais processos. Sendo assim, nosso trabalho sugere um importante e inédito papel conjunto entre essas duas proteínas nos processos de adesão e migração celular.

#### DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS RELATIVOS DE ALGUMAS PROTEÍNAS RELACIONADAS AO PROCESSO APPTÓTICO E CONTROLE DO CICLO CELULAR EM CÉLULAS PRECURSORAS HEMATOPOÉTICAS NORMAIS E LEUCÊMICAS

**Lucas Oliveira Sousa**

Orientador: Prof. Dr. Lewis Joel Greene

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/05/2009

Os novos regimes quimioterápicos desenvolvidos para a leucemia mielóide aguda (LMA) têm conseguido induzir a remissão da doença e aumentado a sobrevida dos pacientes leucêmicos. Porém, as recidivas continuam a ser um problema bastante comum, especialmente entre pacientes mais idosos e/ou pacientes com alterações citogenéticas associadas a mau prognóstico. As recidivas foram atribuídas à existência de células-tronco leucêmicas quiescentes e, por essa razão, resistentes à quimioterapia. As células-tronco leucêmicas assemelham-se às normais, porém são portadoras de mutações e translocações cromossômicas que foram responsáveis por suas propriedades neoplásicas. Uma característica das células neoplásicas é que os complexos caminhos que controlam o mecanismo de apoptose estão de alguma forma, prejudicados ou impedidos por fatores que, provavelmente, incluem a redução da expressão de algumas proteínas

apoptóticas, bem como o aumento da produção de proteínas ou enzimas antiapoptóticas. O objetivo desta pesquisa foi identificar diferenças nos níveis de algumas proteínas relacionadas com a apoptose e outras envolvidas no ciclo celular em células precursoras hematopoéticas normais quando comparadas com células precursoras leucêmicas (CD34<sup>+</sup>). Um estudo comparativo dessas proteínas nas células que são responsáveis pela homeostase normal do tecido hematopoético e que também contém as células que geram e mantêm a LMA poderá nos fornecer subsídios sobre a gênese e manutenção desta neoplasia, assim como possíveis marcadores ou alvos terapêuticos. Uma abordagem proteômica seletiva para proteínas relacionadas à apoptose foi usada no presente trabalho, fugindo das propostas mais comuns que normalmente realizam um inventário de proteínas com níveis aumentados ou diminuídos em células leucêmicas. Proteínas envolvidas nos processos apoptóticos e no controle de ciclo celular foram buscadas nos géis bidimensionais utilizando os pontos isoeletrônicos e as massas moleculares teóricas de um arranjo de proteínas previamente escolhido. Os spots que apresentaram níveis diminuídos ou aumentados foram digeridos com tripsina e os peptídeos tripsínicos submetidos à espectrometria de massas *MALDI-TOF-TOF MS/MS* para a identificação das proteínas diferencialmente acumuladas em células CD34<sup>+</sup> leucêmicas. Também foi utilizada metodologia de separação de peptídeos tripsínicos por cromatografia líquida de fase reversa seguida por espectrometria de massas *MALDI-TOF-TOF (LC/MALDI)*. Foi possível a identificação de cerca de 90 proteínas com níveis diferenciais ou exclusivas de células CD34<sup>+</sup> de dois subtipos de LMA ou das células CD34<sup>+</sup> normais utilizadas como controle, sendo que grande parte das proteínas identificadas neste trabalho são descritas por desempenhar funções em processos regulatórios da apoptose e ciclo celular. A presença das proteínas nucleofosmina, calreticulina, metastasina dentre outras possibilitou a elaboração de um esquema representativo da importância destas proteínas em células de LMA.

## INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS POR BOCAVIRUS HUMANO: ASPECTOS CLÍNICOS E MOLECULARES

**José Luiz Proença Módena**

Orientador: Prof. Dr. Eurico de Arruda Neto

Tese de Doutorado apresentada em 20/05/2009

O bocavirus humano (HBoV) é um parvovirus recentemente identificado em associação com a presença de sintomas de infecção do trato respiratório. Esse vírus possui um genoma de aproximadamente 5217 nucleotídeos que contém 3 “*open reading frames*” que codificam 4 proteínas (NS1, NP-1, VP-1 e VP-2). HBoV tem sido detectado em amostras respiratórias de diversas partes do mundo, incluindo Austrália, América do Norte, Europa, Ásia e África, o que sugere uma distribuição global desse vírus. Entretanto, nenhum estudo longitudinal de HBoV em amostras respiratórias foi realizado na América Latina. Dessa forma, nós realizamos um estudo prospectivo de HBoV em lavados nasofaríngeos (LFNs) coletados de pacientes com sintomas de infecção do trato respiratório (IRA) atendidos em um hospital universitário de Ribeirão Preto, SP e em um hospital universitário de Salvador, BA no período entre 2005 a 2007. 1288 LFNs de 1217 pacientes foram encaminhados ao laboratório de virologia e foram testados por PCR para HBoV. Desses pacientes, 962 eram menores de 5 anos e 177 eram maiores de 5 anos. Além disso, também foram analisados 50 LFNs de crianças menores de 5 anos que não tinham sintomas respiratórios. Todas as amostras positivas para HBoV foram testadas para todos os outros vírus respiratórios, incluindo o vírus sincicial respiratório (HRSV), rinovirus humano (HRV), influenza humano (HFLU), metapneumovirus humano (HMPV), parainfluenza humano (HPIV), coronavírus humano (HCoV) e adenovirus humano (HAdV). A carga viral de HBoV foi determinada por PCR em tempo real em todas as amostras positivas e o genoma completo de 19 amostras de HBoV foi sequenciado. Com intuito, de fazer um levantamento sorológico e determinar sítios replicativos de HBoV, nós ainda clonamos e expressamos em *S. cerevisiae* (Y258) o gene de VP2, que codifica uma das proteínas do capsídeo viral.

A prevalência desse vírus foi de 4,8% em crianças menores de cinco anos e de 1% em pacientes maiores de cinco anos. HBoV não foi detectado em crianças sem sintomas. Dos 259 pacientes analisados em 2005, 25 (10%) foram positivos para HBoV. Esse vírus circulou mais frequentemente em abril, mês de maior incidência do HRSV. Em 2006, HBoV foi detectado em apenas 10 LFNs de 334 (3%) amostras testadas, sem qualquer pico de frequência. Em 2007 HBoV foi detectado em 13 de 552 (2%) amostras, com uma frequência de detecção um pouco maior em junho e julho. Os sintomas mais comumente observados foram rinorréia, tosse, febre e chiado, que foram observados geralmente em mais de 50% dos casos positivos para HBoV. Não houve uma diferença significativa na prevalência desses sintomas entre as crianças positivas e negativas para HBoV. Entretanto, foi observada uma maior frequência de diarreia entre as crianças com esse vírus. Nesse estudo também foi documentado uma alta frequência de co-infecções virais entre os pacientes com HBoV. Os vírus mais frequentemente associados com o bocavirus humano foram: HRSV, HRV e HAdV. Além disso, foi detectado uma maior carga viral média e uma maior frequência de diarreia nos 15 pacientes com infecção exclusiva por HBoV do que nos

pacientes com co-infecção. Esses resultados mostraram que HBoV pode alcançar títulos enormes (tão grandes como  $10^{14}$ /mL) em LFNs de pacientes com sintomas respiratórios e que isso é associado a de diarreia. O sequenciamento do genoma inteiro de HBoV realizado nesse estudo indica que a divergência genômica entre as amostras desse vírus é muito pequena. Como conclusão, nós demonstramos que HBoV circula e é detectado em associação com sintomas de infecção respiratória e diarreia no Brasil. Novos estudos, com um longo acompanhamento em diferentes populações serão necessários para determinar a sazonalidade e o real impacto clínico de HBoV em nosso país.

## **APOPTOSE EM INFECÇÃO PELO VÍRUS OROPOUCHE**

**Gustavo Olszanski Acrani**

Orientador: Prof. Dr. Eurico de Arruda Neto

Tese de Doutorado apresentada em 26/05/2009

Oropouche (OROV) é um vírus de RNA de fita simples pertencente à família *Bunyaviridae*, gênero *Orthobunyavirus* e sorogrupo Simbu, que causa a segunda mais frequente arbovirose febril aguda no Brasil. Estima-se que mais de meio milhão de casos de febre do OROV ocorreram no país nos últimos 30 anos. A febre do Oropouche é relatada principalmente na região Amazônica, porém, com o aquecimento global, o desmatamento, e a redistribuição de insetos vetores, o risco da disseminação do vírus para outras áreas do Brasil e da América do Sul aumenta. Tem sido demonstrado que grande variedade de vírus induzem apoptose quando infectam células em cultura e modelos animais. Este estudo foi feito para determinar se a apoptose desempenha um papel importante no efeito citopático causado pelo vírus Oropouche *in vitro* em células HeLa. A infecção dessa cultura de células resultou em fragmentação do DNA, detectada pelos ensaios de TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated nicked-end labeling), eletroforese em gel de agarose e análise do conteúdo nuclear por citometria de fluxo (população Sub-G1). Os resultados mostraram que células HeLa infectadas por OROV apresentaram um alto grau de fragmentação do DNA após 36 horas de infecção. Ativação de caspase 9, caspase 3 e liberação de citocromo c da membrana da mitocôndria também foram detectados durante a infecção pelo vírus, conforme revelado em ensaios de “western blot” e citometria de fluxo. A inoculação de vírus inativados por radiação ultravioleta não induziu apoptose neste modelo, revelando que a ligação do vírus com as células não é suficiente para desencadear esta resposta. O tratamento das células com Cloroquina e Cicloheximida também revelaram que a saída do vírus do endossomo e a replicação do mesmo são necessárias para a indução de apoptose. Além disso, foi mostrado que inibidores de caspases impediram a apoptose induzida pelo OROV sem afetar a replicação do vírus. A clonagem e expressão da proteína não estrutural NSs de OROV em células HeLa revelou um potencial papel desta proteína no mecanismo de indução de apoptose pelo vírus. Nossos resultados mostram então que apoptose é uma importante consequência da infecção pelo vírus Oropouche *in vitro*, a qual ocorre através de uma via intracelular que envolve a mitocôndria, e que é provavelmente acionada durante o processo de replicação e síntese das proteínas virais. A análise da indução de apoptose foi também realizada em modelo animal, onde foi observada marcação de TUNEL em tecidos de cérebros de hamsters infectados por OROV, sugerindo que o processo de apoptose também possa ser importante para infecção *in vivo*.

## **Bioquímica**

### **POR QUE O FATOR DE TRANSCRIÇÃO PacC NÃO PODERIA ATIVAR, EM FUNGOS FILAMENTOSOS, GENES EXPRESSOS EM pH ÁCIDO?**

**Vivian Taís Fernandes Cipriano**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Rossi Filho

Dissertação de Mestrado apresentada em 07/04/2009

Os microrganismos desenvolveram vias de transdução de sinal que permitem adaptação ao pH ambiente. A regulação da expressão gênica pelo pH em *Aspergillus nidulans*, e em outros fungos, é mediada pelo conservado fator de transcrição PacC, cujo gene codifica para uma proteína do tipo *Znfinger*, e pelos seis genes *pal* (*palA, B, C, F, H, e I*). Essa cascata sinalizadora promoveria a ativação do PacC apenas em ambiente alcalino. Estudos prévios mostraram que o fator de transcrição PacC pode ser ativado em pH ácido, em função da composição do meio de cultivo. Para caracterizar a resposta adaptativa ao pH ácido em *A. nidulans*, foram avaliadas as interações proteína-DNA através do EMSA (ensaio do

retardo da mobilidade eletroforética), em associação com cromatografia de filtração em gel. As linhagens *pabaAI* e *pabaAI palB7* (*A. nidulans*); e 74A e *pacC<sub>KO</sub>* (*Neurospora crassa*) cresceram por 16 horas em pH ácido, em diferentes condições de cultivo, incluindo diferentes concentrações de fosfato inorgânico. Além disso, foi avaliado por *Northern blot* a expressão do gene *pacC* em *N. crassa*, quando cultivada em diferentes fontes de carbono. Nossos resultados mostraram a inegável influência da composição dos meios de cultura na regulação da transcrição do gene *pacC* e na ativação do fator de transcrição PacC. Os resultados apresentados não invalidam a hipótese da cascata de sinalização governada por PacC em resposta ao pH alcalino. Entretanto, está claro que o sensoriamento do pH alcalino não é sua única função.

## AValiação DE NOVOS COMPOSTOS METÁLICOS COM POTENCIAL AÇÃO CITOTÓXICA E ANTITUMORAL

**Tassiele Andréa Heinrich**

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Miguel da Costa Neto,  
Dissertação de Mestrado apresentada em 17/04/2009

Os microrganismos desenvolveram vias de transdução de sinal que permitem adaptação ao pH ambiente. A regulação da expressão gênica pelo pH em *Aspergillus nidulans*, e em outros fungos, é mediada pelo conservado fator de transcrição PacC, cujo gene codifica para uma proteína do tipo *Znfinger*, e pelos seis genes *pal* (*palA, B, C, F, H, e I*). Essa cascata sinalizadora promoveria a ativação do PacC apenas em ambiente alcalino. Estudos prévios mostraram que o fator de transcrição PacC pode ser ativado em pH ácido, em função da composição do meio de cultivo. Para caracterizar a resposta adaptativa ao pH ácido em *A. nidulans*, foram avaliadas as interações proteína-DNA através do EMSA (ensaio do retardo da mobilidade eletroforética), em associação com cromatografia de filtração em gel. As linhagens *pabaAI* e *pabaAI palB7* (*A. nidulans*); e 74A e *pacC<sub>KO</sub>* (*Neurospora crassa*) cresceram por 16 horas em pH ácido, em diferentes condições de cultivo, incluindo diferentes concentrações de fosfato inorgânico. Além disso, foi avaliado por *Northern blot* a expressão do gene *pacC* em *N. crassa*, quando cultivada em diferentes fontes de carbono. Nossos resultados mostraram a inegável influência da composição dos meios de cultura na regulação da transcrição do gene *pacC* e na ativação do fator de transcrição PacC. Os resultados apresentados não invalidam a hipótese da cascata de sinalização governada por PacC em resposta ao pH alcalino. Entretanto, está claro que o sensoriamento do pH alcalino não é sua única função.

## PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DA $\alpha$ -GLUCOSIDASE COM AÇÃO DE TRANSGLICOSILAÇÃO PRODUZIDA PELO FUNGO TERMOTOLERANTE *Aspergillus phoenicis*

**Vivian Machado Benassi**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria de Lourdes Teixeira de Moraes Polizeli  
Dissertação de Mestrado apresentada em 24/04/2009

Algumas espécies de *Aspergillus* são excelentes produtoras de enzimas de aplicação industrial, tais como, as amilases. A utilização industrial de enzimas amilolíticas exige uma produção em larga escala, máxima atividade e um profundo conhecimento das suas propriedades intrínsecas e aspectos estruturais. Neste contexto, nós padronizamos as condições para o cultivo adequado do fungo filamentosso *Aspergillus phoenicis*, purificamos uma  $\alpha$ -glucosidase e caracterizamos os parâmetros físico-químicos desta enzima. O fungo foi cultivado em meio Khanna com modificações nas soluções de sais, suplementado com maltose ou farinha de mandioca 1%, pH inicial 6,0, à 30 C sob condição estática, durante quatro dias. Para purificação enzimática, utilizou-se dos procedimentos: tratamento da amostra extracelular bruta com caulin, seguida de eluição em colunas cromatográficas de troca iônica DEAE-Fractogel e filtração em Biogel P100. A  $\alpha$ -glucosidase purificada a partir de meio de cultura suplementado com maltose é uma glicoproteína com 20% de carboidrato, massa molecular de 100 kDa (SDS-PAGE) ou 95 kDa (Superdex 75 - Pharmacia) e ponto isoelétrico 3,12. A  $\alpha$ -glucosidase purificada a partir do meio de cultura suplementado com farinha de mandioca é também uma glicoproteína com 18,52% de carboidrato, massa molecular de 83 kDa (SDS-PAGE) ou 80 kDa (Superdex 75 - Pharmacia) e ponto isoelétrico 3,0. Análises de Dicroísmo Circular mostraram que a enzima pura produzida no meio de cultura suplementado com maltose apresentou estrutura secundária rica em  $\alpha$ -hélice. O caráter amilolítico foi definido como sendo de uma  $\alpha$ -glucosidase tipo III baseando-se na análise dos produtos de hidrólise formados em TLC, quando ambas as enzimas atuaram sobre amido e maltose como substratos. Os produtos formados foram apenas glucose quando o substrato foi amido, e glucose e maltooligosacarídeos (maltotriose e maltetraose) a partir de maltose indicando atividade de transglucosilação. Além disso, constatou-se que as enzimas purificadas hidrolisaram eficientemente diferentes tipos de amidos, glicogênio e amilopectina (componentes

ramificados) e dissacarídeos como a sacarose, maltose e substratos sintéticos como o p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosídeo. Aparentemente, ambas as enzimas possuem sítios ativos distintos para os substratos sacarose e amido. Verificou-se uma  $V_{m\acute{a}x.}$  de 560U/mg de proteína e 527U/mg de proteína e KM 1,42mg/mL e 6,38mg/mL para as  $\alpha$ -glucosidases puras produzidas em maltose e farinha de mandioca, respectivamente, ao utilizar substrato amido, e  $V_{m\acute{a}x.}$  de 32,9 U/mg de proteína e 9,2 U/mg de proteína e KM 0,96mg/mL e 0,76mg/mL para o substrato maltose. As  $\alpha$ -glucosidases obtidas em meio com maltose ou farinha de mandioca possuíram temperaturas ótimas na faixa de 60°C-65°C, pHs ótimos de 4,5-5,5, termoestabilidade até 60°C e foram estáveis ao pH (faixa de 3,0 a 6,5). Em relação à ativação e/ou inibição por íons e outros compostos, diferenças foram observadas para as enzimas produzidas nas distintas fontes de carbono, assim como em relação às enzimas brutas e purificadas. Destacou-se o aumento significativo das atividades enzimáticas na presença de  $Mn_{2+}$ , exceto para a enzima bruta produzida com farinha de mandioca.

Neste trabalho, nós também analisamos a produção amilolítica com diferentes fontes de carbono utilizadas em indústrias alimentícias. Observaram-se excelentes níveis enzimáticos extracelulares quando os meios foram suplementados com flocos de centeio, farinha de mandioca, flocos de aveia, amido e maltose, entre outros. O complexo amilolítico formado nestas condições hidrolisaram eficientemente os substratos usados como indutores, formando níveis relativamente altos de açúcares redutores. Conclui-se que *A. phoenicis* possui um promissor potencial biotecnológico, uma vez que trata-se de um fungo termotolerante que possui muitas características adequadas para a tecnologia básica de amilases. Além do mais, estas enzimas são produzidas sobre fontes de carbono pouco onerosas e possuem ação de transglicosilação.

### **CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E FUNCIONAL DE UMA FOSFOLIPASE A2 NÃO COMPLEXADA, INTERCRO, ISOLADA DA PEÇONHA DE *Crotalus durissus terrificus***

**Lara França Vieira**

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Giglio

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/04/2009

Os acidentes ofídicos são muito comuns em várias regiões do mundo, destacando-se as regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, as espécies de serpentes peçonhentas pertencem aos gêneros *Bothrops*, *Lachesis*, *Crotalus* e *Micrurus*. O gênero *Crotalus* está representado no Brasil por uma única espécie, *Crotalus durissus*, que tem uma ampla distribuição geográfica. Nesta vasta extensão territorial são reconhecidas cinco subespécies geográficas, três das quais com ampla dispersão. A mais comum é a *Crotalus durissus terrificus*. Estudos neurofarmacológicos têm demonstrado a atividade analgésica de peçonhas de serpentes e de substâncias isoladas delas. Algumas frações isoladas de peçonhas de serpentes revelam uma atividade citolítica direta nas células tumorais. Este trabalho teve como objetivo o isolamento de uma fosfolipase A2 não complexada, denominada Intercro (IC), do veneno de *Crotalus durissus terrificus*, e sua caracterização funcional e estrutural abordando caracterização bioquímica (isolamento e massa molecular), caracterização estrutural (sequência completa de aminoácidos, modelagem molecular e síntese química de peptídeos) e caracterização funcional (atividades enzimáticas - fosfolipase A2 e sobre lipídeos fluorescentes; biológicas - miotóxica e indução de edema; e atividades de interesse farmacológico - analgesia e antitumoral). A PLA2-IC apresenta atividade enzimática e biológica moderadas, induz edema de pata em camundongos, exibe discreta atividade citotóxica sobre células tumorais, além de induzir analgesia periférica em camundongos. A fosfolipase A2 (PLA2-IC) isolada difere do componente básico da Crotoxina (CB) em todos os aspectos observados neste trabalho, inclusive na sua sequência primária de aminoácidos, deixando claro se tratar de uma nova isoforma. Podemos concluir também, que a região C-terminal da CB e da PLA2-IC não é a responsável pelas atividades biológicas exercidas por estas enzimas, sugerindo que o observado para as enzimas botrópicas não é verdade para as fosfolipasas crotálicas.

### **EFEITO DA CORTICOSTERONA SOBRE A FAGOCITOSE E PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO MEDIADO POR MACRÓFAGOS PERITONEAIS DE CAMUNDONGO: PAPEL DO ÁCIDO ARAQUIDÔNICO**

**Mirian Ribeiro Moreira**

Orientador: Prof. Dr. Bernardo Mantovani

Tese de Doutorado apresentada em 30/04/2009

Neste estudo investigamos os efeitos da corticosterona em macrófagos peritoneais de camundongo estimuladas por receptores Fc $\alpha$  e de manose/fucose através da capacidade fagocítica e produção de espécies reativas de oxigênio. A

fagocitose foi avaliada por microscopia ótica e por citometria de fluxo e a produção das espécies reativas por quimioluminescência dependente de luminol (QLlum) e quimioluminescência dependente de lucigenina (QLuc). Posteriormente, avaliamos o efeito do ácido araquidônico frente à inibição desses processos pela corticosterona. Os resultados obtidos mostraram que a corticosterona (10-5mol/L) tem uma ação inibitória sobre a fagocitose mediada por imunocomplexos de hemácias de carneiro (EA), no entanto não altera a fagocitose de imunocomplexos de OVA (IgG/OVA) nem de zimosan. Utilizando inibidores específicos da fagocitose e da endocitose como a nistatina, a clorpromazina e a citocalasina B, verificamos que tanto a interiorização de EA como de IgG/OVA são dependentes da polimerização de actina G e de clatrina. Na avaliação da produção de espécies reativas de oxigênio na presença do hormônio, nossos dados demonstraram que a corticosterona diminuiu a produção de superóxido induzida por ambos os estímulos (IgG/OVA e zimosan), mas não alterou a produção total de espécies reativas. Ao adicionar ácido araquidônico aos macrófagos, verificamos uma reversão da inibição promovida pela corticosterona na fagocitose de EA. Além disso, observamos que a atividade da fosfolipase A2 (PLA2) dos macrófagos é diminuída pela corticosterona. Esses resultados sugerem que a inibição das funções dos macrófagos pela corticosterona ocorre devido a uma diminuição na liberação do ácido araquidônico, através da inibição da atividade da PLA2.

## **PAPEL DO SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO NO PROCESSO PROTEOLÍTICO LISSOSSOMAL EM CORAÇÃO DE RATOS NORMAIS E DIABÉTICOS**

**Silvia de Paula Gomes**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Isis do Carmo Kettelhut

Dissertação de Mestrado apresentada em 30/04/2009

Estudos anteriores de nosso laboratório demonstraram que o sistema nervoso simpático (SNS) exerce um efeito anabólico no metabolismo protéico muscular esquelético, inibindo a proteólise e estimulando a síntese de proteínas. No entanto, o papel do SNS no controle do metabolismo protéico no tecido cardíaco tem sido pouco estudado. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do SNS na degradação de proteínas no músculo cardíaco de ratos normais e diabéticos. Para isso foram utilizados 2 modelos experimentais: o tratamento com agonista seletivo de receptores  $\beta$ 2-adrenérgicos (clembuterol) e o da simpatectomia química induzida pela administração com guanetidina.

Os resultados obtidos mostraram que o tratamento com clembuterol em ratos normais induziu um aumento da massa muscular cardíaca com concomitante queda no conteúdo protéico das catepsinas B e L (26% e 39%, respectivamente) e da proteína autofágica GABARAP (13%). Já nos animais submetidos à simpatectomia química, além da diminuição da concentração de noradrenalina e da massa muscular cardíaca, foi observado aumento do conteúdo protéico das catepsinas B e L (70% e 24%, respectivamente) e das proteínas autofágicas GABARAP (4 vezes) e LC3 II (19%). Esses resultados sugerem que as catecolaminas controlam o processo proteolítico lisossomal em coração de ratos normais, sendo responsáveis, pelo menos em parte, pela manutenção da massa muscular cardíaca. Em animais com diabetes induzido por estreptozotocina ocorreu atrofia cardíaca, um discreto aumento na concentração de noradrenalina (33%) e concomitante aumento do conteúdo protéico das catepsinas B e L (62% e 80%, respectivamente) e da proteína autofágica LC3 II (40%), sugerindo que a via lisossomal seja também regulada pela insulina no coração. O tratamento de ratos diabéticos com o agonista 2-adrenérgico não foi capaz de diminuir a expressão das catepsinas e GABARAP. A simpatectomia do animal diabético promoveu aumento adicional no conteúdo protéico das catepsinas B e L (24% e 26%, respectivamente) e aumento no conteúdo da GABARAP (4 vezes), indicando que na falta da insulina e da catecolamina ocorre um aumento adicional na expressão dessas proteases lisossomais e da proteína autofágica. Os resultados obtidos mostram claramente a participação da via de sinalização da PI3K/AKT nas alterações de massa do coração. Durante a atrofia cardíaca causada ou pela simpatectomia ou pelo diabetes, foram constatadas reduções na fosforilação da proteína quinase AKT e do fator de transcrição FoxO em coração de ratos, havendo uma redução ainda mais marcante no coração de animais diabéticos e simpatectomizados. Por outro lado, na hipertrofia causada pela estimulação adrenérgica, foi observado aumento na fosforilação de AKT e FoxO. Os dados obtidos neste trabalho sugerem que o SNS está envolvido no controle do processo proteolítico lisossomal no coração, modulando a massa muscular cardíaca por meio de alterações nos componentes deste sistema e na sinalização intracelular da via AKT/FoxO, independentemente da insulina.

## Clínica Cirúrgica

### SOBREVIDA DE ALOTRANSPLANTE RENAL COM DOADOR CADÁVER RELACIONADA À IDADE DO DOADOR, TEMPO DE ISQUEMIA FRIA E COMPATIBILIDADE HLA

**Marcelo Ferreira Cassini**

Orientador: Prof. Dr. Aduino José Cologna

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/04/2009

**Introdução:** O transplante renal é amplamente reconhecido como a melhor forma de tratamento para os pacientes que necessitam de terapia de substituição renal, e isso o torna vítima de seu próprio sucesso. Apesar de ser considerado um triunfo clínico-cirúrgico, é igualmente uma fonte de frustração, pela carência de doadores de órgãos e pelo crescimento das listas de espera. Há necessidade do desenvolvimento de estratégias que tornem maior o número de rins disponíveis para transplante. A idade do doador, o tempo de isquemia fria (TIF) e o antígeno leucocitário humano (HLA) de histocompatibilidade são fatores que estão relacionados à sobrevida do enxerto e, desta forma, envolvidos na diminuição da demanda e no aumento da oferta de órgãos.

**Objetivos:** Avaliar o impacto das variáveis, idade do doador, compatibilidade HLA e tempo de isquemia fria, na sobrevida do enxerto de pacientes submetidos à alotransplantes renais com doador cadáver.

**Materiais e Métodos:** Foram analisados retrospectivamente 454 pacientes submetidos a transplantes renais com doadores cadáveres realizados de abril de 1987 a dezembro de 2003, no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP).

**Resultados:** Das variáveis analisadas, a idade do doador foi a de maior impacto estatístico na sobrevida dos transplantes renais estudados. A sobrevida dos enxertos oriundos de doadores com idade de 16 a 40 anos (143,30 meses em média), foi significativamente maior em comparação com a sobrevida nos grupos com doadores acima de 40 anos (66,46 meses) ( $p=0,005$ ) e nos doadores de 0 a 10 anos de idade (63,29 meses) ( $p=0,01$ ). A compatibilidade HLA e o TIF não interferiram de modo significativo na sobrevida dos transplantes estudados ( $p=0,98$  e  $p=0,16$  respectivamente).

**Conclusões:** O tempo de isquemia fria (TIF) e a compatibilidade HLA não apresentaram impacto na sobrevida dos transplantes renais analisados. Os doadores cadáveres com idade de 16 a 40 anos podem ser considerados ideais, uma vez que demonstraram de modo estatisticamente significativo, impacto favorável na sobrevida dos rins por eles doados.

### PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA NA VIA INTRÍNSECA DA APOPTOSE CELULAR EM GLIOBLASTOMAS PELA TÉCNICA DE PCR EM TEMPO REAL

**Isis Lustosa Lacrose**

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Tirapelli

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/04/2009

**Introdução:** O glioma mais maligno, o glioblastoma multiforme, representa 29% de todos os tumores cerebrais e 69% de todos os casos de tumores astrocíticos e oligodendrogliais nos adultos. A tumorigênese está intimamente relacionada à hereditariedade ou a caracteres adquiridos na via fisiológica de morte celular. Nós examinamos em amostras de tecido tumoral de pacientes portadores de glioblastomas, através da técnica de PCR em tempo real, a expressão dos genes anti-apoptóticos: *XIAP* e *BCL2*; e a expressão dos genes apoptóticos, que constituem o apoptossoma (*CITOCROMO C*, *CASPASE 9* e *APAF1*), a *CASPASE 3* e a *SMAC/DIABLO*, ambos relacionados à sua via intrínseca.

**Pacientes e Métodos:** Foram utilizadas 30 amostras de glioblastomas para o estudo da expressão gênica por meio PCR em tempo real. Como controles, foram utilizados 10 amostras de substância branca de pacientes submetidos à cirurgia de epilepsia.

**Resultados:** Os níveis de expressão dos genes analisados apresentaram alta significância estatística nos glioblastomas quando comparados ao controle apenas no *XIAP* e *BCL-2* com valores de  $p=0,0032$  e  $p=0,0351$ , respectivamente. Nenhuma diferença foi observada nos genes *CITOCROMO C* ( $p=0,7906$ ), *APAF-1* ( $p=0,0831$ ), *CASPASE 9* ( $p=0,6506$ ), *CASPASE 3* ( $p=0,1743$ ) e *SMAC/DIABLO* (0,4630). Com base nestes resultados, a diferença na expressão dos genes *XIAP* e *BCL-2*, sugere que pode haver inibição do mecanismo de apoptose pela via intrínseca nas células de glioblastomas, o que torna estes genes possíveis alvos terapêuticos para o tratamento deste tipo de câncer.

## **EXPRESSÃO DOS GENES BCL2, XIAP, SMAC/DIABLO E DO COMPLEXO APOPTOSSOMA EM MENINGIOMAS, POR PCR EM TEMPO REAL**

**Indira Maynard de Oliveira Franco**

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Tirapelli

Dissertação de Mestrado apresentada em 16/04/2009

Os meningiomas são tumores primários das meninges decorrentes do revestimento aracnóideo do cérebro. São considerados tumores benignos porque, em geral, não produzem metástases, não são invasivos e são usualmente curados após a ressecção cirúrgica. Neste estudo foram utilizadas 30 amostras de meningiomas grau I e II e 10 amostras controle de aracnóide, para estudar o padrão da expressão de genes relacionados à via intrínseca da apoptose: anti-apoptóticos (*XIAP* e *BCL2*) e apoptóticos (apoptossoma: *CITOCROMO C*, *APAF-1*, *CASPASE 9*) e *SMAC/DIABLO*, através da técnica de PCR em tempo real. Os resultados mostraram uma alta expressão dos genes anti-apoptóticos *BCL2* e *XIAP*, principalmente nos meningiomas grau II, em contraste com a baixa expressão dos genes apoptóticos, sugerindo um bloqueio na ativação da apoptose em meningiomas grau I e II. Este estudo demonstrou pela primeira vez, o importante papel da expressão gênica da *XIAP* no controle do mecanismo apoptótico em meningiomas. Maiores estudos do mecanismo da apoptose podem levar à sua melhor compreensão e ao desenvolvimento de novas terapias em meningiomas.

## **AValiação DA EXPRESSÃO DOS GENES DA VIA EXTRÍNSECA DA APOPTOSE: CASPASE 3, CASPASE 8 E C-FLIP EM MENINGIOMAS POR PCR EM TEMPO REAL**

**Sarah de Menezes Bomfim**

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Tirapelli

Dissertação de Mestrado apresentada em 24/04/2009

Os meningiomas são as neoplasias intracranianas primárias benignas mais comuns. O crescimento tumoral depende sinergicamente de um descontrole entre a capacidade proliferativa e de uma crescente incapacidade da célula de morrer por apoptose. Neste estudo foi avaliada a expressão gênica da *CASPASE 3*, *CASPASE 8* e da *C-FLIP* através da técnica de PCR em tempo real, em meningiomas graus I e II. Foram utilizadas 30 amostras de meningiomas primários e 10 amostras de aracnóide como controle. Comparando as amostras de meningioma graus I e II ao tecido controle, não foi observado a diferença estatisticamente significativa na expressão de *CASPASE 3* ( $p = 0,0507$ ) e de *CASPASE 8* ( $p = 0,1381$ ). Entretanto, foi observado um aumento na expressão de *C-FLIP* nos meningiomas grau II quando comparado ao grupo controle ( $p = 0,0025$  - teste One-Way ANOVA e pós teste de Newman-Keuls). Baseado nos resultados foi possível concluir que em meningiomas graus I e II, a apoptose está diminuída visto que foi observado baixa expressão dos genes pró-apoptóticos *CASPASE 3* e *CASPASE 8* neste tumor, assim como alta expressão do gene anti-apoptótico e inibidor da *CASPASE 8*, *C-FLIP*. Outros estudos devem ser realizados para melhor compreender a ação destes e de outros genes no mecanismo de apoptose em meningiomas.

## **ESTUDO DA EXPRESSÃO GÊNICA RELACIONADO À VIA INTRÍNSECA DA APOPTOSE EM CÂNCER DE BEXIGA, PELA TÉCNICA DE PCR EM TEMPO REAL**

**Diego Ferreira Barione**

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Tirapelli

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/05/2009

**Introdução:** O câncer de bexiga é a quinta neoplasia mais comumente diagnosticada no Ocidente, acometendo cerca de 336.000 novos indivíduos anualmente e levando a morte 132.000 pacientes em todo o mundo. A apoptose é um processo fisiológico ativo e geneticamente controlado de suicídio celular, importante em remover células desenvolvidas, que têm sido irreparavelmente danificadas. Centenas de genes controlam a iniciação, execução e a regulação do processo apoptótico. Na maioria das neoplasias esse processo encontra-se inativo. A manipulação desse processo pode ajudar no tratamento das neoplasias malignas, incluindo o câncer de bexiga. Nós examinamos em amostras de tecido tumoral de pacientes portadores de câncer superficial de bexiga, através da técnica de PCR em tempo real, a expressão dos genes anti-apoptóticos: *XIAP* e *BCL-2*; e a expressão dos genes apoptóticos, que constituem o apoptossoma (*CITOCROMO C*, *CASPASE-9* e *APAF1*), relacionados à sua via intrínseca.

**Pacientes e Métodos:** Foram utilizadas 32 amostras de câncer de bexiga (8 Grau I, 10 Grau II e 14 Grau III) para o estudo da expressão gênica por meio PCR em tempo real. Como controles, foram utilizados 8 amostras de tecido normal de bexiga provenientes de necropsias.



**Resultados:** Quanto à expressão dos genes apoptóticos que constituem o apoptossoma (CITOCROMO C, CASPASE-9 e APAF-1) pode ser observado: um aumento na expressão de APAF-1 nos três graus tumorais em relação ao controle ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ;  $p < 0,01$ ); uma baixa expressão de CASPASE-9 nas amostras tumorais e no controle ( $p < 0,05$ ); um aumento na expressão de CITOCROMO C nos três graus tumorais em relação ao controle, porém sem diferença significativa estatisticamente ( $p = 0,1038$ ). A expressão dos genes anti-apoptóticos, mostrou um aumento na expressão de XIAP nos três graus tumorais em relação ao controle, porém sem diferença significativa estatisticamente ( $p = 0,1616$ ); e uma baixa expressão de BCL-2 nas amostras tumorais e no controle ( $p < 0,05$ ). Os resultados mostraram uma pequena evidência de atividade apoptótica pela sua via intrínseca demonstrada pela baixa expressão de CASPASE-9 e pelo aumento importante na expressão de XIAP, o que torna este gene possível alvo terapêutico para o tratamento deste tipo de câncer.

## INCONTINÊNCIA URINÁRIA EM MULHERES RESIDENTES EM DUAS REGIÕES DA CIDADE DE ARARAQUARA-SP

**Alessandra Martiniano de Oliveira**

Orientador: Prof. Dr. Haylton Jorge Suaid

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/05/2009

**Introdução:** A incontinência urinária (IU) é definida pela Sociedade Internacional de Continência (ICS) como a queixa de qualquer perda involuntária de urina. A prevalência da incontinência urinária varia de 5% a 37% nas mulheres. No Brasil são poucos os estudos populacionais sobre a prevalência da IU feminina e o conseqüente impacto na qualidade de vida da mulher. Encontrou-se a variação de 29% a 35%. Em relação à cor da pele declarada e os tipos de IU, os estudos ainda são escassos no Brasil.

**Objetivo:** Estudar a prevalência e os fatores de risco da incontinência urinária entre mulheres de cor de pele declarada diferentes, residentes na cidade de Araraquara-SP.

**Métodos:** Foram entrevistadas 398 mulheres de cor de pele declarada branca e negra, residentes em duas regiões da cidade de Araraquara-SP. Foi utilizado o questionário para identificar a incontinência urinária (Questionário aplicado) e em seguida, quando identificada a queixa de perda involuntária de urina, foram utilizados o Questionário de avaliação da bexiga hiperativa (OAB-V8) e o questionário de qualidade de vida. King's Health Questionnaire.

**Resultados:** A idade média entre as mulheres da região periférica foi 41,9 anos e da região central foi 41,5 anos. Em relação à cor da pele declarada, encontrou-se 24% de mulheres negras na região periférica e 12,3% na região central. A prevalência da IU foi 36,6% na região periférica e 39,1% na central. Em relação aos tipos de IU nas mulheres incontinentes da região periférica foi de 45,2% de incontinência urinária de esforço (IUE), 30,1% de incontinência urinária mista (IUM) e 24,6% de incontinência urinária de urgência (IIU). Na região central a prevalência encontrada foi 50% de IUE, 28% de IUM e 22% de IIU. A percentagem de mulheres nulíparas na região periférica foi 9,6% e na região central 11%. A busca ao tratamento para IU esteve presente em 26% das mulheres da região periférica e 13,8% da região central. Foi observado que na região periférica a maioria das mulheres estava na faixa do sobrepeso e na região central na faixa do peso normal. A correlação entre o valor do questionário OAB-V8 e o questionário aplicado foi de 85,3% na região periférica e 81,2% na região central. A correlação entre o questionário King's Health Questionnaire e o questionário aplicado foi de 79,4%.

**Conclusões:** A prevalência geral da incontinência urinária na população estudada foi de 36,6% na região periférica e 39,1% na região central. A correlação entre a idade, IMC e a incontinência urinária, apresentou significância estatística. A diferença entre a cor da pele declarada e a prevalência de IU não mostrou significância. Foi encontrada diferença significativa entre os tipos de IU entre as mulheres de cor de pele declarada branca e negra. A gravidez e a cirurgia ginecológica foram presentes na maioria das mulheres incontinentes, sendo assim fatores de risco importantes para o desenvolvimento da IU.

## EFEITOS CLÍNICOS DA INIBIÇÃO DO SISTEMA sGC - cGMP PELO AZUL DE METILENO NO CHOQUE DECORRENTE DA PANCREATITE EM PORCOS

**Caroline Floreoto Baldo Garcia Pereira**

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Barbosa Evora

Tese de Doutorado apresentada em 29/05/2009

A pancreatite aguda (PA) faz-se alvo de inúmeros estudos por estar relacionada a mortalidade elevada e portar de mecanismos fisiopatológicos ainda não totalmente elucidados. Sabe-se que pancreatite aguda provoca disfunção da barreira endotelial aliada à pronunciada reação inflamatória, pivô para a evolução quase sempre fatal desta doença. O sistema da guanilato ciclase solúvel, responsável pela geração de 3'5' guanosina monofosfato cíclica (sGC-cGMP), está intimamente

relacionado a estes dois eventos contribuindo para a perda de fluido do leito vascular predispondo ao choque hipovolêmico e disfunção múltipla de órgãos. Considerando-se esses pontos e pela falta de informação referentes ao papel do sistema sGC-cGMP no quadros de pancreatite aguda, objetivou-se estudar se a inibição da sGC-cGMP pelo azul de metileno (AM) modificaria a evolução da doença. Para tanto, induziu-se pancreatite aguda do tipo necrohemorrágica em porcos adultos pela infusão de taurocolato de sódio 5% (1mL/kg) e enteroquinase (8 U/kg) no ducto pancreático. O protocolo experimental consistiu de quatro grupos (N=5): Cn: controle; P: pancreatite na ausência de AM; P+A: pancreatite seguida da administração de AM; e A+P: AM administrado previamente à indução da pancreatite. Foram avaliadas as variáveis hemodinâmicas, hemogasométricas arterial, atividade enzimáticas sanguíneas e viii do líquido peritoneal, e ainda, o volume ascítico, os marcadores inflamatórios e alterações histológicas do pâncreas e peritônio. Para análise estatística utilizouse a análise de variância (ANOVA) de uma e duas vias, seguido do teste de Tukey adotando-se nível significância de 5% ( $p < 0,05$ ). A instalação da pancreatite aguda foi confirmada pelo aumento da atividade da mieloperoxidase aliado às concentrações 3 e 10 vezes maiores do que o controle para respectivamente, amilase e lipase. Com a evolução do processo, ocorria desarranjo das paredes capilares promovendo permeação intensa de líquido do pâncreas aumentando em 15 vezes o volume líquido peritoneal. Tal coleção comprometia a volemia mediando o desenvolvimento de choque hipovolêmico severo. Foram evidenciados acidose metabólica branda, hipocalcemia e hiperpotassemia. A concentração de óxido nítrico plasmático não revelou alterações entre os grupos. O uso do AM para bloqueio da sGC no quadro de pancreatite não produziu repercussão clínica relevante sobre as variáveis cardiovasculares. O grupo P+A apresentou valores 50% maiores de MPO comparado aos demais grupos; no grupo A+P os valores de MDA foram 2 vezes maiores. O bloqueio da guanilato ciclase solúvel pelo uso do AM não altera de modo significativo o padrão hemodinâmico do choque induzido por pancreatite aguda provavelmente pelo fato do óxido nítrico, um dos principais agonistas deste mensageiro, não ter participação direta na fisiopatologia deste choque. A inibição da GCs associou-se a geração de radicais livres e de processos inflamatórios. Em que pese o uso do AM nos processos mórbidos associados a liberação aguda e contínua de NO propiciando o quadro de choque vasoplégico, o emprego desta substância (AM) deve ser restrito aos quadros nos quais há evidência da participação do NO.

## ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA UTILIZAÇÃO INTRAPERITONEAL DE PRÓTESE DE DUPLA FACE (BIOMEMBRANA DE LÁTEX E TELA DE POLIPROPILENO) NA INGUINOPLASTIA EM CÃES

**Luiz Carlos de Andrade**

Orientador: Prof. Dr. Reginaldo Ceneviva

Tese de Doutorado apresentada em 02/06/2009

**Introdução:** No tratamento das hérnias inguinocrurais a tendência atual é utilizar próteses para reforço da parede do canal inguinal, deixando-a livre de tensão. São muitos os estudos em busca de uma prótese ideal que possa também ser empregada por videolaparoscopia.

**Objetivo:** Avaliar os aspectos morfológicos do comportamento da prótese de dupla face (biomembrana de látex/tela de polipropileno) aplicada na inguinoplastia laparotômica em cães.

**Método:** Trinta cães foram divididos em três grupos (n=10) e submetidos à laparotomia infraumbilical com a fixação da prótese de dupla face (DF) em uma região inguinal, e na contralateral uma prótese controle de polipropileno (PPL). A relaparotomia ocorreu no 14º, 28º e 28º dia de pós-operatório respectivamente para os grupos A, B e C, sendo que no grupo C a prótese de dupla-face tinha suas bordas reforçadas. Foram avaliados os achados macroscópicos referentes à reação inflamatória e infecciosa além de obstrução intestinal, fístulas, encistamento, incorporação e, sobretudo, aderências com as próteses. A análise microscópica envolveu o processo inflamatório na fase aguda e crônica, com coloração dos fragmentos pela hematoxilina e eosina e na fase reparadora pelo tricrômio de Masson.

**Resultados:** Não ocorreram processos infecciosos, obstrução ou fístula intestinal. Não houve migração das próteses; ao contrário, estas apresentaram boa acomodação e incorporação. As aderências ocorreram em maior prevalência e intensidade com a prótese de PPL ( $p < 0,05$ ). As aderências com a prótese de DF foram de graus I e II: com a borda da prótese e junto ao grampo de fixação em 66,6% e com o disco de PPL na face parietal da prótese em 33,3%. A análise dos achados microscópicos não mostrou diferença com significado estatístico entre as duas próteses, sendo o fragmento de tecido estudado o do centro da peça cirúrgica, na sua face parietal que é constituído do mesmo material da prótese controle (PPL).

**Conclusões:** 1. A prótese de DF na sua face parietal soma as vantagens do potencial de incorporação aos tecidos observados com o PPL às de biocompatibilidade do látex na sua face visceral. 2. A pequena distância (2 cm) entre o disco de PPL e a borda da prótese de DF aliado à sua fixação com apenas 5 grampos é insuficiente para evitar lacunas, através das quais o epíploon migra em direção ao processo inflamatório desencadeado pelo PPL na face parietal. 3. A prótese de DF não se adere e portanto, não se incorpora aos tecidos viscerais na sua face de látex, ao contrário do que ocorreu com a prótese de PPL.

## EFETOS DOS LASERS 830 NM E 670 NM NA VIABILIDADE DO RETALHO CUTÂNEO RANDÔMICO EM RATOS

**Rodrigo Paschoal do Prado**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eli Piccinato

Tese de Doutorado apresentada em 26/06/2009

**Introdução:** A principal complicação dos retalhos cutâneos é a isquemia, podendo ocasionar a necrose tecidual. O laser de baixa intensidade é uma alternativa de tratamento, uma vez que pode promover aumento da microcirculação e da neoformação vascular. Entretanto, existem discrepâncias na literatura em relação aos comprimentos de onda utilizados nos tratamentos.

**Objetivo:** Verificar os efeitos dos lasers 830nm e 670nm na viabilidade do retalho cutâneo randômico em ratos.

**Método:** Foram utilizados 30 ratos, da linhagem Wistar, distribuídos em 3 grupos de 10 animais cada. O retalho cutâneo randômico de base cranial foi realizado no dorso dos ratos com dimensões de 10 x 4cm e uma barreira plástica foi interposta entre o mesmo e o leito doador. O grupo 1 (controle) foi submetido à simulação de tratamento com o equipamento de laser desligado. O grupo 2 foi submetido à radiação laser com comprimento de onda 830nm. O grupo 3 foi irradiado com o laser 670nm. Foi utilizada a técnica pontual com contato em um ponto localizado a 2,5cm da base cranial do retalho com densidade de energia de 36J/cm<sup>2</sup>, imediatamente após a operação e nos 4 dias subsequentes (uma aplicação diária). No sétimo dia pós-operatório, as porcentagens da área de necrose dos retalhos foram avaliadas pelos métodos gabarito de papel e mini-mop. Duas amostras foram coletadas para a dosagem do malonildialdeído (MDA), VEGF e proliferação celular da epiderme do retalho (Ki-67).

**Resultados:** Os grupos 2 e 3 apresentaram menores áreas de necrose em comparação ao Grupo 1 ( $p < 0,01$ ) e não houve diferença entre os grupos 2 e 3 ( $p > 0,05$ ), em ambos os métodos (gabarito de papel e mini-mop). O grupo 3 obteve níveis teciduais mais baixos de MDA em comparação com o grupo controle ( $p < 0,01$ ). Os grupos experimentais (2 e 3) quando comparados ao grupo controle mostraram aumentos significantes de VEGF, sendo os valores mais elevados no grupo 3. A atividade proliferativa avaliada pela marcação do Ki-67 registrou índices de maior atividade proliferativa das células nos grupos 2 e 3 em comparação ao grupo controle ( $p < 0,01$ ). Observou-se, também maior atividade proliferativa no grupo 3 em relação ao grupo 2 ( $p < 0,01$ ).

**Conclusões:** A terapia a laser de baixa intensidade foi eficaz no aumento da viabilidade do retalho cutâneo randômico em ratos. O laser 670nm foi mais eficaz no aumento da viabilidade do retalho cutâneo randômico em ratos, baseado nos parâmetros: área de necrose tecidual, grau de lesão da membrana (peroxidação lipídica), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e índice de proliferação celular da epiderme (Ki-67), quando comparado ao laser 830nm.

## Clínica Médica

### AVALIAÇÃO DO POTENCIAL VASCULOGÊNICO DAS CÉLULAS CD133<sup>+</sup> DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E MEDULA ÓSSEA

**Bruno Marcos Verbena Azevedo**

Orientador: Prof. Dr. Dimas Tadeu Covas

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/04/2009

Durante a embriogênese, os vasos sanguíneos e as células hematopoéticas originam-se de uma célula precursora comum, o hemangioblasto. Estudos recentes apontaram a existência de Células Progenitoras Endoteliais (CPE's) no sangue periférico de adultos. Sua descoberta despertou grande interesse e desde então, diversos estudos vêm sendo publicados por conta do seu uso potencial dessas células em terapias de reparo da vasculatura danificada ou como biomarcadores indicativos de risco ou progressão de doenças cardiovasculares. Este fato, aliado às evidências crescentes de eventos de neovascularização pós-natal, sugerem uma nova opção terapêutica no tratamento de doenças isquêmicas. Contudo, a presença de outros tipos celulares expressando os mesmos antígenos de superfície que as CPE's dificultam a correta caracterização destas células. Além disso, questionamentos persistem quanto à caracterização das CPE's, suas características funcionais e seu perfil de expressão gênica. A identificação do marcador CD133 e o relato de que células

identificadas por sua expressão são capazes de diferenciarem-se na linhagem endotelial e hematopoética, sugere que estas células, presentes na circulação periférica, podem proliferar-se e participar do desenvolvimento de redes de vasos sanguíneos através de sua diferenciação em células endoteliais maduras ou por meio de mecanismos parácrinos. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi o de avaliar o potencial vasculogênico das células CD133<sup>+</sup> de sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) e de medula óssea (MO), além de compará-las a outra classe de células denominadas células progenitoras endoteliais tardias. Células mononucleares foram obtidas de 8 amostras de sangue de cordão umbilical e placentário e de 5 amostras de medula óssea. Células CD133<sup>+</sup> foram selecionadas a partir dessas amostras utilizando coluna de seleção imunoma foram realizadas nos dias subsequentes em pontos distintos (dia três, seis, nove e doze de cultura) e os ensaios funcionais e análise de expressão gênica relativa foram realizados no sexto dia de cultivo. Além das células CD133<sup>+</sup>, CPE's tardias foram isoladas a partir de células mononucleares de 3 amostras de SCUP. A análise dos antígenos de superfície por citometria de fluxo indicou uma manutenção dos marcadores CD133 e CD34 por um período maior nas células CD133<sup>+</sup> de SCUP em relação às de MO. Quando comparadas com as CPE's tardias, observou-se um perfil diferenciado por parte destas células, como a baixa expressão de CD133 e a expressão de marcadores reconhecidos por identificarem células comprometidas com a linhagem endotelial como Ve-caderina. O ensaio funcional de englobamento de Ac-LDL foi positivo para as células de ambas as fontes e não identificou nenhuma diferença entre as populações de células pesquisadas, corroborando a literatura corrente de que este não é um teste conclusivo. Apesar disso, o ensaio de formação de estruturas semelhantes a vasos em Matrigel apontou diferenças importantes entre as células CD133<sup>+</sup> de SCUP, que não foram capazes de formar as estruturas, e as células oriundas da MO que formaram. A análise da formação desse arcabouço nas CPE's tardias demonstrou uma formação tão rápida quanto a realizada pelas HUVEC's, que serviram como controle positivo do experimento. As diferenças entre as células tornaram-se maiores com as análises de expressão gênica relativa de genes ligados a importantes vias relacionadas ao processo de formação de vasos. Dentre eles, o VEGF mostrou-se mais expresso nas células CD133<sup>+</sup> de ambas as fontes do que nas CPE's tardias, sugerindo que as essas células exercem seu papel no organismo através de efeito parácrino. Além disso, a expressão do VEGFR2 encontra-se mais elevada nas CPE's tardia este fator de crescimento. A regulação da formação de novos vasos pela via NOTCH foi investigada e os resultados obtidos demonstraram que a maior expressão de NOTCH1 nas células CD133<sup>+</sup> de SCUP pode, provavelmente, ter provocado o bloqueio da formação de estruturas vasculares observadas. Juntos, os resultados obtidos indicam que as células CD133<sup>+</sup> possuem potencial vasculogênico, embora provavelmente exerçam seu papel no organismo através de efeitos parácrinos sobre células mais comprometidas com a linhagem endotelial como as CPE's tardias, que possuem um potencial proliferativo maior e poderiam assegurar a formação das estruturas vasculares.

## **PADRONIZAÇÃO, APERFEICOAMENTO E USO DE UM MÉTODO IMUNOENZIMÁTICO QUE UTILIZA CÉLULAS INFECTADAS COMO ANTÍGENO NO DIAGNÓSTICO ROTINEIRO DA DENGUE**

**Luzia Aparecida Costa Barreira**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/04/ 2009

A dengue é um importante problema de saúde pública mundial e no Brasil tem tomado características muito sérias com a circulação dos 4 sorotipos, milhões de casos notificados e dezenas de milhares de doentes graves e milhares de óbitos. O presente estudo foi realizado com os seguintes objetivos: aperfeiçoar para diagnóstico sorológico do dengue um ensaio imunoenzimático utilizando células infectadas como antígeno (EIA-ICC) e testar a utilidade desse método numa condição de grande demanda, durante uma epidemia. Etapas de preparação das placas para o EIA-ICC foram padronizadas determinando-se a inclusão de 100.000 células C6/36 por orifício da placa e a infecção destas com 1000 TCID<sub>50</sub> do DENV-3. O EIA-ICC foi comparado ao teste comercial HUMAN (GmbH Alemanha), mostrando 74% de sensibilidade, 92% de especificidade e uma alta concordância de resultados. Fez-se diluição das amostras séricas para seleção em larga escala por EIA-ICC foi 1/100 e, dessa forma, foram testados 1797 soros, oriundos de pacientes de Ribeirão Preto com suspeita de dengue. Detectaram-se 228 amostras IgM-positivas (12,9%) e a soropositividade foi significativamente maior nas mulheres (14,46%) do que nos homens (10,55%). Essa diferença, quando estratificada por idade, mostrou predomínio feminino até os 40 anos, entretanto, nas faixas etárias posteriores, houve predomínio dos homens. Analisando com base no dia em que surgiram os sintomas, a soropositividade mais elevada foi detectada entre 5 a 8 dias (66,23%) e de 9 a 12 dias (32,89%). O pico de positividade ocorreu no 7º dia, após início dos sintomas. Assim, nossos resultados mostraram que, pelas qualidades do EIA-ICC, que incluem a facilidade e a economia da preparação das placas no próprio laboratório, a especificidade, a reprodutibilidade e a facilidade de leitura do teste, inclusive por meio visual, o uso para diagnóstico sorológico do dengue, em nosso meio.

## **ALTERAÇÕES NEURORRADIOLÓGICAS EM PACIENTES COM SÍNDROME DE KALLMANN: ESTUDOS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA**

**Marcel Koenigkam Santos**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Margaret de Castro

Tese de Doutorado apresentada em 04/05/2009

A Síndrome de Kallmann (SK), associação entre hipogonadismo hipogonadotrófico e distúrbio olfatório (hiposmia ou anosmia), é causada por uma deficiência da migração neuronal que envolve as células produtoras do hormônio liberador de gonadotrofinas e os neurônios olfatórios, com origem embriológica comum. O primeiro gene descrito, KAL1, codifica uma proteína chamada anosmina, que possui homologia com moléculas de adesão axonal envolvidas na migração neuronal. Dentre as anormalidades fenotípicas descritas na SK, destacam-se a malformação das estruturas do rinocéfalo (bulbos e sulcos olfatórios) e a presença, em parte dos pacientes, de uma alteração neurológica específica, os movimentos em espelho (ME). No presente trabalho estudamos 21 pacientes com SK, comparando com um grupo controle (n=16), utilizando técnicas qualitativas e quantitativas de imagem por Ressonância Magnética (RM), com os objetivos de (I) correlacionar as diferentes alterações radiológicas do encéfalo com os achados clínicos, laboratoriais e a presença de mutações gênicas; (II) caracterizar qualitativa e quantitativamente as alterações do rinocéfalo; e (III) investigar possíveis alterações associadas aos ME, dando atenção às duas principais hipóteses para sua causa, desenvolvimento anormal do trato corticoespinal e deficiência do mecanismo inibitório contra-lateral via corpo caloso. Para estudo do rinocéfalo utilizamos especialmente imagens coronais ponderadas em T2 com cortes finos, avaliando subjetivamente e posteriormente medindo o volume dos bulbos olfatórios, comprimento e profundidade dos sulcos. Para estudo dos ME utilizamos a técnica de morfometria baseada em voxel (VBM), procurando alterações volumétricas da substância branca (SB) e cinzenta (SC), seguida da avaliação de alterações da SB com as técnicas de relaxometria (RL) e cálculo da taxa de transferência de magnetização (TTM). Dezoito Nota de resumo (continuação) variáveis de acometimento das estruturas olfatórias. Demonstramos que a aplasia dos bulbos e/ou sulcos olfatórios foi o achado mais comum na SK, e a presença de aplasia de bulbo olfatório teve excelente concordância com a presença de anosmia no teste olfativo. O VBM otimizado mostrou áreas alteradas da SC envolvendo o córtex motor de maneira diferente nos pacientes com e sem ME, compatíveis com uma resposta cortical hipertrófica à uma decussação deficiente do trato corticoespinal nos pacientes com SK e ME. Ainda, as alterações da SC nos pacientes sem ME podem representar mecanismos mais complexos determinando a presença ou não do sinal. Apesar do nosso estudo de VBM não mostrar alteração significativa de volume da SB, as avaliações com RL e TTM mostraram áreas de alteração de sinal, demonstrando a presença de desmielinização e/ou desorganização axonal na SB dos pacientes com SK, envolvendo diferentemente o sistema motor dos pacientes com e sem ME, sendo compatível com os estudos prévios que sugerem a associação entre uma anomalia do trato corticoespinal e uma deficiência no mecanismo inibitório inter-hemisférico como responsáveis pela persistência patológica dos ME. A análise da TTM demonstrou ainda alteração em topografia da decussação das pirâmides bulbares que pode representar o desarranjo primário desta região, com as alterações das fibras a montante, superiormente (evidenciadas na RL e TTM), e do córtex motor (evidenciadas no VBM), possivelmente sendo secundárias e acometendo diferentemente os pacientes com e sem ME.

## **PRODUÇÃO DE UM PLASMÍDIO RECOMBINANTE PARA A EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS prM e E DO VÍRUS DENGUE-2**

**Mariana Carolina de Moraes Sobral**

Orientador: Prof. Dr. Benedito Antonio Lopes da Fonseca

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/05/2009

Os vírus da dengue (DENV) correspondem aos arbovírus de maior importância para o campo de saúde pública e consistem de quatro tipos antigênicos diferentes (DENV-1 ao -4) que apresentam grande diversidade genética. Estes vírus usualmente causam dengue clássica (DC) até febre hemorrágica (FHD) e síndrome de choque por dengue (SCD). O vírus é transmitido ao homem através da picada dos mosquitos *Aedes ssp.* fêmea, principalmente *Aedes aegypti*. O dengue é um vírus de RNA de fita simples de polaridade positiva que pertence à família *Flaviviridae* e ao gênero *Flavivirus*. O RNA é envolto por um envelope lipídico no qual a proteína de membrana (M) e a glicoproteína do envelope (E) estão fixadas. A proteína E é o principal alvo de anticorpos neutralizantes desde que esta desempenhe um papel importante na ligação ao receptor e na fusão de membrana, conseqüentemente, esta tem sido a proteína estrutural mais importante no emprego de candidatos a vacinas. A vacina de DNA específica para dengue, a qual foi construída durante o projeto, consiste dos genes que codificam as proteínas estruturais da pré-membrana (prM) e do envelope (E) sob o controle do promotor do

citomegalovírus humano. A co-expressão dos genes prM e E dos *Flavivirus* em células de mamíferos podem induzir a produção de partículas extracelulares subvirais não-infecciosas (EPs) que contêm os mesmos componentes (prM/M e E) na superfície assim como têm as partículas virais infecciosas. As vacinas produzidas por engenharia genética são potencialmente mais seguras, menos termolábeis e mais facilmente administráveis. Além disso, a produção em massa destas vacinas resultará em redução no custo, tratando-se de uma grande vantagem econômica, considerando que a grande proporção da população afetada pelo dengue, e que se beneficiaria com o uso destas vacinas, reside em países em desenvolvimento. No nosso trabalho foram desenvolvidos clones recombinantes para o vírus dengue-2, que consistem de um plasmídeo bacteriano com atributos para expressão protéica *in vitro*, visando a expressão de genes do vírus dengue *in vivo*. Dessa forma, após a transfecção do plasmídeo recombinante contendo genes codificadores das proteínas estruturais do vírus, a célula expressou estes genes e as proteínas virais sintetizadas foram detectadas por meio de imunofluorescência e eletroforese (SDS-PAGE). A produção de anticorpos específicos para o mesmo vírus foi observada também pela técnica de imunofluorescência, acreditando, dessa forma, que os clones produzidos possam então servir de possíveis candidatos a vacinas para o vírus dengue-2. No Brasil, o gerenciamento inadequado do plano de erradicação do *Aedes aegypti* em algumas localidades resultou no desenvolvimento de surtos epidêmicos, e o desenvolvimento de uma vacina para os vírus da dengue seria de imensa valia, pois é a forma mais barata e mais eficaz de todas as intervenções médicas modernas.

### **TERAPIA COM AS FORMULAÇÕES DESOXICOLATO E LIPÍDICAS DA ANFOTERICINA B: INDICAÇÃO, FORMA DE ADMINISTRAÇÃO, EFEITOS ADVERSOS E RESPOSTA CLÍNICA**

**Gilberto Gambero Gaspar**

Orientador: Prof. Dr. Roberto Martinez

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/05/2009

As micoses endêmicas, tegumentares e sistêmicas, têm distribuição mundial, ocorrendo principalmente em áreas rurais, sendo sua aquisição facilitada por exposição profissional, lazer ou mudanças ecológicas. Nos últimos anos, tem aumentado o número de casos de infecções em hospedeiros imunossuprimidos. O principal antifúngico poliênico (anfotericina B, formulada com desoxicolato de sódio ou com lipídeos), , apresenta efeitos colaterais imediatos e tardios que devem ser entendidos no contexto do paciente imunossuprimido. O objetivo do trabalho foi analisar o uso das formulações desoxicolato, lipossomal e em dispersão coloidal da anfotericina B em pacientes de hospital nível terciário de atenção à saúde: indicações terapêuticas, formas de administração, efeitos adversos e eficácia clínica. O estudo foi retrospectivo envolvendo pacientes hospitalizados da Unidade de Doenças Infecciosas, Unidade de Hematologia, Unidade de AIDS e Unidade de Transplante de Medula Óssea do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, que tenham recebido anfotericina B desoxicolato ou formulações lipídicas desta droga no período de 2003 a 2007. Dentre os 101 pacientes incluídos, a prevalência do sexo masculino foi 66,3% e *Cryptococcus neoformans* (37,8%) e *Histoplasma capsulatum* (19,6%) foram os principais agentes etiológicos, principalmente como infecção oportunista. Não houve diferença de eficácia clínica das três formulações. A comparação da diferença entre os níveis máximos/mínimos e os níveis iniciais durante a terapia com a anfotericina B desoxicolato e as formulações lipídicas de anfotericina B, mostrou uma maior elevação nos níveis de creatinina ( $p < 0,001$ ) e redução da contagem de leucócitos ( $p = 0,0001$ ), potássio ( $p = 0,016$ ) e hemoglobina ( $p = 0,0001$ ) no grupo da anfotericina B desoxicolato. Esta formulação também causou mais efeitos adversos se analisada a dose total de anfotericina B administrada para o paciente. As formulações lipídicas também apresentaram, em menor grau, toxicidade renal e hematológica. No entanto, a anfotericina B lipossomal e a anfotericina B de dispersão coloidal foram toleradas e causaram menor toxicidade em pacientes que apresentaram efeitos adversos da formulação desoxicolato. Conclui-se que nenhuma das formulações é isenta de toxicidade e a escolha destas medicações deve levar em consideração as condições de base do paciente. A correta administração das drogas, o manejo da toxicidade imediata e tardia e a mudança das formulações de anfotericina B durante a terapia são importantes para minimizar os efeitos adversos da anfotericina B.

### **AMBIENTE COMPUTACIONAL DE ENSINO EM RADIOLOGIA E DIAGNÓSTICO POR IMAGEM**

**Marília Guimarães Pinheiro**

Orientador: Prof. Dr. Jorge Elias Júnior

Tese de Doutorado apresentada em 18/05/2009

Esta tese inicia uma linha de pesquisa para a implementação de um ambiente de ensino computacional de apoio ao treinamento de médicos residentes em radiologia e diagnóstico por imagem da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto,

Universidade de São Paulo. A primeira etapa para a criação desse ambiente foi o levantamento e a construção de um modelo que pudesse contemplar as expectativas de instrutores e alunos. Este levantamento, realizado através da aplicação de metodologia sistêmica, concluiu que não seria suficiente apenas a criação de um sistema de tutoria, ou a expansão de um ambiente de ensino a distância, mais do que isso, para efetividade da proposta, algumas decisões importantes sobre o armazenamento de material didático, o modo de acesso a este material e o tipo de tutor adequado, precisariam ser avaliadas. Definiu-se que a estrutura base desse ambiente seria composta por quatro grandes blocos: a) interface com o estudante padronizada por ambiente de EaD; b) base didática de imagens com ampla diversidade de recuperação; c) sistema tutor o mais genérico possível para diferentes regiões anatômicas, patologias e tipo de aquisição de imagem e d) ambiente para apoio a testes e tratamento de recuperação de imagens com base em conteúdo (*Content-Based Image Retrieval CBIR*). Definida a estrutura geral do ambiente de ensino, algumas soluções para seus principais componentes foram testadas. Tanto a construção do modelo geral quanto cada uma das três primeiras iniciativas gerou um trabalho apresentados aqui como um conjunto de artigos: *A Computational Environment for Radiology and Image-Diagnosis Teaching: a Proposal Using Systems Methodology*, publicado no *International Journal of Emerging Technologies in Learning* (IJET <http://www.i-jet.org>); Ambiente de Ensino a Distância Aplicado Para Treinamento em Radiologia e Diagnóstico por Imagens: Estudo de Caso em Lesão Focal de Fígado, publicado nos Anais do XI Congresso Brasileiro de Informática em Saúde, CBIS'2008; Ambiente Computacional para Ensino de Radiologia e Diagnóstico por Imagem: Uma Proposta para Arquivo Didático submetido e em avaliação no *Journal of Health Informatics* (<http://www.jhi-sbis.saude.ws/ojs-jhi/index.php/jhi-sbis>) e, Ambiente Computacional para Ensino de Radiologia e Diagnóstico por Imagem: Sistema Tutor para Treinamento de Residentes e Levantamento de Termos Técnicos. Os três primeiros artigos são resultado de trabalho desenvolvido junto com os pesquisadores envolvidos nesta linha de pesquisa. O último é o artigo mais recente e ainda não foi submetido para publicação. Ele apresenta um sistema tutor desenvolvido para treinamento em ressonância magnética que está em operação, com acesso (controlado) pela Internet e residente em um servidor da FMRP (<http://143.107.141.167/tutor/index.php>). Quanto ao ambiente para testes e apoio a CBIR, embora integrado ao ambiente de ensino proposto, é objeto de pesquisa do grupo de pesquisadores da universidade e não será tratado aqui. Esta tese apresenta o modelo geral proposto para o ambiente de ensino em radiologia, as experiências obtidas nas soluções testadas, melhorias identificadas e perspectivas futuras.

## **ESTUDO DA POSSÍVEL RELAÇÃO DA ARRITMIA SINUSAL RESPIRATÓRIA E A INTENSIDADE DA RESPONSIVIDADE BRÔNQUICA INDUZIDA PELO EXERCÍCIO FÍSICO**

**Sabrina Kobori Clemente**

Orientador: Prof. Dr. João Terra Filho

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/05/2009

Os episódios de broncoconstrição desencadeados pelos agentes físicos, como por exemplo, o exercício físico, ainda não são bem compreendidos. Da mesma forma, carece de esclarecimentos, o papel do sistema nervoso autônomo na fisiopatologia da asma, mesmo quando desencadeada pelos agentes físicos, e nos mecanismos responsáveis pela hiperresponsividade brônquica observada nestes pacientes. Os mecanismos neurais parecem fundamentais no entendimento da ocorrência de broncoconstrição em indivíduos normais, inclusive aquelas de origem reflexa, onde não há inflamação das vias aéreas para justificá-la. Existem evidências que o nervo vago é o principal segmento da inervação autônoma das vias aéreas envolvido com a broncoconstrição. Por outro lado, a arritmia sinusal respiratória (ASR) observada em indivíduos normais, também é atribuída a uma resposta parassimpática associada à variação do volume pulmonar. No homem, fibras autônomas que inervam pulmão e coração apresentam trajetória comum. Diante dessas considerações, levantamos como hipótese que o indivíduo com arritmia sinusal respiratória poderia apresentar uma resposta broncomotora mais intensa ao exercício, à semelhança daquela observada em pacientes com asma. Na mesma linha lógica, o bloqueio colinérgico induzido pelo brometo de ipratrópio poderia revelar uma resposta broncodilatadora mais acentuada e uma ação inibitória ao broncoespasmo induzido por exercício (BIE) mais evidente nos voluntários com ASR. Foram estudados 28 indivíduos normais (14 do grupo controle; 14 do grupo ASR) que realizaram prova de função pulmonar completa, eletrocardiograma e estudo da responsividade brônquica pelo exercício. Todos os voluntários realizaram dois testes de esforço para BIE (um teste sem administração de brometo de ipratrópio e um teste com brometo de ipratrópio). O intervalo temporal entre os dois testes foi de uma semana. Nossos resultados não mostraram diferenças na comparação da resposta broncomotora entre os grupos, tanto na situação basal quanto após administração, por aerosol, do brometo de ipratrópio.

## COMPARAÇÃO DAS ALTERAÇÕES METABÓLICAS E DE COMPOSIÇÃO CORPORAL ENTRE HOMENS SORO POSITIVOS PARA HIV, COM OU SEM A SÍNDROME DA LIPODISTROFIA, E HOMENS SAUDÁVEIS

**Helena Siqueira Vassimon**

Orientador: Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Junior

Dissertação de Mestrado apresentada em 22/05/2009

**Introdução e Objetivo:** Após introdução do tratamento antirretroviral de alta potência (HAART), a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) foi transformada de doença fatal para condição de caráter crônico. Isto resultou em aumento da expectativa de vida, entretanto sendo observado aparecimento de alterações metabólicas (dislipidemia e/ou resistência insulínica) e de composição corporal (perda de gordura subcutânea e/ou acúmulo de gordura visceral em determinadas regiões) denominadas de síndrome da lipodistrofia. O presente estudo teve por objetivo principal avaliar a composição corporal em homens soro positivos para HIV em uso de HAART e com síndrome da lipodistrofia (HIV+LIPO<sup>+</sup> = 10), comparando com homens soro positivos para HIV em uso de HAART sem diagnóstico de síndrome da lipodistrofia (HIV+LIPO<sup>-</sup> = 22) e com homens soro negativos para HIV saudáveis (Controle = 12). **Metodologia e Resultados:** estudo transversal avaliando composição corporal por impedância bioelétrica (BIA), dobras cutâneas (DC) e absorciometria de duplo fóton (DXA) em três grupos. Os grupos eram semelhantes quanto a idade, índice de massa corporal (IMC) e massa muscular (MM). Todos os indivíduos soro positivos para HIV eram clinicamente estáveis e apresentavam tempo de diagnóstico e uso de HAART similares. Indivíduos do grupo HIV+LIPO<sup>+</sup> apresentaram significativamente menor quantidade de gordura subcutânea em perna (1,1 (0,6 kg) do que o grupo HIV+LIPO<sup>-</sup> (2,1 ± 0,8 kg) e o grupo Controle (3,0 ± 1,2 kg). Foram observadas concentrações elevadas de triglicérides (376 ± 158 mg/dl) e insulina (15,4 ± 9 µU/ml) e baixas concentrações de lipoproteína de alta densidade (32 ± 12 mg/dl) no grupo HIV+LIPO<sup>+</sup>. A porcentagem de massa gorda (MG) estimada por DC não foi correlacionada significativamente com DXA (r = 0,46) e houve fraca concordância (0,35); HIV+LIPO<sup>-</sup> foi significativa (r = 0,79), entretanto com fraca concordância (0,40), e o grupo Controle foi adequado para ambas as medidas de correlação (r = 0,83) e concordância (0,74). Em relação a BIA, houve correlação positiva e significativa e com forte concordância com DXA para estimar MM e MG, em todos os grupos. Vale ressaltar que os valores foram mais concordantes para MM do que MG. **Conclusão:** A caracterização da síndrome de lipodistrofia em homens soro positivos para HIV foi comprovada pela presença de alterações metabólicas como resistência insulínica e dislipidemia e alterações corporais, especificamente a lipoatrofia. A comparação entre os métodos para avaliação de composição corporal reforçou a importância do uso da BIA como método de baixo custo e prático para estimar MM e MG, porém no caso da estimativa por DC ainda será necessário elaboração de equações para este grupo específico. O presente estudo destaca a importância da atenção nutricional em homens soro positivos para HIV com síndrome da lipodistrofia.

## USO DE SOLUÇÃO ORAL DE CLOREXIDINA PARA PREVENÇÃO DE INFECÇÕES RESPIRATÓRIAS NOSOCOMIAIS EM TERAPIA INTENSIVA

**Fernando Bellissimo Rodrigues**

Orientador: Prof. Dr. Roberto Martinez

Tese de Doutorado apresentada em 05/06/2009

Se a terapia intensiva torna possível hoje salvar a vida de pacientes outrora tidos como terminais, ela também acarreta riscos, dentre os quais se destaca o de infecções respiratórias. Além de muito frequentes, estas infecções prolongam a internação, elevam a mortalidade dos pacientes acometidos e acarretam grande impacto financeiro sobre a economia hospitalar. Por isto, torna-se necessária a realização de estudos que almejem prevenir esta complicação. O presente estudo avaliou a efetividade microbiológica e clínica da aplicação de solução oral de clorexidina a 0,12% para a prevenção de infecções respiratórias nosocomiais, em pacientes admitidos em uma unidade de terapia intensiva (UTI) para pacientes adultos clínicos e cirúrgicos. O estudo foi controlado com placebo e randomizado de maneira duplamente cega. Para o diagnóstico das infecções, empregou-se os critérios do Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Os dados clínicos foram colhidos prospectivamente, com base no prontuário médico e exame clínico dos pacientes. A efetividade microbiológica foi avaliada pela coleta de secreção traqueal para cultura semi-quantitativa de parte dos pacientes submetidos à intubação traqueal, nos dias um, quatro e sete de ventilação mecânica. A análise estatística foi feita com o emprego dos testes Qui-quadrado, corrigido por Yates, Exato de Fisher bicaudal, Wilcoxon, regressão binomial e regressão de efeitos mistos. No total, foram incluídos 194 pacientes, 98 deles alocados no grupo da clorexidina e 96 no grupo controle. No momento da inclusão no estudo, as populações apresentaram características demográficas, condição básica de saúde



e gravidade clínica, avaliada pelo escore "*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*" (APACHE II), semelhantes. Os dados microbiológicos demonstraram que a aplicação de clorexidina não alterou significativamente a concentração microbiana traqueal nos pacientes sob ventilação mecânica. Os dados clínicos demonstraram que o grupo experimental apresentou intervalo entre a admissão e o primeiro episódio de infecção respiratória superior ao grupo controle, atingindo de forma limítrofe o nível de significância estatística (11,3 versus 7,5 dias,  $p=0,054$ ). Entretanto, não houve diferença significativa na incidência de infecções respiratórias observada entre os grupos (risco relativo ajustado=0,95, intervalo de confiança 95%=0,54-1,68). Também a densidade de incidência de pneumonia associada à ventilação mecânica identificada em ambos os grupos foi muito semelhante, sendo de 22,60 episódios por 1000 dias de ventilação mecânica (16/708) no grupo tratado com clorexidina, versus 22,28 (17/763) no grupo controle ( $p=0,952$ ). Por consequência destes achados, não se detectou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimental e placebo, com relação ao tempo livre de infecção respiratória ( $p=0,800$ ), tempo de ventilação mecânica ( $p=0,614$ ), tempo de uso de antimicrobianos para infecções respiratórias ( $p=0,713$ ), tempo total de uso de antimicrobianos ( $p=0,748$ ) e tempo de internação na UTI ( $p=0,670$ ), nem tampouco com relação à probabilidade de sobrevida e alta médica da UTI (risco relativo ajustado=1,08; intervalo de confiança 95%=0,72-1,63). A aplicação das soluções de estudo não acarretou nenhum evento adverso grave. Pode se afirmar como conclusão principal deste trabalho que a aplicação de solução oral de clorexidina a 0,12% três vezes ao dia em pacientes sob terapia intensiva pode postergar mas não previne a ocorrência de infecções respiratórias nosocomiais.

## PERFIL DE QUIMIOCINAS E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA EM ESCLEROSE MÚLTIPLA

**Elizabeth Regina Frota**

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Antonio Donadi

Tese de Doutorado apresentada em 08/06/2009

A Esclerose Múltipla é a doença inflamatória desmielinizante crônica mais comum do Sistema Nervoso Central, em adultos jovens. Imunomediada por linfócitos T, tem como alvo componentes protéicos da mielina, produzindo desmielinização e lesão axonal em múltiplas áreas da substância branca no encéfalo e medula espinhal. Uma etapa crucial da doença é a migração de linfócitos T auto-reativos contra mielina para dentro do sistema nervoso. Várias moléculas participam desta migração e, dentre elas, as quimiocinas parecem desempenhar papel importante. O objetivo deste estudo foi verificar a variação de níveis séricos das quimiocinas CXCL10/IP-10, CXCL9/Mig, CCL5/Rantes, CCL4/Mip-1'beta', CCL2/MCP-1 e correlacioná-los com os parâmetros clínicos e de ressonância magnética. Foram selecionados 28 pacientes, 21 mulheres, com esclerose múltipla na forma remitente recorrente, com até 10 anos de doença (mediana 5), com escore na Escala Expandida de Estado de Incapacidade (Expanded Disability Status Scale -EDSS) até 5 (mediana 2), idades variando entre 18-52 anos (mediana 33), e ainda 28 controles saudáveis pareados aos pacientes por sexo e idade, para coleta de amostras sanguíneas a cada 2 meses durante um ano, em um total de sete amostras por paciente, e três por controle. Foram realizadas duas ressonâncias magnéticas, inicial e final, para cada paciente, e uma em controles, avaliando-se as lesões em T2/Flair, T1 sem contraste e T1 com gadolínio, avaliando-se a região medial do corpo caloso dos pacientes e controles. Dezesete pacientes apresentaram lesões evidenciadas pelo gadolínio em pelo menos uma das ressonâncias. As medidas do corpo caloso dos pacientes foram significativamente menores do que as dos controles do mesmo sexo e idade, correlacionando-se negativamente com número de lesões em T2/Flair e em T1. Quatorze pacientes apresentaram surtos durante o seguimento, 22 pacientes mantiveram os escores de EDSS (continuação) Dezesete pacientes estavam em tratamento antes de iniciar o estudo e 11 não estavam tratados. As quimiocinas foram quantificadas utilizando-se ELISA. CXCL10 foi mais elevada em pacientes do que em controles em todas as amostras, os homens não mostraram diferença em relação aos controles, em mulheres tratadas houve aumento dos níveis influenciado por interferon beta. CXCL9 não mostrou alterações dos níveis entre pacientes e controles e não houve influência de sexo. Os níveis foram mais elevados após os surtos e nos pacientes que não modificaram o escore de EDSS. CCL5 apresentou níveis elevados no soro de controles e pacientes com uma flutuação significativa ao longo do tempo, sendo significativa nas mulheres particularmente nas tratadas. CCL2 mostrou níveis mais elevados nos pacientes do que os controles e não mostrou alteração pela ocorrência de surtos, tratamento, nem foi influenciado pelo sexo. CCL4 mostrou níveis mais elevados nos pacientes do que em controles, sendo que as mulheres tratadas com imunomoduladores mostraram uma flutuação maior dos níveis ao longo do ano. Concluindo, o presente estudo evidenciou que a medida do corpo caloso pode ser um bom indicador de progressão da doença. As quantificações das quimiocinas CXCL10, CCL5 e CCU no sangue periférico, podem ser úteis para avaliação da gravidade, da flutuação da intensidade da doença e do efeito de tratamento na esclerose múltipla. Influências hormonais devem ser avaliadas em estudos futuros???????

## Farmacologia

### ANÁLISE DA RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE CHUMBO NO SANGUE E NO SORO DE GESTANTES E NO CORDÃO UMBILICAL

**Jefferson Henrich Amaral**

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 13/05/2009

A gravidez tem um importante papel na toxicocinética do chumbo (Pb), afetando a toxicidade deste metal. Isto é particularmente importante para gestantes e neonatos por que a gravidez está associada com um intenso remodelamento ósseo, levando a um aumento na mobilização dos tecidos mineralizados. Ainda, a gravidez vem sendo associada com o aumento das concentrações de Pb no soro (Pb-S), que é a fração capaz de atravessar barreiras biológicas como a placenta. Assim, a Pb-S materna pode ser mais relevante para a exposição do feto do que a concentração de Pb no sangue (Pb-ST). No entanto, não existem informações em como a Pb-ST e Pb-S materno se relacionam com Pb-ST e Pb-S do feto. O objetivo deste trabalho foi verificar se existe alguma relação entre a fração %Pb-S/Pb-ST circulante nas gestantes e nos cordões umbilicais. Nós analisamos amostras de sangue coletadas de 120 grávidas e 120 amostras de sangue dos cordões umbilicais. As concentrações de Pb foram medidas com espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Encontramos diferença estatística entre as medianas de Pb-ST e Pb-S, mas não na fração %Pb-S/Pb-ST. Os resultados foram respectivamente ( $p < 0.0001$ ;  $p = 0.0041$  and  $p = 0.2756$ ). Correlações positivas foram encontradas quando os mesmos parâmetros foram analisados entre as gestantes e os cordões umbilicais, e elas foram respectivamente ((Pb-ST,  $r = 0.5714$ ; Pb-S,  $r = 0.3902$ ; %Pb-S/Pb-ST,  $r = 0.3767$ ). Estes resultados mostram que a fração livre de Pb materna é muito semelhante a fração livre de Pb no cordão umbilical, auxiliando para que medidas de intervenção possam ser tomadas o mais rápido possível se assim for entendido, por exemplo, com o aumento na ingestão de cálcio pela gestante e ainda um acompanhamento precoce do desenvolvimento neurológico do recém-nascido.

### MECANISMOS CELULARES ENVOLVIDOS NA REATIVIDADE À ANGIOTENSINA II, EM RATOS SUBMETIDOS À NEFRECTOMIA 5/6

**Rafaela Pravato Colato**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Maria de Oliveira

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/06/2009

O sistema renina-angiotensina (SRA) tem um papel importante na iniciação e progressão da aterosclerose, contribuindo ao desenvolvimento das doenças cardiovasculares (DCV). A renina é uma enzima proteolítica sintetizada como pré-pró renina, que é clivada em pró-renina, e posteriormente em renina ativa, a qual é armazenada e liberada de imediato após estímulo. Quando é liberada na circulação, a renina cliva o angiotensinogênio, formando a angiotensina I (Ang I). A Ang I, por sua vez, em sua passagem pela circulação pulmonar, é clivada pela enzima conversora de angiotensina (ECA), produzindo a angiotensina II, que é um hormônio biologicamente ativo. Pacientes com doença renal crônica, quando comparados à população geral, apresentam maior prevalência de DCV, incluindo doença coronariana, cérebro-vascular, vascular periférica e insuficiência cardíaca.

O presente trabalho mostra através dos parâmetros bioquímicos que os animais que passaram pelo processo cirúrgico desenvolveram insuficiência renal crônica, uma vez que foi observada redução da taxa de filtração glomerular e do clearance de creatinina, bem como o aumento do clearance de proteínas totais.

Observa-se uma diminuição significativa da pressão arterial média (MAP) após infusão de Ang II e fenilefrina (Phe), 28 dias após a nefrectomia 5/6.

O presente estudo mostra que em carótidas de animais com insuficiência renal crônica o efeito máximo (Emax) produzido pela Ang II foi significativamente diminuído, comparado aos sham operados. Na presença do inibidor não seletivo das óxidos nítricos sintases (L-NAME), bem como dos respectivos inibidores seletivos para as isoformas eNOS, iNOS e nNOS, o Emax da Ang II em artérias de animais nefrectomizados foi restabelecido ao nível dos sham, sugerindo que a produção de NO e/ou expressão das NOS podem estar aumentadas no modelo de insuficiência renal crônica, comprometendo o efeito máximo desencadeado pela Ang II.

Os resultados mostram que parece haver participação da enzima ciclooxigenase-1 (COX-1) na diminuição do Emax

da Ang II em carótidas de ratos nefrectomizados. Receptores AT<sub>2</sub> também parecem participarem da redução do Emax desencadeado pela Ang II no modelo de insuficiência renal crônica.

Os resultados obtidos no presente estudo revelam que a remoção endotelial parece não alterar o Emax da Phe e do KCl em carótidas do grupo nefrectomizado, sugerindo um comprometimento da capacidade contrátil em carótida de animais com insuficiência renal crônica, bem como a perda da modulação inibitória do endotélio sobre a vasoconstrição induzida por Phe e KCl.

A integridade endotelial na artéria dos animais nefrectomizados está preservada, pois o relaxamento desencadeado pela Ach foi semelhante tanto em artérias de animais sham, quanto em artérias de animais com insuficiência renal crônica. Esse dado foi confirmado pela análise morfológica dessas artérias que demonstraram similaridade morfológica entre os grupos em estudo.

## Fisiologia

### ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO DO CANAL DE POTÁSSIO *Ether-à-go-go 1* (EAG1) NOS NÚCLEOS DA BASE DE RATOS COM LESÃO DA VIA DOPAMINÉRGICA NIGROESTRIATAL

**Nadia Rubia Ferreira**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elaine A. Del Bel B. Guimarães

Tese de Doutorado apresentada em 16/04/2009

O gene *ether à-go-go*, derivado de linhagem mutante de *Drosophila melanogaster* que apresenta hiperexcitabilidade neuronal codifica canais de potássio (K<sup>+</sup>). Estes canais são quase que exclusivamente expressos no sistema nervoso central e sua função ainda não foi esclarecida. Os canais de K<sup>+</sup>-Eag1 (Kv10.1) pertencem à superfamília de canais de K<sup>+</sup>-voltage dependentes. O papel fisiológico da dopamina, importante neurotransmissor no circuito dos núcleos da base, pode envolver a ação mediada por canais de K<sup>+</sup>. O objetivo deste trabalho foi avaliar o padrão de expressão dos canais K<sup>+</sup>-Eag1 nos núcleos da base e regiões associadas no cérebro de ratos, por imunohistoquímica, analisando se também ocorrem modificações em consequência da lesão da via dopaminérgica nigroestriatal induzida pelas neurotoxinas 6-hidroxidopamina (6-OHDA) e 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP). Ratos *Wistar* machos receberam micro-injeção de salina ou 6-OHDA (unilateral) no feixe prosencefálico medial ou de MPTP (bilateral) na substância negra compacta. Animais *naïve* tiveram seus encéfalos fixados diferencialmente por 3 fixadores distintos para comparação da imunorreatividade para Eag1 de acordo com o protocolo de fixação. Um conjunto de animais do grupo lesão no feixe prosencefálico medial foi sacrificado aos 4 dias pós-cirúrgicos para avaliação dos efeitos a curto prazo da lesão na substância negra compacta. A extensão da lesão dopaminérgica induzida por 6-OHDA (33 dias pós-cirúrgicos) foi avaliada pelo comportamento rotatório induzido por apomorfina e pela imunorreatividade para a enzima tirosina hidroxilase (TH). Nos animais que receberam MPTP (21 dias pós-cirúrgicos) a lesão foi avaliada por meio da imunorreatividade para TH. Os animais 6-OHDA e MPTP foram sacrificados por decapitação, seus encéfalos retirados, fixados e incluídos em parafina. Reações imunohistoquímicas foram realizadas em secções coronais seriadas, analisando-se a presença da enzima TH e da proteína de canal de K<sup>+</sup>-Eag1. No grupo 6-OHDA (4 dias) foram realizados também ensaios para proteína nuclear neuronal (NeuN), para enzima ciclooxigenase 2 (COX-2) e para proteína glial ácida fibrilar (GFAP). A densidade óptica e celular foi analisada no estriado, núcleo acumbens, globo pálido e na substância negra compacta do grupo 6-OHDA (33 dias). A forma de fixação do tecido não influenciou a detecção da proteína do canal de K<sup>+</sup>-Eag1 por meio da reação imunohistoquímica. Observamos a co-localização entre células Eag1<sup>+</sup> e TH<sup>+</sup> na substância negra compacta e em outras áreas dopaminérgicas como as áreas tegmental ventral e retrorubral. Após a micro-injeção de 6-OHDA no feixe prosencefálico medial ocorreu na substância negra compacta ipsilateral, aos 4 dias, decréscimo da imunorreatividade para TH, Eag1 e da proteína específica de neurônios (NeuN) concomitante com o aumento da imunorreatividade para COX-2 e GFAP. Aos 33 dias foi observada lesão parcial e/ou completa das células dopaminérgicas, acompanhada de redução das células Eag1<sup>+</sup> proporcional à intensidade da lesão, além de diminuição da imunorreatividade para TH no estriado ipsilateral. Após micro-injeção de MPTP na substância negra compacta foi observada lesão parcial mostrando células dopaminérgicas remanescentes que apresentaram co-localização com células Eag1<sup>+</sup>. Estudos adicionais são necessários para investigar a redução na expressão de Eag1 na substância negra compacta relacionada à lesão do sistema dopaminérgico dos núcleos da base.

## CONTROLE BARORREFLEXO DA FUNÇÃO AUTONÔMICA NA HIPERTENSÃO ARTERIAL INDUZIDA POR L-NAME

**Fernanda Machado dos Santos**

Orientador: Prof. Dr. Hélio C. Salgado

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/05/2009

**Fundamentação:** Está bem estabelecido que o óxido nítrico (NO) modula a regulação neural cardiocirculatória. Todavia, o papel do NO na modulação autonômica no início e no desenvolvimento da hipertensão arterial induzida pelo bloqueio da NO sintase (NOS) com N-nitro-L-arginina metil éster (LName) requer melhor documentação.

**Objetivo:** Estudo da função autonômica em ratos acordados com hipertensão arterial induzida pela administração de L-Name durante 2 e 14 dias.

**Métodos:** Foi administrado LName (70 mg kg/p.o) durante 2 ou 14 dias. Foram utilizados os seguintes protocolos experimentais: 1) Caracterização hemodinâmica, estudo da variabilidade da PA e da FC, no domínio do tempo e da frequência, e dosagem de noradrenalina renal; 2) Registro da atividade do nervo simpático renal (ANSR) e estudo do barorreflexo. Os registros dos parâmetros hemodinâmicos foram realizados com os animais acordados, previamente canulados na artéria e veia femorais, e implantado com eletrodo para registro da ANSR quando exigido pelo protocolo experimental.

**Resultados:** Os ratos normotensos (n= 21) apresentaram PAM e FC, respectivamente, de  $111 \pm 3$  mmHg e  $384 \pm 7$  bpm. Os ratos hipertensos L-Name 2 dias (n=14) apresentaram valores de  $139 \pm 2$  mmHg e  $391 \pm 16$  bpm, enquanto os hipertensos L-Name 14 dias (n=9) apresentaram valores de  $147 \pm 4$  mmHg e  $376 \pm 14$  bpm. O balanço simpato-vagal para o coração não foi diferente entre os grupos estudados, porém houve um aumento da variabilidade, no domínio do tempo (variância), da pressão arterial sistólica (PAS) no grupo hipertenso L-Name 14 dias ( $28 \pm 5$  mmHg<sup>2</sup>), em comparação ao grupo hipertenso L-Name 2 dias ( $22 \pm 2$  mmHg<sup>2</sup>) e ao normotenso ( $16 \pm 2$  mmHg<sup>2</sup>). O conteúdo de noradrenalina renal não foi diferente entre os grupos hipertensos L-NAME 2 e 14 dias e o grupo normotenso ( $106 \pm 12$  ng/g,  $110 \pm 10$  ng/g versus  $125 \pm 9$  ng/g). Observou-se adaptação do barorreflexo (deslocamento da curva PAM vs ANSR à direita) no controle da ANSR nos grupos hipertensos L-Name 2 e 14 dias, com diminuição da sensibilidade somente no grupo hipertenso L-Name 14 dias ( $-1.9$  mmHg<sup>2</sup>/Hz), em comparação ao grupo hipertenso L-NAME 2 dias ( $-2.8$  mmHg<sup>2</sup>/Hz) e ao grupo normotenso ( $-3.3$  mmHg<sup>2</sup>/Hz). A ANSR (em % da atividade máxima) não diferiu entre os grupos hipertensos L-Name 2 dias ( $40 \pm 4$  %) e 14 dias ( $40 \pm 5$  %), e o grupo normotenso ( $43 \pm 5$  %).

**Conclusão:** Os resultados obtidos em ratos acordados indicam que a hipertensão arterial induzida por L-Name durante 2 e 14 dias não apresenta hiperatividade simpática, está associada à adaptação do barorreflexo aos níveis de hipertensão com diminuição da sua sensibilidade. Além disso, a hipertensão LName mantém íntegra a modulação simpato-vagal cardíaca, porém apresenta um aumento da variabilidade da PAS 14 dias após o tratamento.

## ESTUDO DA LESÃO MEDULAR DE RATOS POR CRIOGENIA E O EFEITO NEUROPROTETOR DO CANABIDIOL

**Marcelo Kwiatkoski**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elaine A. Del Bel B. Guimarães

Dissertação de Mestrado apresentada em 22/05/2009

**Racional e Objetivos:** Neste estudo foi investigada a lesão medular em ratos realizada por meio da aplicação de nitrogênio líquido e os efeitos da administração do constituinte não psicoativo da *cannabis*, o canabidiol (CBD). A recuperação sensorio-motora dos animais foi analisada por meio da escala de avaliação locomotora de Basso Beattie e Bresnahan (BBB) e teste de retirada de cauda. Para avaliação histológica da extensão da lesão foi utilizada a histoquímica para hematoxilina-eosina (HE), a expressão da proteína Fos-b e da proteína nuclear neuronal (Neu-N).

**Material e Métodos:** Ratos *Wistar* machos (280-300g) foram divididos nos grupos (n= 5-8/grupo) Controle (cont); laminectomia (lam); lesão+veículo (veíc); lesão+canabidiol 10mg (CBD 10) e lesão+canabidiol 20mg (CBD 20). A lesão foi induzida pela aplicação de jato de nitrogênio líquido durante 05 segundos na medula espinhal torácica, segmento 10. Foram realizadas aplicações (i.p.) do veículo ou do CBD 10mg e CBD 20mg imediatamente antes do procedimento cirúrgico, 3 horas após e por 6 dias consecutivos. A recuperação funcional foi avaliada um dia antes do procedimento cirúrgico, no primeiro, terceiro e sétimo dias pós-operatório (PO).

**Resultados:** A lesão medular por criogenia resultou em déficit motor significativo ( $P < 0.05$ ). Analisado por meio da escala BBB, o tratamento com canabidiol 10mg/kg induziu recuperação 50% maior que o grupo veículo, 7 dias pós-lesão. O tratamento com canabidiol 20mg/kg induziu melhora da função motora de 75% no sétimo dia pós-lesão comparado ao veículo. Não foram observadas modificações significativas no teste de retirada de cauda. A análise histológica mostrou

que o grupo lesão+CBD20, sete dias após o procedimento, apresentou redução significativa da extensão da lesão ( $P<0.05$ ) e da expressão da proteína Fos-b no corno ventral da medula espinhal ( $P<0.05$ ).

**Conclusão:** Ratos que sofreram lesão medular por meio da aplicação de jato de nitrogênio líquido apresentaram melhora funcional com a co-administração de Canabidiol que, portanto, exibiu efeito neuroprotetor.

## **MECANISMOS NITRÉRGICOS ENVOLVIDOS NA NEUROTRANSMISSÃO DOS COMPONENTES AUTÔNOMICOS E RESPIRATÓRIO DO QUIMIORREFLEXO NO NTS CAUDAL DE RATOS NÃO-ANESTESIADOS**

**Érica Maria Granjeiro**

Orientador: Prof. Dr. Benedito H. Machado

Tese de Doutorado apresentada em 10/06/2009

O núcleo do trato solitário é uma área integrativa do sistema nervoso central (CNS) envolvida no controle autonômico e respiratório. Estudos da literatura sugerem que o óxido nítrico (NO) exerce um importante papel na modulação dos reflexos cardiovasculares e ventilatórios no NTS. Além disso, evidências da literatura indicam uma possível interação entre o NO e o ATP no SNC. Fundamentados nessas evidências, no presente estudo, avaliamos a possível participação do NO na modulação dos parâmetros cardiorespiratórios basais e no processamento das respostas cardiovasculares e respiratórias à ativação do quimiorreflexo no NTS caudal de ratos não-anestesiados. Além disso, o possível papel do NO produzido pela óxido nítrico sintase neuronal (nNOS) nas respostas cardiovasculares e respiratórias à microinjeção unilateral de ATP no NTS caudal também foi avaliado. Para tanto, os animais foram submetidos ao implante de cânulas guia em direção ao NTS caudal e à canulação da artéria e veia femoral. Os parâmetros ventilatórios foram avaliados pelo método de pletismografia de corpo inteiro. A análise dos resultados mostrou que as microinjeções bilaterais do L-NAME, um inibidor não-seletivo da NOS, no NTS caudal, promoveram um aumento significativo na pressão arterial basal dos animais, sugerindo um papel modulatório do NO sobre os neurônios envolvidos com as vias neurais do barorreflexo. No entanto, as microinjeções bilaterais do N-PLA, um inibidor seletivo da nNOS, no NTS caudal, não promoveram alterações significativas na pressão arterial basal, sugerindo que a produção do NO envolvido no controle autonômico basal no NTS caudal não é dependente da atividade da nNOS. Com relação às respostas do quimiorreflexo, as microinjeções bilaterais do L-NAME ou do N-PLA, no NTS caudal de ratos não-anestesiados, promoveram uma atenuação significativa no aumento da frequência respiratória (fR) à ativação do quimiorreflexo, sugerindo a participação do NO produzido pela nNOS na modulação do componente respiratório do quimiorreflexo no NTS caudal. No entanto, as respostas pressora e bradicárdicas decorrentes da ativação do quimiorreflexo não foram alteradas pelas microinjeções bilaterais do LNAME ou N-PLA no NTS caudal, sugerindo que o NO não está envolvido na modulação das respostas cardiovasculares decorrentes da ativação deste reflexo. No que diz respeito às respostas decorrentes da microinjeção de ATP no NTS caudal, a análise dos resultados demonstrou que as respostas de aumento na pressão arterial, fR e ventilação minuto produzidas pela microinjeção unilateral de ATP no NTS caudal de ratos não-anestesiados foram significativamente atenuadas após a microinjeção do N-PLA no mesmo sítio, sugerindo a participação do NO produzido pela nNOS na modulação de tais respostas. Neste contexto, os achados do presente trabalho sugerem que no NTS caudal: 1) o NO, provavelmente produzido pela NOS endotelial, exerce um importante papel modulatório nas vias neurais do barorreflexo; 2) a neurotransmissão do aumento da fR decorrente da ativação do quimiorreflexo envolve a formação de NO produzido pela nNOS; 3) a neurotransmissão das respostas cardiovasculares decorrentes da ativação do quimiorreflexo não envolve a formação de NO; 4) a neurotransmissão das respostas cardiovasculares e respiratórias decorrentes da microinjeção unilateral de ATP envolve a formação de NO produzido pela nNOS.

## **Genética**

### **DETERMINANTES MOLECULARES DO POLIETISMO SEQUENCIAL EM ABELHAS *Apis mellifera***

**Carlos Henrique Lobo**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Zilá Luz Paulino Simões

Tese de Doutorado apresentada em 02/04/2009

A mudança de função idade-dependente é um dos traços mais característicos da sociedade da abelha melífera, *Apis mellifera* L. A expectativa de vida de uma abelha operária é de aproximadamente 30-40 dias. Uma das mudanças fisiológicas

relacionadas ao envelhecimento das operárias é a atrofia da glândula hipofaríngea (GH). O ciclo secretor das GH está intimamente relacionado à função de nutridora, desempenhada pelas operárias entre 5 e 20 dias de vida adulta; em operárias forrageiras, estas glândulas regridem e aparentemente passam para um estado pós-secretor. Desta maneira, esta glândula representa um modelo experimental para o estudo de divisão de trabalho e envelhecimento. Objetivou-se neste trabalho ampliar o conhecimento sobre genes diferencialmente expressos na GH nestas duas fases distintas da vida adulta. Uma vez descobertos, estes candidatos foram utilizados para se tentar esclarecer a relação idade-comportamento em operárias mantidas em uma colônia *single-cohort*. Para tais fins, diferentes técnicas foram utilizadas, dentre elas destacam-se: Biblioteca Subtrativa Supressiva (BSS), Real Time PCR e Cromatografia Gasosa por Espectrometria de Massa. Nas BSS das GHs de operárias nutrizas e forrageiras foram identificados quatro genes diferencialmente expressos: *buffy*, *alfa-glicosidase*, *amilase proximal* e *major royal jelly-4*. As análises de expressão nas amostras da *single-cohort* evidenciaram o gene *buffy* mais expresso em operárias nutrizas e os demais em forrageiras. Inclui-se também os genes *superóxido dismutase*, relacionado ao *stress*, sendo mais expresso em forrageiras e o gene para a vitelogenina, expresso sem diferença entre as fases. Os resultados até aqui obtidos ampliam os conhecimentos sobre a expressão gênica diferencial, especialmente nas glândulas hipofaríngeas, trazendo novos candidatos a marcadores de envelhecimento. A composição de hidrocarbonetos cuticulares cefálicos, investigada por cromatografia gasosa, consistiu em alcanos, alquenos, alcadienos e alcanos ramificados, variando entre 21 e 35 átomos de carbono. O perfil de operárias forrageiras foi identificado principalmente por alcanos, enquanto o de nutrizas por alquenos. Mostra-se aqui que em operárias de *A. mellifera* os perfis de hidrocarbonetos cefálicos cuticulares está dinamicamente ligado ao comportamento em detrimento da idade. Esses resultados suportam a idéia de que a interação operária-operária pode influenciar a taxa de desenvolvimento comportamental, influenciada por comunicação química.

### **ABORDAGEM COMPUTACIONAL APLICADA AO DESENVOLVIMENTO DE UM SAGEmap DE *Apis mellifera***

**Rodrigo Martins Brandão**

Orientador: Prof. Dr. Wilson Araújo da Silva Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/04/2009

A *Apis mellifera* é uma espécie que desperta grande interesse dos Biólogos por possuir um mecanismo complexo e organizado relacionado ao comportamento social, capacidade de aprendizado e memória. Muitas dessas características possuem uma base genética determinada pela regulação e variação estrutural e funcional de um conjunto de genes. Variações do nível de expressão gênica também contribuem para a regulação desses mecanismos. Uma das técnicas mais usadas para avaliar o padrão de expressão global de um tecido ou linhagem celular é o SAGE (Serial Analysis of Gene Expression), que permite estudar as variações na expressão gênica causadas por estímulos externos ou pela fisiologia de um tecido em vários organismos. O método de SAGE se baseia na análise do perfil de expressão gênica de um tecido pela geração e contagem de sequências de nucleotídeos curtas (10 bases) denominadas tags. Para tornar-se informativo, primeiramente é necessário associar cada tag a um gene (processo de anotação). O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia para anotar cada tag de uma biblioteca de SAGE produzida a partir de amostras de tecido cerebral de *A. mellifera*. As análises para o desenvolvimento dessa metodologia seguiram as seguintes etapas: 1) gerar uma lista de tags confiáveis (LTC) da biblioteca de SAGE; 2) extração das tags virtuais em base de dados de transcritos de *A. mellifera*; 3) relacionar as tags geradas experimentalmente com as tags virtuais; 4) associar tag ao gene; 5) reduzir a ambiguidade das tags; 6) mapear as tags da biblioteca no genoma; 7) validar os resultados. As tags virtuais foram extraídas pela da identificação computacional das 10 bases adjacentes ao sítio da enzima de ancoragem NlaIII em sequências de transcritos da abelha. Uma base de dados relacional foi modelada para armazenar os dados da biblioteca de SAGE de cérebro e do SAGE virtual. Experimentalmente foram geradas 60.536 tags de SAGE, sendo 20.483 tags únicas. Foi gerada uma lista de tags mais confiáveis, reduzindo o número de tags para 45.674, sendo 5.683 tags únicas. Para anotarmos a biblioteca de SAGE de *A. mellifera*, as 5.683 tags da lista LTC foram mapeadas contra a base de dados do UniGene desse organismo resultando em 27,5% das tags anotadas. As tags foram classificadas de acordo com alguns critérios estabelecidos para associarmos com maior confiança a melhor tag ao gene, diminuindo a ambiguidade das tags. Todas as tags da lista LTC foram mapeadas no genoma da abelha nas duas orientações e foram encontradas 85% das tags. Encontramos 63% de tags no genoma que também foram anotadas no UniGene e 94% das tags LTC anotadas no UniGene foram encontradas no genoma. Selecionamos seis genes para avaliar suas expressões através da técnica de RT-PCR, e os resultados corresponderam ao observado na biblioteca de SAGE. O presente estudo apresenta a primeira iniciativa de anotação de uma biblioteca de SAGE de *A. mellifera*. O resultado mostrou ser uma metodologia eficaz e que será de grande utilidade nos estudos envolvendo a análise do perfil de expressão gênica desse organismo.

## **AValiação DA RESPOSTA CELULAR MEDIADA PELO QUIMIOTERÁPICO TEMOZOLOMIDA ASSOCIADA AO INIBIDOR DO REPARO DO DNA METOXIAMINA EM LINHAGENS DE GLIOBLASTOMA**

**Ana Paula de Lima Montaldi**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Elza Tiemi Sakamoto Hojo

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/04/2009

Os gliomas compreendem mais de 70% de todos os tumores cerebrais primários. Mesmo com tratamento agressivo, a média de sobrevivência relatada para estes tumores é geralmente menor do que 1 ano após o diagnóstico. A quimioterapia baseada em agentes alquilantes, como a temozolomida (TMZ), tem mostrado, em média, uma modesta resposta e pequeno aumento da sobrevida. As principais lesões causadas pela TMZ são os aductos N7-metil-G e N3-metil-A, que são processados pelo reparo por excisão de base (BER), compreendendo mais de 80% das lesões induzidas no DNA pela TMZ. Há evidência de que a resistência a este quimioterápico pode ser causada em parte por um eficiente processo de reparo via BER, mas poucos estudos têm focalizado essa abordagem. Metoxiamina (MX) é um inibidor do reparo via BER que tem sido atualmente investigado como um possível aliado no combate a vários tipos de tumores, aumentando os efeitos citotóxicos de drogas, tais como a TMZ. No presente trabalho, foram avaliadas as respostas celulares de células de glioblastoma (GBM) ao tratamento com a TMZ, associada ou não à MX. Foram analisados parâmetros como citotoxicidade (24 h, Kit XTT), sobrevivência celular (120 h, Kit XTT) e clonogênica (10 dias após o tratamento), danos no DNA pelo Ensaio Cometa (2, 6, 12 e 24 h), a indução de apoptose (24, 48 e 72 h) e alterações na expressão gênica e transcricional (24, 48 e 72h) de genes envolvidos na via de reparo por BER. Sob tratamento das linhagens de GBM (U87, U343, U251, U138 e T98G) a diferentes concentrações de TMZ (100 a 1000  $\mu$ M), o efeito citotóxico foi observado em células analisadas após 120 h, sendo que a linhagem T98G foi a mais resistente ao tratamento com TMZ e foi a única a apresentar diferenças significativas entre o tratamento sozinho e combinado ( $p < 0,05$ ). Assim, foi selecionada a linhagem T98G para os demais experimentos e estudar as possíveis vias implicadas na resistência a essa droga. A sobrevivência clonogênica das células T98G foi reduzida, sob tratamento com a TMZ (100 a 800  $\mu$ M), com diferenças significativas para as concentrações superiores a 400  $\mu$ M. Observou-se que o efeito da TMZ foi acentuado quando associada ao inibidor, com diferenças significativas para todas as concentrações testadas. A droga induziu uma maior porcentagem de danos no DNA (Ensaio Cometa) para ambos os tratamentos (400 e 600  $\mu$ M) e nos tempos de 2 e 6 h, com diferenças significativas entre os tratamentos (TMZ e TMZ+MX), somente na concentração de 600  $\mu$ M/2 h. Entretanto esses danos se equipararam nos tempos seguintes. A indução de apoptose analisada nas células T98G mostrou a frequência máxima de 24,2% no tempo de 72h, na concentração de 600  $\mu$ M de TMZ, enquanto que uma maior indução de apoptose (47,7%) foi observada para a mesma concentração no tratamento combinado (TMZ + MX), resultando em diferenças significativas. A análise de expressão gênica realizada para os genes *APE1*, *FEN1* e *XRCC1*, mostraram que houve uma menor indução dos genes *APE1* e *FEN1* no tratamento combinado. A expressão da proteína APE1 (analisada por *Western blot*) foi menos intensa em todos os tempos de tratamento combinado (TMZ + MX), possivelmente pelo bloqueio dos sítios AP causado pelo inibidor MX. A proteína FEN1 mostrou-se menos expressa na comparação dos tratamentos, nos tempos de 48 e 72 h, indicando uma inibição de proteínas da via BER downstream à remoção de sítios AP por APE1, possivelmente pela ligação de MX. PCNA teve sua expressão protéica aumentada no tratamento combinado, nos tempos de 24 h, e principalmente em 48 h, sugerindo uma indução devida a um aumento de danos no DNA. Portanto, os resultados dos ensaios realizados com a associação da TMZ à MX demonstraram a influência do tratamento combinado sobre a expressão de proteínas envolvidas no reparo via BER, o que contribuiu para uma redução da capacidade proliferativa das células T98G em decorrência da maior indução de danos por aductos DNA-MX não reparados, resultando também em aumento de morte celular apoptótica. Esses dados mostram que a modulação do reparo via BER pode constituir uma estratégia promissora para aumentar a eficácia do tratamento com a TMZ, o que poderá futuramente embasar a escolha de procedimentos terapêuticos que resultem numa maior eficácia do tratamento de gliomas com agentes alquilantes.

## **PESQUISA DO PADRÃO DE METILAÇÃO DOS GENES *GRB10*, *MEST* E DA REGIÃO 11p15 NA SÍNDROME DE SILVER-RUSSEL**

**Jaqueline Carvalho de Oliveira**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Ester Silveira Ramos

Dissertação de Mestrado apresentada em 15/04/2009

A síndrome de Silver-Russell (SSR) é caracterizada por retardo no crescimento intrauterino associado a várias dismorfias características, sendo clínica e geneticamente heterogênea, com relatos de diferentes cromossomos e genes potencialmente envolvidos em sua etiologia. Porém, apenas os cromossomos 7 e 11 têm-se mostrado consistentemente

implicados na SSR, ambos contendo regiões envolvidas com *imprinting* genômico. Este último é um mecanismo epigenético no qual os dois alelos de um determinado gene são expressos diferencialmente dependendo da origem parental. Os genes *MEST*, *GRB10*, mapeados no cromossomo 7, e a região 11p15 estão sob regulação do *imprinting* genômico e são sugeridos na etiologia da SSR pelo envolvimento no crescimento fetal. No presente trabalho, foram avaliados o perfil de metilação nas regiões diferencialmente metiladas dos genes *MEST* e *GRB10*, além da análise de metilação de duas regiões controladoras de *imprinting* na região 11p15, H19DMR e KvDMR, por metodologias qualitativas (Análise de restrição combinada com bissulfito e PCR específica para a metilação) e quantitativa (Digestão Enzimática Sensível à Metilação Associada à PCR em Tempo Real). Foram selecionados 15 pacientes com SSR além de cinco casos analisados separadamente (um indivíduo com SSR filho de casal consanguíneo e com irmão apresentando fenótipo de hipercrecimento, três irmãos com SSR de uma mesma família e um indivíduo com cariótipo 45,X[25]/46,XX[75] e características típicas da SSR e da síndrome de Turner). Foi observada a hipermetilação para paciente, 6,7% (1/15), na região diferencialmente metilada do gene *MEST*, hipometilação para 20% (3/15) dos pacientes na H19DMR, não sendo encontrada alteração na região da KvDMR, para o grupo analisado. No entanto, hipermetilação dessa última região foi encontrada para o paciente filho de casal consanguíneo e nos três irmãos, sugerindo o envolvimento também dessa região na etiologia da SSR. Não foi possível correlacionar estatisticamente os resultados laboratoriais e a gravidade dos achados clínicos, entretanto as metodologias utilizadas se mostraram eficientes na confirmação diagnóstica da SSR, trazendo benefícios diretos para o diagnóstico mais rápido, além da contribuição para estudos posteriores que poderão auxiliar o aconselhamento genético das famílias com portadores de SSR e desenvolvimento de novos tratamentos.

### **ANÁLISE DO PADRÃO DE METILAÇÃO DO GENE *PEG3* EM DIFERENTES REGIÕES DE CÉREBRO DE BOVINOS DA RAÇA NELORE**

**Hélida Regina Magalhães**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>.Dr<sup>ª</sup>. Vera Lucia Cardoso

Dissertação de Mestrado apresentada em 16/04/2009

O comportamento materno é essencial para a sobrevivência e desenvolvimento do filhote mamífero. Durante a prenhez, as fêmeas recebem estímulos sensoriais e hormonais capazes de modificar e preparar o cérebro da mãe para o início dos padrões de comportamento materno (por exemplo, aumentando o número neurônios produtores de oxitocina no hipotálamo). Estudos têm identificado o hipotálamo como o principal responsável por estas mudanças, porém outras áreas do cérebro também estão envolvidas no processo do comportamento materno. *Peg3*, um gene marcado paternalmente expresso, é conhecido por controlar o comportamento materno em camundongos. Fêmeas nocautes para o gene *Peg3* falham em aumentar a ingestão de alimentos, na ejeção de leite e em algumas atividades maternas, como placentofagia e construção do ninho. Este estudo teve como objetivo determinar os padrões de metilação da região diferencialmente metilada de *Peg3* (*Peg3DMR*) de animais da raça Nelore de bovinos em diversas áreas do cérebro. Amostras foram coletadas das seguintes áreas: córtex frontal, occipital, temporal e parietal, hipocampo e hipotálamo, num total de 8 animais (4 machos e 4 fêmeas). O padrão de metilação destas amostras foi analisado pelo protocolo COBRA (do inglês, *Combined Bisulfite-Restriction Analysis*), que combina a modificação do DNA por bissulfito de sódio, amplificação por PCR e digestão por enzima de restrição. Foram encontrados diferentes padrões de metilação entre as amostras, ocorrendo uma predominância de hipometilação entre as amostras do sexo masculino, e padrões mais variados nas amostras do sexo feminino. As variações nos padrões de metilação ocorreram de maneira mais marcante entre as amostras de uma mesma região cerebral de diferentes animais, do que entre as amostras de várias regiões de um mesmo animal. Os resultados indicam que pode haver uma variação no status de *imprinting* em nível populacional, porém estudos com um número maior de amostras são necessários para a verificação da significância estatística destas variações.

### **ANÁLISE EPIGENÉTICA E DE POLIMORFISMOS EM TUMORES EXTRA-AXIAS DO SISTEMA NERVOSO**

**Luciana Oliveira de Almeida**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>.Dr<sup>ª</sup>. Cacilda Casartelli

Tese de Doutorado apresentada em 18/05/2009

Os tumores extra-axiais do sistema nervoso são de localização extra-cerebral e na maioria das vezes benignos; meningiomas, schwannomas e metástases fazem parte deste grupo. O aparecimento de um tumor ocorre a partir do acúmulo



de alterações genéticas e epigenéticas nas células. Para entender o mecanismo molecular da progressão tumoral e a formação de metástases é indispensável identificar os genes que acumulam essas alterações. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo analisar o perfil de metilação dos genes TP16, TP53, DAL-1, GSTP-1, MEN-1, NDRG2 e das DNA metiltransferases 3A, 3B e 3L e sua associação com os tumores extra-axiais e ainda, avaliar, através de um estudo caso-controle, a influência dos SNPs TP53 Pro47Ser e Arg72Pro, EGF + 61, GSTP-1 Ile105Val e WRN Cys1367Arg no desenvolvimento e prognóstico desses tumores. A técnica utilizada para a análise de hipermetilação foi a MSP, e através dela observamos que a atividade das DNMTs não está associada à metilação dos tumores extra-axiais e ainda, os perfis de metilação das DNMTs de novo não estão associados com alterações no padrão de metilação dos genes TP16, TP53, DAL-1, GSTP-1, MEN-1 e NDRG2. Observamos que a metilação do gene TP53 está associada principalmente aos tumores de maior grau de malignidade, a uma deficiência na resposta a tratamentos e, conseqüentemente, a um maior número de óbitos. A metilação do gene TP16 está envolvida mais frequentemente na formação de schwannomas e a de NDRG2 na progressão dos meningiomas. A análise de polimorfismos foi realizada através da técnica de PCR-RFLP e observamos diferenças nas distribuições genotípicas entre pacientes e controles nos SNPs TP53 Pro47Ser e Arg72Pro, EGF + 61 e GSTP-1 Ile105Val, onde as variantes Ser47, Pro72, EGF G61 e Val105 foram observadas com maior frequência entre os portadores de tumores extra-axiais. Dessa forma, estas variantes podem ser fatores de susceptibilidade para o desenvolvimento dos tumores.

## Ginecologia e Obstetrícia

### PESO AO NASCIMENTO E SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS: MAIS UMA ASSOCIAÇÃO DENTRO DA REPROGRAMAÇÃO FETAL?

**Anderson Sanches de Melo**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carolina Sales Vieira Macedo

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/05/2009

**Introdução:** A história natural da Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) tem início durante a fase do crescimento fetal, período em que ocorre a diferenciação e a maturação funcional dos órgãos e tecidos. Quando surgem condições adversas durante a vida fetal, existe predomínio do processo catabólico, que promove a restrição de crescimento intra-útero e o nascimento de recém-nascidos (RN) pequenos para a idade gestacional (PIG). Durante esta fase de hipoxemia fetal crônica, surgem alterações na expressão gênica de proteínas nucleares (reprogramação fetal) que poderão codificar manifestações fenotípicas na vida adulta, a depender das células que foram acometidas. Este processo, associado à predisposição genética e aos fatores ambientais, pode favorecer o surgimento da SOP.

**Objetivo:** Avaliar se os RN de termo PIG (femininos) têm maior prevalência de SOP na idade adulta quando comparados aos RN Adequados para Idade Gestacional (AIG) na população da coorte de indivíduos nascidos em Ribeirão Preto durante o período de 31.05.1978 e 01.06.1979.

**Casística e Métodos:** Foram convocadas 440 mulheres de novembro/2007 à outubro/2008 para avaliação de repercussões reprodutivas e metabólicas no menacme. Deste total, concordaram em participar da pesquisa 355 pacientes (268 AIG e 87 PIG), sendo que 138 AIGs e 37 PIGs foram excluídas devido ao uso de anticoncepcional hormonal (97) e pela presença de gestação ou amamentação (78). Todas as mulheres foram submetidas à anamnese (com avaliação da idade, das características do ciclo menstrual, dos sinais/sintomas do hiperandrogenismo, do peso, da altura e do índice de massa corpórea). Foi realizada a dosagem hormonal (FSH, LH, prolactina, testosterona, DHEAS, 17-OH progesterona, insulina), a avaliação bioquímica (lipidograma, glicemia e teste de tolerância oral com 75 gramas de glicose), a SHBG e a ultrasonografia pélvica para definição do diagnóstico de SOP. Também foi avaliado o índice de androgênios livres (FAI), a resistência insulínica (RI) (através do HOMA) e a prevalência da síndrome metabólica (SMET). A coleta foi realizada entre o terceiro e o quinto dia do ciclo menstrual, após jejum de 12 horas.

**Resultados:** a prevalência de SOP foi mais elevada no grupo PIG (32%) do que em mulheres do grupo AIG (13,8%), com risco relativo de 2,31 (IC95%: 1,27 - 3,21, p=0,0097). Em relação aos critérios de SOP, a irregularidade menstrual (PIG: 51% vs AIG: 25,4%, p=0,0012) e o hiperandrogenismo (PIG: 41,2% vs AIG: 22,3%, p=0,01) foram mais elevados nas pacientes PIG. Já a ultrasonografia, os exames bioquímicos, o FAI, e a avaliação hormonal não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. Também não houve diferenças entre os grupos em relação às prevalências de SMET e RI.

**Conclusão:** Mulheres PIG ao nascimento representam um grupo de risco para o desenvolvimento da SOP durante o menacme. Estudos de seguimento destas mulheres devem ser realizados para avaliar a relação do peso ao nascer com a prevalência de doenças cardiovasculares e metabólicas ao longo da vida.

## EXPRESSÃO DA TOPOISOMERASE II ALPHA E DO HER-2/NEU COMO FATORES PREDITIVOS DE RESPOSTA CLÍNICA E PATOLÓGICA EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA SUBMETIDAS À QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE

**Fábio Eduardo Zola**

Orientador: Prof. Dr. Jurandyr Moreira de Andrade

Tese de Doutorado apresentada em 22/05/2009

O objetivo do estudo foi avaliar a importância da expressão das proteínas topoisomerase II alfa (topo II) e HER-2 como fatores preditivos da resposta à quimioterapia neoadjuvante e prognóstico em pacientes com câncer de mama nos estádio clínico II e III.

**Pacientes e métodos:** 99 pacientes receberam quimioterapia neoadjuvante com docetaxel (75mg/m<sup>2</sup>) e epirrubicina (50 mg/m<sup>2</sup>) em infusão endovenosa no dia 1 a cada 3 semanas após terem sido submetidas a biópsia incisional. Foi complementado tratamento sistêmico com quimioterapia adjuvante com CMF ou FEC de acordo com o estado axilar avaliada após a cirurgia definitiva e/ou hormonioterapia de acordo com a avaliação dos receptores hormonais. Avaliamos a taxa de resposta ao tratamento neoadjuvante e a influência da topo II alfa e do HER-2 na taxa de resposta à quimioterapia neoadjuvante bem como na sobrevida livre de doença e sobrevida global. Também foram avaliadas a expressão dos receptores hormonais. Resultados: a taxa de resposta clínica objetiva foi de 80,8 % com 9,1 % de resposta patológica completa. A expressão da topo II alfa não apresentou significância nas taxas de resposta ou na sobrevida das pacientes e não houve correlação entre a expressão desta proteína e de HER-2. A superexpressão da proteína HER-2 foi associada com uma redução significativa nas taxas de sobrevida livre de doença e sobrevida global (p= 0,04 e p= 0,004, respectivamente). Conclusão: a expressão da topo II alfa não demonstrou, em nosso estudo, ser fator preditivo ou prognóstico nas pacientes submetidas a quimioterapia neoadjuvante com docetaxel e epirrubicina.

## ALTERAÇÕES NA TESSITURA DA VOZ CANTADA EM MULHERES DO CLIMATÉRIO

**Janaína Mendes Laureano**

Orientador: Prof. Dr. Marcos Felipe Silva de Sá

Tese de Doutorado apresentada em 30/06/2009

As flutuações nos níveis dos hormônios sexuais, ao longo da vida do ser humano, trazem modificações anatomo-fisiológicas. Esses hormônios exercem papéis determinantes no desenvolvimento anatômico da laringe e na fisiologia vocal diferindo significativamente entre os sexos o que torna a voz uma característica sexual secundária. Estudos já documentaram a presença e, mais especificamente a localização dos receptores dos hormônios sexuais na laringe e pregas vocais, evidenciando que estes órgãos podem ser responsivos aos hormônios sexuais e sofrerem as consequências das flutuações hormonais. Existem algumas divergências quanto ao efeito hormonal sobre a qualidade vocal. Alguns estudos afirmam que ocorrem mudanças na voz relacionadas à menopausa, enquanto outros divergem desses resultados. Tal fato nos leva a questionar se as metodologias utilizadas foram realmente as mais adequadas, uma vez que existem evidências clínicas destas mudanças. São frequentes as queixas entre as mulheres de alterações vocais após a menopausa, particularmente entre as mulheres cantoras, que enfatizam perdas dos tons agudos. O objetivo deste trabalho foi verificar se há influência dos hormônios sexuais sobre a qualidade vocal da voz cantada de mulheres menopausadas cantoras de coral, através da avaliação da tessitura e do tempo máximo de fonação (TMF). A tessitura corresponde ao número de notas da mais grave até a mais aguda que o indivíduo consegue produzir com qualidade vocal. O tempo máximo de fonação (TMF) avalia a habilidade do paciente em forças aerodinâmicas da corrente pulmonar e as forças mioelásticas da laringe. As voluntárias foram divididas em dois grupos. Grupo jovem (n=8) mulheres com idade entre 20 e 40 anos, que apresentavam ciclos menstruais regulares que não estivessem grávidas ou amamentando durante o estudo. Grupo menopausada (n=22) mulheres com idade de 45 a 60 anos, menopausadas há no mínimo 2 anos que não faziam uso de terapia hormonal (TH). Para mensuração do TMF, foi dada a instrução de inspirar e produzir isoladamente as vogais /a/, /i/ e /u/ e as consoantes fricativas /s/ e /z/ em altura e tons habituais de fala. Para avaliar a tessitura foi escolhida uma música conhecida do folclore brasileiro que exigia as variações de frequência da mais grave a mais aguda. Os valores de cada nota musical e sua frequência correspondente em hertz (Hz) foram escritos manualmente. Foram comparados para o grupo jovem e menopausada os valores máximos (F2) e os valores mínimos (F1) e a diferença entre o valor máximo e mínimo (F2-F1) entre os grupos medidos em frequência (Hz) e em semitons (St), e foram encontradas diferenças significativas entre os grupos. Não foi encontrada diferença significativa entre o grupo jovem e menopausada quando foram comparados o tempo máximo de fonação das vogais /a/, /i/, /u/ e as consoantes /s/ e /z/. Os resultados do presente estudo demonstraram haver diferença

significativa na tessitura da voz cantada entre mulheres cantoras de coral jovens e pós-menopausa. Estes resultados sugerem que as alterações na tessitura da voz cantada podem ser decorrentes de modificações fonatórias da articulação, respiração e fonação realizadas durante o canto, influenciadas pelos hormônios sexuais. E não serem atribuídas às alterações nas pregas vocais como edemas, espessamentos e a hiperemia, as quais não foram encontradas ao exame videolaringoscópico e tampouco no TMF quando comparados os grupos jovem e menopausada.

## Imunologia Básica e Aplicada

### RECEPTOR DE AEROBACTINA FÉRRICA DE *Escherichia coli* COMENSAL INDUZ PROLIFERAÇÃO DE CÉLULAS B-1

**Alan Berlese**

Orientador: Prof. Dr. Ademilson Panunto Castelo  
Dissertação de Mestrado apresentada em 23/04/2009

Os antígenos das bactérias comensais intestinais induzem uma estimulação imunológica cujo papel é fundamental no controle da microbiota bacteriana e no combate a potenciais patógenos. Neste trabalho objetivamos identificar proteínas ligantes de carboidrato de *E. coli* K-12 e suas propriedades imunoestimuladoras *in vitro*. A cromatografia de afinidade em coluna de Sepharose foi utilizada para purificar as proteínas de *E. coli*. A análise eletroforética do material ligado à Sepharose, eluído com NaCl 1M, revelou uma banda de 75-kDa, que foi identificada por espectrometria de massa como um fator de virulência responsável pela aquisição de ferro denominado receptor de aerobactina férrica de *E. coli* (IutA). O gene *iutA* foi subclonado no vetor pET28a e a proteína recombinante (rIutA) foi produzida em *E. coli* transformada com este plasmídeo e induzida com IPTG. A proteína recombinante com cauda de Histidina foi purificada em coluna HisTrap. Para avaliar os efeitos imunoestimulatórios, células do baço de camundongos C57BL/6, marcadas com CFSE, foram estimuladas com 20µg/mL de rIutA por 72h. Resultados da citometria de fluxo revelaram que as células B proliferavam em resposta à estimulação. Análises subsequentes com camundongos deficientes em MyD88, TLR2 ou TLR4 mostraram que a proliferação induzida por rIutA necessita de um receptor do tipo Toll (TLR) diferente de TLR2 ou TLR4. Além disso, no ensaio com cloroquina, um inibidor da acidificação endossômico (um pré-requisito para a ativação dos TLRs 7, 8 e 9), também não houve inibição da proliferação de células B. Estas características sugerem que um TLR, exceto os TLRs 1 a 9, em uma via dependente de MyD88, medeia a detecção de IutA, não sendo a proliferação de células B devida à contaminação por LPS. Além disso, a subpopulação de células B que prolifera de maneira predominante é a B-1, tanto B-1a quanto B-1b, visto que não há proliferação de células B em camundongos BALB/Xid, deficientes em células B-1. Nossos resultados sugerem que o receptor de aerobactina férrica estimula o sistema imunológico do hospedeiro através da ativação das células B-1.

### DIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES POR HANTAVIRUS E ARENAVIRUS EM SERES HUMANOS E ROEDORES

**Glauciane Garcia de Figueiredo**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo  
Dissertação de Mestrado apresentada em 30/04/2009

A Síndrome Pulmonar e Cardiovascular por Hantavirus (SPCVH) e a Febre Hemorrágica por Arenavirus (FHA) são doenças graves emergentes nas Américas, causadas, principalmente, pela inalação de aerossóis dos dejetos de roedores silvestres. Na região de Ribeirão Preto a SPCVH, causada pelo vírus Araraquara (ARAV), tem sido diagnosticada desde 1998. O roedor-reservatório do ARAV é o *Necromys lasiurus*. A FHA foi descrita no Brasil em 5 pacientes, causada pelo vírus Sabiá. Roedores-reservatório e a situação epidemiológica das arenaviroses são desconhecidas no país. Este trabalho tem como objetivo diagnosticar, por métodos virológicos e sorológicos, infecções por Hantavirus e Arenavirus, em seres humanos e em roedores. Diagnosticaram-se por sorologia e/ou RT-PCR, a SPCVH em 11 de 52 casos suspeitos (21,1%) e 54,5% destes casos tiveram diagnóstico positivo por ELISA e PCR. Buscando por casos de infecção benigna por Hantavirus, analisaram-se 136 soros de pacientes das cidades de Jardinópolis-SP, Cássia dos Coqueiros- SP, todos com doença febril aguda. Entretanto, só foram encontrados anticorpos IgG anti-Hantavirus em 6 casos (4,41%). Também, de 2005 a 2008, foram capturados 595 roedores silvestres, *Necromys lasiurus*, *Akodon sp*, *Calomys tener* e *Oligoryzomys sp*. Quinze destes roedores apresentaram anticorpos para Hantavirus (2,52%). Estes foram, 11 *Necromys lasiurus*, capturados em Franca, Cajuru e Batatais, 2 *Calomys tener*, capturados em Franca e Cajuru, e 2 *Akodon sp* capturados em Franca e Cajuru. As

soropositividades intra-espécie ou gênero foram 4,01% para *Necromys lasiurus*, 1,87% para *Calomys tener* e 1,45% para *Akodon sp.* Foi possível detectar genoma de Hantavirus nos fragmentos de tecido de 1 *Calomys tener*. Após sequenciamento nucleotídico, a análise filogenética dos Hantavirus detectados por RT-PCR em 3 pacientes, bem como no roedor, mostraram, em todos os casos, tratar-se do ARAV. Ainda, amostras de soros humanos negativas para Hantavirus foram submetidas a ELISA para Arenavirus e em um paciente (2,32%), encontrou-se positividade de IgG. Amostras dos roedores capturados foram, também, analisadas para Arenavirus sem detecção de positivos. Portanto, a SPCVH, doença grave e de letalidade extremamente alta, 54%, vem ocorrendo, nos últimos 3 anos, na região de Ribeirão Preto. Foram observados roedores infectados com Hantavirus, um a cada 40 capturados, com risco de transmissão viral para o homem. Finalmente, arenaviruses podem estar ocorrendo na região de Ribeirão Preto com base no achado de um paciente soropositivo.

### **IDENTIFICAÇÃO DE ANTÍGENOS DO CARRAPATO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* POR SOROS DE BOVINOS RESISTENTES E SUSCETÍVEIS**

**Gustavo Rocha Garcia**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>.Dr<sup>a</sup>. Isabel Kinney Ferreira de Miranda Santos  
Dissertação de Mestrado apresentada em 07/05/2009

Carrapatos da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* causam enormes prejuízos à saúde e à produção animal. Sendo um ectoparasita hematófago, o carrapato espolia seu hospedeiro e transmite doenças. Seu parasitismo é mediado por sua saliva, que inibe as reações homeostáticas do hospedeiro à injúria local causada por sua picada. Seus hospedeiros montam respostas imunes contra esse parasita, incluindo a resposta imune mediada por anticorpos, indicando que o controle imunobiológico é possível. Contudo, o complexo farmacológico da saliva do parasita é composto por proteínas solúveis que são sabidamente pouco ou nada imunogênicos se não forem introduzidos no hospedeiro com adjuvante ou na forma agregada. Assim, dificilmente induziriam imunidade nos hospedeiros. Bovinos apresentam fenótipos contrastantes e herdáveis quanto à intensidade de infestações com carrapatos. Carrapatos alimentados em bovinos resistentes não completam a refeição de sangue, apresentando menor eficiência reprodutiva. É possível que esse desfecho seja devido à capacidade do hospedeiro resistente, mas não do suscetível, de produzir anticorpos que neutralizam componentes salivares do carrapato cruciais para realize a hematofagia. É necessário, portanto, examinar essa possibilidade. Os resultados obtidos também podem ajudar a identificar antígenos úteis para formular uma vacina anti-carrapato. Para estabelecer quais componentes salivares são reconhecidos pelos dois fenótipos de hospedeiros empregamos uma soroteca composta por soros obtidos de bovinos resistentes e suscetíveis ao carrapato em diferentes estágios do ciclo do parasito (larva, ninfa e adulto) e após uma, duas ou três ciclos de infestações. Os soros foram empregados individualmente e em forma de *pools* para imunodeteção por *western blot* de proteínas presentes em extrato de larvas não-alimentadas, saliva e glândulas salivares de fêmeas de *R. microplus* e separadas em uma e duas dimensões. Os resultados obtidos nos *western blots* 1D de saliva e de extrato de larvas não alimentadas mostraram que houve um reconhecimento diferencial dos antígenos parasitários pelos soros dos animais resistentes e suscetíveis. Os soros dos animais resistentes quando ainda eram livres de infestações (i.e., *naïve*) ou quando infestados com a forma larval reconheceram com maior frequência e/ou exclusivamente certas bandas de proteínas. Resultados semelhantes foram vistos nos *western blots* de géis 2D de saliva e glândulas salivares de fêmeas, onde os soros dos animais resistentes ainda não infestados (i.e., *naïve*) reconheceram vários *spots* presentes nessas amostras e soros de animais resistentes infestados reconhecerem *spots* de forma exclusiva. Também foi observado que, apesar dos hospedeiros suscetíveis estarem expostos a grande quantidade de saliva, os soros desses animais não reconhecem um número maior de *spots* que os hospedeiros infestados resistentes. Por outro lado, a maioria das proteínas salivares não é reconhecida pelos hospedeiros infestados, sejam resistentes ou suscetíveis. Esses resultados indicam que os hospedeiros bovinos resistentes reconhecem de forma mais precoce que os bovinos suscetíveis certos componentes parasitários. Essa capacidade pode estar relacionada ao fenótipo de resistência ao carrapato.

### **PAPEL DOS RECEPTORES NOD1 E NOD2 NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Trypanosoma cruzi***

**Grace Kelly da Silva**

Orientador: Prof. Dr. Dario Simões Zamboni  
Dissertação de Mestrado apresentada em 15/05/2009

Os Toll like receptors (TLRs) via sua molécula adaptadora MyD88 são essenciais para a resistência contra o *Trypanosoma cruzi* (agente causador da doença de Chagas). Entretanto, uma resposta medida pela produção de IFN- $\gamma$  independente de MyD88 foi detectada em camundongos MyD88 deficientes.

Recentemente foi descrita uma nova família de receptores de reconhecimento de padrões moleculares, chamada de receptores Nod-like (NLRs). Entre os NLRs estão Nod1 e Nod2, os quais sinalizam via a molécula adaptadora Rip2 para induzir a ativação de NF- $\kappa$ B. Dessa maneira o objetivo desse trabalho foi determinar o papel dos receptores Nod1 e Nod2 na resposta imune contra *T. cruzi*. Animais WT ou deficientes para Nod1, Nod2 e Rip2 foram infectados com tripomastigotas da cepa Y para avaliar a importância desses receptores no controle da infecção por *T. cruzi*. Os camundongos Nod1<sup>-/-</sup> apresentaram parasitemia significativamente maior do que animais WT, Nod2<sup>-/-</sup> e Rip2<sup>-/-</sup>. Adicionalmente, 100% dos animais Nod1<sup>-/-</sup> sucumbiram à infecção, enquanto não foi observada mortalidade entre os animais WT e Nod2<sup>-/-</sup>. Os camundongos Rip2<sup>-/-</sup> mostraram parasitemia e mortalidade intermediária quando comparados aos WT e Nod2<sup>-/-</sup>, sugerindo que embora Rip2 participe de uma resposta contra *T. cruzi*, existem vias independentes de Rip2 que operam abaixo de Nod1. A quantificação dos níveis de IFN- $\gamma$  no soro e coração dos animais infectados não sugeriu diferenças significativas na produção dessa citocina. A miocardite chagásica é característica marcante na infecção por *T. cruzi*. Entretanto, os animais Nod1<sup>-/-</sup> mostraram uma reduzida inflamação cardíaca quando comparado aos animais WT. Em contrapartida, estes animais apresentaram quantidades reduzidas de iNOS e grande quantidade de amastigotas nesse tecido. Para avaliar os possíveis mecanismos desencadeados via Nod1 na resposta contra *T. cruzi* foi quantificado a produção de óxido nítrico e a capacidade tripanocida de macrófagos cultivados *in vitro*. Macrófagos derivados da medula óssea de animais Nod1<sup>-/-</sup>, Nod2<sup>-/-</sup> e Rip2<sup>-/-</sup> foram estimulados na presença ou não de IFN- $\gamma$ , e em seguida infectados com *T. cruzi*. Os macrófagos Nod1<sup>-/-</sup> falharam em eliminar o parasitismo intracelular e produziram reduzidas quantidades de óxido nítrico em presença de 10 U/mL de IFN- $\gamma$ . Em contrapartida os macrófagos Nod2<sup>-/-</sup> e Rip2<sup>-/-</sup> eliminaram eficientemente o parasitismo intracelular na presença de 10U/mL de IFN- $\gamma$  e produziram óxido nítrico, ainda que em quantidades menores do que os macrófagos WT. Comparações entre susceptibilidade de animais deficientes em MyD88, iNOS e Nod1 indicam que animais Nod1<sup>-/-</sup> apresentaram parasitemia e mortalidade similares ao grupo MyD88<sup>-/-</sup>. Enquanto animais iNOS<sup>-/-</sup> apresentaram maior parasitemia e mortalidade precoce quando comparado a estes dois grupos de animais, demonstrando que óxido nítrico é fundamental na fase aguda contra *T. cruzi*. Em conjunto, esses resultados sugerem que Nod1 é um receptor fundamental para uma resposta imune inata contra *T. cruzi* *in vivo* e *in vitro*, e de maneira direta ou indireta modula a miocardite e a produção de óxido nítrico.

## **AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE IMUNOMODULADORA DO ANTÍGENO Hsp65 EM CÉLULAS DE INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS E DE PACIENTES COM TUBERCULOSE**

**Priscilla Fanini Wowk**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vânia Luiza Deperon Bonato Martins

Tese de Doutorado apresentada em 10/06/2009

Atualmente, a medida profilática disponível para tuberculose (TB) é a vacina BCG. Entretanto, sua eficácia é extremamente variável, havendo a necessidade de desenvolvimento de novas vacinas para essa doença, responsável por mais de 2 milhões de mortes de indivíduos adultos ao ano no mundo. Nos últimos dez anos, dados coletados pelo Núcleo de Pesquisas em Tuberculose da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto mostraram o efeito profilático e terapêutico da vacina de DNA que codifica a proteína de choque térmico de 65 kDa (Hsp65) de *Mycobacterium leprae* em ensaios pré-clínicos. Para dar continuidade aos estudos para o desenvolvimento de uma vacina contra TB, consideramos essencial estudar a interação do antígeno Hsp65 com células de indivíduos saudáveis ou de pacientes com TB, na tentativa de mimetizar estudo profilático e terapêutico, respectivamente. Nosso objetivo foi avaliar a capacidade desse antígeno em expandir clones de células T e/ou regular positivamente a produção de IFN- $\gamma$ . Inicialmente, mostramos que monócitos e macrófagos alveolares podem representar células apresentadoras de antígenos capazes de ativar linfócitos T, uma vez que capturaram DNA-HSP65 em solução e expressam o RNAm Hsp65 micobacteriana. A estimulação de monócitos com DNA ativou resposta inata (elevada expressão de CD86 e HLA-DR, e indução de TNF- $\alpha$ ). Células mononucleares de sangue periférico (PBMC), provenientes de indivíduos saudáveis, mas não dos pacientes com TB pulmonar ativa, proliferaram e produziram IFN- $\gamma$  em resposta ao antígeno Hsp65. No entanto, não houve aumento na frequência de células CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> produtoras de IFN- $\gamma$ , mas houve aumento significativo na frequência de linfócitos produtores de IL-17. Paralelamente, um aumento na frequência de células produtoras de IL-4 ou IL-10 também foi observado, tanto nas culturas de indivíduos saudáveis quanto dos pacientes. Ao se avaliar a expressão do RNA para a forma antagonista da IL-4, a IL-4 $\delta$ 2, verificou-se que a vacina de DNA, mas não a proteína, induziu a expressão de IL-4 $\delta$ 2, mas não induziu a expressão de Foxp3. Estes dados confirmam o potencial imunestimulador do antígeno Hsp65 em células humanas, e abrem perspectivas para o estudo de formas distintas do antígeno Hsp65 a serem usadas conjuntamente ou ainda com outros antígenos micobacterianos com a finalidade de induzir a produção de IFN- $\gamma$  e a expressão de IL-4 $\delta$ 2, mantendo-se a produção de IL-17. Além disso, os resultados fornecem evidências de que esse antígeno, usado como gene e proteína, possa vir a ser usado para delineamento de ensaio clínico que vise à avaliação de seu potencial profilático para tuberculose.

## Neurologia

### EPILEPSIAS DO LOBO FRONTAL: ASPECTOS CLÍNICOS, NEUROFISIOLÓGICOS, ETIOLOGIAS E RESULTADOS DE TRATAMENTO CIRÚRGICO

**Ana Paula Pinheiro Martins**

Orientador: Prof. Dr. Américo Ceiki Sakamoto

Dissertação de Mestrado apresentada em 12/05/2009

Analisamos retrospectivamente 127 pacientes com epilepsia do lobo frontal de difícil controle no CIREP (USP-Ribeirão Preto) durante 12 anos. Havia 74 (58.3%) homens e 53 (41.7%) mulheres. Os resultados da monitorização por VEEG e das avaliações multidisciplinares foram analisados para todos os pacientes. Houve 66 pacientes (51.97%) cirurgicamente tratados. Resultados cirúrgicos e fatores isolados de risco para o controle das crises pós a cirurgia foram identificados pelo modelo de regressão logística. A idade média dos pacientes era de 20 anos (Desvio Padrão=12.7). Semiologia lateralizatória ocorreu em 70.1% dos casos. Crises focais com sinais motores representaram o tipo semiológico mais comum na casuística (50%), seguidas das tônicas posturais assimétricas (9.1%) e das hiperclônicas (9.1%). EEG ictal foi lateralizatório em 66 (52%) e localizatório em 48 (37.8%) casos. Imagens de ressonância magnética com lesões estruturais foram observadas em 89 (70%) pacientes, sendo concordantes com o EEG ictal em 54% desses casos. No grupo cirurgicamente tratado, 28 (42%) pacientes ficaram livres de crises, num tempo médio de 5,2 anos de seguimento. Os fatores de risco para resultados cirúrgicos insatisfatórios foram maior tempo de epilepsia ( $p=0.03$ ;  $OR=1.08$ ;  $95\%IC=1.01-1.06$ ), presença de ritmo recrutante no EEG ictal ( $p=0.01$ ;  $OR=24.59$ ;  $95\%IC=1.94-312.10$ ), presença de crises no primeiro mês após a cirurgia ( $p<0.001$ );  $OR=17.37$ ;  $95\%IC=3.71-81.22$ ) e presença de distúrbios psiquiátricos ( $p=0.01$ ;  $OR=1.30$ ;  $95\%IC=2.86-50.00$ ). O tratamento cirúrgico é uma importante alternativa terapêutica para pacientes com epilepsia do lobo frontal farmacorresistente. A identificação de fatores de risco isolados é fundamental para o planejamento das melhores estratégias cirúrgicas.

### EXPRESSÃO DOS microRNAs-1, -122A E 206 NO GÂNGLIO DA RAIZ DORSAL E NA COLUNA DORSAL DA MEDULA ESPINAL DE CAMUNDONGOS: UMA ANÁLISE EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE DOR NOCICEPTIVA E CRÔNICA

**Flaviane Núbia Cadetti**

Orientador: Prof. Dr. Guilherme Araujo Lucas

Dissertação de Mestrado apresentada em 20/05/2009

Micro-RNAs (miRNAs) são pequenos RNAs contendo aproximadamente 22 nucleotídeos que representam uma nova classe de RNAs não-codificadores (RNAm) de proteínas que controlam a expressão de diversos genes. Este controle ocorre através da repressão da tradução pela complementariedade parcial entre o miRNA e seu transcrito alvo ou degradação do RNA mensageiro (RNAm) pela complementariedade total entre o miRNA e seu RNAm alvo. No sistema nervoso dos mamíferos a expressão do miRNA ocorre de maneira espaço-temporal, sendo já descritos no córtex, cerebelo e mesencéfalo. No presente estudo investigamos a expressão dos *miR-1*, *-122a* e *-206* no gânglio da raiz dorsal e coluna dorsal da medula espinal de camundongos, onde a informação nociceptiva é inicialmente processada. A expressão de miRNAs maduros foi analisada por RT-PCR (Reação em cadeia da polimerase em tempo real), e as amostras foram normalizadas com o controle endógeno *snoR-202*. A estimulação nociceptiva aguda por capsaicina (2 e 10  $\mu\text{g}/20 \mu\text{L}$ ) demonstrou um aumento significativo do *miR-1* no gânglio da raiz dorsal, mas não na coluna dorsal da medula espinal. O *miR-206* não demonstrou alteração no gânglio da raiz dorsal, mas verificou uma diminuição deste na coluna dorsal da medula espinal no grupo que recebeu a injeção de capsaicina na concentração de 10 $\mu\text{g}/20\mu\text{L}$ . Durante processo inflamatório crônico induzido pela injeção intraplantar de CFA (*Adjuvante Completo de Freund*) ocorreu uma diminuição significativa da expressão do *miR-1* no gânglio da raiz dorsal em todos os tempos investigados. O *miR-206* apresentou uma diminuição significativa no gânglio da raiz dorsal após 12 horas e 1 dia, no terceiro dia a expressão voltou a valores semelhantes ao do grupo controle, mas no sétimo dia voltou a demonstrar uma diminuição da expressão. Já na coluna dorsal da medula espinal a expressão dos *miRs-1* e *-206*, apresentou um aumento significativo a partir do primeiro dia e persistiu até o sétimo dia. No modelo de dor neuropática pela lesão parcial do nervo isquiático observamos uma diminuição da expressão do *miR-1* a partir do terceiro dia no gânglio da raiz dorsal e uma diminuição pontual no 14 dias da lesão parcial na coluna dorsal da medula espinal. O *miR-206* também apresentou uma diminuição da expressão no gânglio da raiz dorsal embora esta tenha ocorrido após o primeiro dia da lesão. Na coluna dorsal da medula espinal não houve mudanças significativas. Após a

axotomia houve um aumento significativo dos *miRs-1* e *-206* no gânglio da raiz dorsal, porém na coluna dorsal da medula espinal houve uma diminuição da expressão do *miR-1* e a expressão do *miR-206* não foi alterada. O *miR-122a* não foi detectado nestes tecidos, mesmo quando os animais foram submetidos aos diferentes modelos de dor. Nossos resultados demonstram, claramente, que os microRNAs-1 e -206 apresentam uma alta especificidade temporal espacial no gânglio da raiz dorsal e na coluna dorsal da medula espinal, nos modelos de dor, tanto aguda, quanto crônica.

## ASPECTOS CLÍNICOS DA DISFUNÇÃO TEMPOROMANDIBULAR E DAS CEFALÉIAS ANTES E PÓS LOBECTOMIA TEMPORAL PRA TRATAMENTO DE EPILEPSIA REFRACTÁRIA

**Renata Campi de Andrade Pizzo**

Orientador: Prof. Dr. José Geraldo Speciali

Tese de Doutorado apresentada em 25/05/2009

As disfunções temporomandibulares (DTM) e as cefaléias são dores orofaciais que apresentam grande prevalência e incidência na população. Estas condições podem ser incapacitantes e representam um problema de saúde contemporâneo. A dor pós-cirúrgica é um importante sinal clínico que tem recebido muita atenção recentemente. Há na literatura uma carência de estudos prospectivos longitudinais que mostram a incidência de cefaléia e de dores orofaciais por DTM após craniotomias. O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de DTM e cefaléia antes e após realização de lobectomia temporal em pacientes com epilepsia do lobo temporal refratária ao tratamento farmacológico. Foram incluídos no estudo 70 pacientes oriundos do Ambulatório de Epilepsia de Difícil Controle (AEDC- HC FMRP/USP) refratários ao tratamento farmacológico e que seriam submetidos a lobectomia temporal no serviço de Neurocirurgia do HCFMRP/USP. Os instrumentos de avaliação usados foram questionários específicos para DTM (RDCITMD - eixo I) e para cefaléia (Questionário HCFMRP/USP), sendo aplicados em três momentos:

A1 (2 a 5 dias antes da cirurgia), A2 (um mês após a alta hospitalar pós-cirúrgica) e A3 (seis meses após a cirurgia). Além dos escores do RDCITMD - eixo I, alguns itens (dor na face, dor mastigatória, hábito parafuncional, padrão de abertura bucal, amplitude dos movimentos mandibulares, palpação dos músculos temporal, masseter, pterigoideos e palpação da região das articulações temporomandibulares) foram analisados individualmente. A análise estatística mostrou diferenças significativas entre as avaliações em todos os parâmetros avaliados. Observou-se um aumento da intensidade dolorosa em toda musculatura palpada e uma diminuição da amplitude dos movimentos mandibulares nas avaliações A2 e A3.

Houve mudança nos padrões de abertura bucal com desvios apontando para o lado operado. As disfunções musculares foram predominantes, 30 (42,9%) com dor miofascial. Observou-se também que nas avaliações A2 e A3 a frequência e intensidade da cefaléia aumentou, bem como uma tendência à lateralização da dor para o lado em que a neurocirurgia foi realizada. Ocorreu uma mudança nos padrões de cefaléia após a cirurgia. Concluímos que ocorreu um aumento da frequência e da intensidade das DTMs e cefaléias em relação temporal com a cirurgia. Tanto as DTMs como as cefaléias surgiram preferentemente do lado em que foi executada a cirurgia. Após a cirurgia, o diagnóstico das DTMs (RDCrTMD) apontou prevalência das disfunções musculares e aumentou a prevalência das cefaléias do tipo migranosa e não classificáveis, segundo a Classificação Internacional das Cefaléias.

## EPIDEMIOLOGIA DAS CEFALÉIAS NAS ALDEIAS DE IMBIRIBA, GUAXUMA E TREVO DO PARQUE, PERTENCENTE À ETNIA PATAXÓ

**Thiago Dias Nascimento**

Orientador: Prof. Dr. José Geraldo Speciali

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/05/2009

Epidemiologia das cefaléias nas aldeias de Imbiriba, Guaxuma e Trevo do Parque, pertencentes à etnia Pataxó. O objetivo desse trabalho foi investigar a prevalência de cefaléia nas aldeias de Imbiriba, Guaxuma e Trevo do Parque, pertencentes à etnia Pataxó, localizadas no sul do estado da Bahia (Brasil) e, comparar com os dados de populações urbanas descritos na literatura. Foi um estudo observacional, descritivo, do tipo transversal, de base populacional, visando-se obter a prevalência ponto, no qual todos os índios adultos (com idades entre 18 e 65 anos completos) das três aldeias foram entrevistados. A seleção da amostra foi baseada na facilidade de acesso e comunicação, recursos financeiros e pela autorização concedida pela FUNAI. A amostra foi então, composta por três aldeias, dentre as 19 existentes em 2006.

A população Pataxó, na época era composta por 8.394 habitantes e 523 índios foram selecionados. Todas elas são semelhantes com relação a sua organização social, político-econômica, administrativa, cultural e religiosa. Diferenciam-se basicamente com relação a sua localização geográfica. Um questionário construído e validado, de acordo com os critérios diagnósticos da Classificação Internacional de Cefaléia, foi utilizado através do método de entrevista direta e pessoal nos 212 índios adultos, sendo 111 do gênero masculino (52.4%) e 101 do feminino (47.6%). Do total dos indivíduos, foram encontrados 97 índios com cefaléia, representando uma prevalência de 45.8%. Destes, 34% correspondendo à taxa geral de Migrânea e 11.8% a taxa geral das Cefaléias do tipo Tensional. Por aldeia foram assim distribuídas as prevalências de cefaléias: Imbiriba 46.9% (30.6% de Migrânea e 16.2% de CTT), Guaxuma 46% (38% de Migrânea e 8% de CTT) e Trevo do Parque 43.1% (37.3% de Migrânea e 5.9% de CTT). Foi possível demonstrar, estatisticamente, maior prevalência de Migrânea no gênero feminino (43.6%) comparado com o masculino (25.2%) numa razão de 2.53:1. A mesma relação é descrita em pesquisa nacional como sendo 2.2:1. Os dados obtidos são semelhantes à literatura nacional com relação à prevalência de CTT, porém mais elevados com relação à prevalência de Migrânea. A prevalência do uso excessivo de medicações sintomáticas para cefaléia é muito maior que a esperada (3 a 9 vezes maior). Em suma, por ser uma pesquisa pioneira e inovadora, apresentou limitações inerentes a sua natureza metodológica, porém apresentou dados inéditos, comparáveis e importantes para o contínuo desenvolvimento do estudo das cefaléias.

### **ESTUDO DO ENVOLVIMENTO DE VIAS COLINÉRGICAS QUE CONECTAM O NÚCLEO PEDÚNCULO PONTINO A NÚCLEOS MONAMINÉRGICOS DO SISTEMA ENDÓGENO DE INIBIÇÃO DE DOR NA ANALGESIA PÓS-ICTAL**

**Rithiele Cristina de Oliveira**

Orientador: Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra

Tese de Doutorado apresentada em 27/05/2009

O pentilenotetrazol (PTZ), um antagonista não-competitivo que bloqueia fluxo de íons cloreto mediado pelo GABA, tem frequentemente sido usado em modelos farmacológicos de crises tônicas e tônico-clônicas. O presente estudo investigou o envolvimento do núcleo tegmentar pedúnculo-pontino (NTPP) e mecanismos colinérgicos na organização da antinocicepção induzida por crises convulsivas evocadas por PTZ (64mg/kg, i.p.). O envolvimento do sistema endógeno de inibição de dor na elaboração da antinocicepção pós-ictal, foi estudada por microinjeções de antagonistas não-seletivos de receptores colinérgicos muscarínicos e nicotínicos no núcleo magno da rafe (NMgR) e no núcleo dorsal da rafe (NDR), estruturas ricas em neurônios serotoninérgicos, assim como no mais importante núcleo noradrenérgico do tronco encefálico, o locus coeruleus (LC). A diminuição da atividade do NTPP, lesado com microinjeção local de ácido ibotênico, causou uma diminuição significativa na antinocicepção pós-ictal. Microinjeções de atropina ou mecamelamina no NMgR, NDR ou LC causou resultados similares. Esses dados sugerem que a antinocicepção pós-ictal depende da integridade do NTPP. Os presentes resultados sugerem, também, que projeções colinérgicas muscarínicas e nicotínicas para neurônios do NMgR, NDR e LC conectados ao NTPP parecem estar envolvidas na rede neural que organiza a antinocicepção pós-ictal.

### **ESTIMULAÇÃO NA CRECHE: EFEITOS SOBRE O DESENVOLVIMENTO E COMPORTAMENTO DA CRIANÇA**

**Patrícia de Souza Almeida**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carolina de Araujo Rodrigues Funayama

Tese de Doutorado apresentada em 29/05/2009

Os primeiros anos da infância são primordiais para que a criança esteja em um ambiente estimulador, prazeroso e lúdico, com oportunidades para desenvolver seus sentidos e habilidades. A criança quando estimulada se torna mais ativa, dinâmica, criativa, emocionalmente equilibrada e saudável, e passa a realizar melhor as atividades propostas, a encontrar soluções e a apresentar uma boa socialização. Os objetivos do presente trabalho foram: verificar, em crianças de creche, o efeito da estimulação ambiental e voltada para as necessidades específicas individuais sobre o desenvolvimento psicomotor e mental, bem como sobre o comportamento, avaliados segundo as Escalas Bayley do Desenvolvimento Infantil - Segunda Edição (1993); comparar os grupos com ganhos e perdas nos índices apurados, de acordo com as variáveis consideradas como fatores de risco ao desenvolvimento; analisar a correlação entre os índices do desenvolvimento e o comportamento. A amostra foi constituída por 50 crianças de ambos os sexos, com faixa etária entre 4 e 42 meses,



que frequentavam duas creches do município de Ribeirão Preto. Foram realizadas entrevistas individuais com os pais ou responsáveis e as crianças foram submetidas à avaliação do desenvolvimento infantil, utilizando-se as Escalas Bayley de Desenvolvimento Infantil, em duas fases: antes (Fase I) e após (Fase II) um período de estimulação do desenvolvimento implementado em uma das creches. Os valores médios do Índice de Desenvolvimento Mental (IDM) e do Índice de Desenvolvimento Psicomotor (IDP), de ambos os grupos - Estimulado (E) e Não Estimulado (NE), encontravam-se na classificação de desenvolvimento normal, nas Fases I e II. Na Fase I, o IDP médio do Grupo NE foi significativamente maior do que o do Grupo E. Houve diferença estatisticamente significativa entre o valor médio de IDP na Fase I e na Fase II do Grupo E ( $I < II$ ). Maior tempo de amamentação e idade da criança apresentaram correlação com aumento dos índices na avaliação do desenvolvimento mental; e carência nutricional com diminuição, no Grupo E. Maior peso ao nascimento e menor idade ao engatinhar apresentaram correlação com aumento dos índices de desenvolvimento psicomotor no Grupo NE. Não foi possível comparações dado o pequeno número com redução no IDP. Com relação à Avaliação do Comportamento (BRS - Behavior Rating Scale), houve diferença significativa entre Fase I e II para o Grupo Estimulado nos Fatores Controle Emocional e Qualidade Motora. Comparando-se os valores de BRS, IDM e IDP, obteve-se que os valores maiores da BRS foram nos grupos com ganhos, principalmente entre os estimulados, embora sem diferença estatisticamente significativa, porém com tendência ( $p=0,06$ ) em IDM. Os dados obtidos sugerem para a amostra estudada que baixa renda familiar, má alimentação materna e uso de tabaco durante a gestação, más condições de alimentação e saúde atual das crianças, problemas de relacionamento pai-criança e entre os pais mostraram-se potenciais fatores de risco ao desenvolvimento. Por outro lado, idade e escolaridade dos pais, melhores condições de saneamento e moradia, pré-natal adequado, parto normal, peso e tamanho adequados ao nascimento, desenvolvimento postural dentro da normalidade, mostraram-se potenciais fatores de proteção ao desenvolvimento. Conclui-se que estimulação ambiental e voltada para as necessidades específicas individuais pode auxiliar o desenvolvimento psicomotor e a qualidade do comportamento.

### **CARACTERIZAÇÃO DOS ASPECTOS NEUROFISIOLÓGICOS DA FADIGA NOS PACIENTES COM A DOENÇA DE Charcot-Marie-Tooth TIPO 1A**

**Patrícia Lagos dos Santos Madureira**

Orientador: Prof. Dr. Wilson Marques Jr.

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/05/2009

A doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT) foi descrita inicialmente por Charcot, Marie e Tooth em meados de 1886. Clinicamente, caracteriza-se por déficit de força progressivo, associada à atrofia muscular, alterações sensitivas, anormalidades ósseas e articulares. A CMT 1A caracteriza-se por ser uma forma desmielinizante da CMT, com redução da velocidade de condução menor que 38 m/s, e duplicação do cromossomo 17p11.2-p12. O sintoma fadiga tem sido relatado frequentemente, e trabalhos têm demonstrado que cerca de 64% apresentam uma redução da força que compromete a qualidade de vida. Bloqueio de condução atividade dependente, associado à fadiga muscular, tem sido documentado em algumas doenças neuromusculares desmielinizantes centrais e periféricas, onde há prejuízo da margem de segurança para a transmissão do impulso. O objetivo deste estudo é avaliar se ocorre bloqueio de condução atividade dependente nos pacientes com CMT 1A associado a sintomas de fadiga. Material e métodos: Foram avaliados 10 pacientes com diagnóstico molecular de CMT 1A com sintomas de fadiga, seguidos no ambulatório de doenças neurogenéticas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, no período de fevereiro de 2006 a dezembro de 2007, e comparados a 10 indivíduos hígidos. Os dois grupos foram submetidos a 80% da contração voluntária máxima (80% CVM) do músculo oponente do polegar da mão dominante, durante 60 segundos, e foram avaliados o estudo da condução motora do nervo mediano e a eletromiografia de superfície. Resultados: Os valores médios da latência e amplitude distal do potencial de ação muscular composto avaliados em repouso, antes de 80% CVM, foram  $8,17 \pm 1,51$  ms e  $6,32 \pm 2,62$  mV, respectivamente; e  $8,38 \pm 1,55$  ms e  $6,21 \pm 2,76$  mV, imediatamente após a contração voluntária máxima (CVM), nos pacientes. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de latência e amplitude distal obtidos antes e após a CVM. Não foi observada queda da amplitude proximal/distal antes e após a CVM, tanto no grupo com CMT 1A quanto no grupo controle. Na avaliação da eletromiografia de superfície, foi documentada a presença de fadiga através da redução das frequências média e mediana, tanto no grupo de pacientes quanto no grupo controle, mas o Root Mean Square manteve-se inalterado. Discussão e Considerações Finais: A documentação de fadiga nos pacientes com CMT 1A tem sido relatada na literatura. Embora não tenha sido documentado bloqueio de condução atividade dependente, houve redução das frequências média e mediana durante 80% CVM nos dois grupos avaliados. O reconhecimento da fadiga nos pacientes com CMT 1A e a identificação da sua fisiopatologia são fatores importantes para o tratamento adequado e melhora da qualidade de vida desses pacientes.

## ESTUDO DO ENVOLVIMENTO DOS RECEPTORES NORADRENÉRGICOS $\alpha_1$ , $\alpha_2$ E $\beta$ DO SISTEMA ENDÓGENO DE INIBIÇÃO DE DOR NAS ALTERAÇÕES DOS LIMIARES NOCICEPTIVOS INDUZIDAS POR CRISES CONVULSIVAS ISOLADAS E DURANTE A FASE SILENCIOSA DO *Status epilepticus* E NO MODELO DE *Kindling*

**Célio Marcos dos Reis Ferreira**

Orientador: Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra

Dissertação de Mestrado apresentada em 01/06/2009

A epilepsia é uma doença comum que afeta grandemente a população, podendo levar a alterações cognitivas, motoras e sensoriais. Os modelos em animais para crises convulsivas e epilepsias têm assumido um papel fundamental na compreensão das vias neuroanatômicas e dos mecanismos neurofarmacológicos envolvidos. A oscilação do limiar nociceptivo pós-ictal tem sido, contudo, muito pouco estudada. Desta forma, o presente trabalho foi realizado, com o intuito de estudar as bases neurofarmacológicas da analgesia pós-ictal em modelos de crises convulsivas agudas induzidas com pentilenotetrazol (PTZ), a 64mg/kg, de abrasamento (*kindling*) com dose sublimiar de PTZ e durante o *status epilepticus* induzido por microinjeção de pilocarpina no hipocampo, avaliando-se a participação da via noradrenérgica e dos receptores  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  e  $\beta$  na organização da analgesia pós-ictal, aferida pelo teste de retirada de cauda.

Após a determinação da linha de base para o teste de retirada de cauda, foi realizado um pré-tratamento por via periférica com salina fisiológica, pentilenotetrazol ou com pilocarpina ou seu veículo por via intra-hipocampal, em grupos independentes de animais. Após o término das crises convulsivas, o limiar nociceptivo pós-convulsões foi cuidadosamente avaliado nos tempos 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 150, 180min. No modelo de crise aguda, a avaliação dos limiares nociceptivos pós-ictais foi feita após a administração periférica do bloqueador ionóforo de canais de cloro ligados ao mediador ácido gama-aminobutírico (AGAB, ou GABA; sigla em inglês), o pentilenotetrazol (a 64mg/kg), por via intraperitoneal (IP). Já em relação ao modelo de *kindling* farmacológico e ao modelo de *status epilepticus*, a caracterização das crises convulsivas e o aferimento do limiar nociceptivo foram realizados imediatamente após as crises e, subsequentemente, no 1<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup>, 12<sup>o</sup> e 15<sup>o</sup> dias após o pré-tratamento com drogas convulsivantes.

Para avaliação da participação dos receptores  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  e  $\beta$  na modulação da analgesia pós-ictal, os animais receberam um pré-tratamento com urapidil, rawolscine, ou propranolol nas doses de 1 ou 3 ou 5mg/kg antes da administração de PTZ (a 64mg/kg, IP). No modelo de *kindling* e no de *status epilepticus*, as drogas descritas acima foram administradas no décimo quinto dia de experimento antes da administração de PTZ (a 25mg/kg, IP). Os limiares nociceptivos dos animais foram avaliados dentro da mesma janela temporal citada acima.

O bloqueio de canais de cloro ligados ao GABA com PTZ a 64 mg/kg por via IP causou crises convulsivas tônicas e tônico-clônicas em todos os animais submetidos ao experimento, o que foi seguido por significativo aumento do limiar nociceptivo, revertido pelo pré-tratamento com os antagonistas de receptores noradrenérgicos. O *kindling* farmacológico também causou o estabelecimento de um progressivo agravamento do comportamento motor, que culminou em crises convulsivas tônico-clônicas, seguidas de elevação dos limiares nociceptivos no sétimo dia depois da administração da dose subconvulsivante de PTZ de 25mg/kg por via IP, tendo havido um progressivo aumento do limiar nociceptivo pós-ictal até o décimo quinto dia após a primeira administração de PTZ, o que também foi antagonizado pelo bloqueio sistêmico de receptores noradrenérgicos, com rawolscine, urapidil e propranolol. O *status epilepticus*, causado por administração intrahipocampal de pilocarpina, também foi seguido de significativa antinocicepção pós-ictal, já no primeiro dia depois da administração da dose subconvulsivante de PTZ de 25mg/kg, IP, tendo havido um progressivo aumento do limiar nociceptivo pós-ictal até o décimo quinto dia após a administração de pilocarpina e de "*kindling*" farmacológico, o que também foi antagonizado pelo bloqueio sistêmico de receptores noradrenérgicos.

Esses achados sugerem o envolvimento e receptores noradrenérgicos alfa e beta na elaboração da antinocicepção que segue crises convulsivas agudas e em modelos experimentais de epilepsia.

## ANÁLISE QUANTITATIVA DA RESPOSTA HEMODINÂMICA DO CÓRTEX AUDITIVO POR MEIO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL SOB DIFERENTES NÍVEIS DE HIPERCAPNIA

**Kelley Cristine Mazzeto Betti**

Orientador: Prof. Dr. Draulio Barros de Araujo

Dissertação de Mestrado apresentada em 10/06/2009

Estudos sugerem que o esgotamento da reserva hemodinâmica, caracterizado pela diminuição da reatividade cerebrovascular e pela pobreza de fluxo colateral, aumenta as chances de eventos isquêmicos peri-operatórios em cirur-

gias de recanalização arterial. A utilização da condição hemodinâmica como critério de eleição dos pacientes a cirurgia seria, portanto, desejável. Uma das formas de avaliação da reatividade cerebrovascular é o estudo do sinal BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*) em condições normais e de estresse hemodinâmico, como é o caso da hipercapnia. O objetivo deste trabalho foi, portanto, quantificar quatro principais parâmetros do sinal BOLD (tempo de início da resposta, largura à meia altura, tempo ao pico e amplitude) induzido por um estímulo auditivo, durante normo- e hipercapnia em voluntários normais. Um segundo objetivo deste trabalho foi verificar sua aplicabilidade em pacientes com estenose ou oclusão da artéria carótida unilateral. Para tanto foram obtidas imagens de Ressonância Magnética funcional (RMf) de 20 voluntários controles e 6 pacientes, submetidos a um estímulo auditivo breve (3s) em três condições: normocapnia,  $\Delta EtCO_2$  de 5mmHg e 10mmHg. As imagens foram processadas e analisadas por um método quantitativo autorregressivo. Foi ainda realizado um exame de angiorressonância para avaliar a circulação colateral via Polígono de Willis (PW). Os principais resultados obtidos foram o aumento ( $p < 0.001$ ) linear ( $r = 0.99$ ,  $p = 0.04$ ) do tempo de início do sinal BOLD assim como uma diminuição ( $p < 0.001$ ) linear ( $r = 0.99$ ,  $p = 0.03$ ) de sua amplitude concomitante ao aumento dos níveis de hipercapnia. A repetição do exame em parte dos voluntários (5) demonstrou a reprodutibilidade do método. Dos pacientes estudados, dois apresentaram um maior atraso do tempo de início da resposta e menor amplitude ipsilateral à estenose. Além disso, apesar de bastante diferentes, os PW de ambos os pacientes apresentaram-se incompletos e possivelmente insuficientes na manutenção do fluxo ipsilateralmente à estenose. De forma geral, a linearidade do tempo de início e da amplitude da resposta em função da hipercapnia, aliada à robustez demonstrada pelo método de análise, faz crer no potencial clínico de sua aplicação para a avaliação da reatividade cerebrovascular em pacientes com doenças cerebrovasculares.

## NEURITE AUTOIMUNE EXPERIMENTAL EM CAMUNDONGO C57BL/6

**Adriana Helena do Nascimento Elias**

Orientador: Prof. Dr. Amilton Antunes Barreira

Dissertação de Mestrado apresentada em 15/06/2009

A Neurite autoimune experimental (NAE), também chamada de neurite alérgica experimental, é uma doença inflamatória, monofásica e desmielinizante que afeta o sistema nervoso periférico, conhecida como modelo experimental da síndrome de Guillain-Barré. Pode ser induzida em animais susceptíveis através da imunização com vários antígenos do nervo periférico associados a adjuvantes. Modelos de NAE em ratos são bastante reprodutíveis e dos pontos de vista clínico, eletrofisiológico e histológico, comprometem os animais com mais intensidade. Entretanto, estudos em camundongos são importantes, em particular no C57Bl/6, uma vez que se trata de uma linhagem *background* para transgênicos e *knockouts*, o que facilita o estudo da patogenia das doenças induzidas experimentalmente. Os objetivos do estudo foram investigar a evolução da NAE em camundongos C57Bl/6, caracterizando seus sinais clínicos e histológicos, comparando as formas de aplicação da toxina pertussis (TP) e as doses do peptídeo utilizadas. Sessenta camundongos C57Bl/6, machos, com idade entre 6 e 8 semanas, pesando de 18 a 20g foram imunizados com o peptídeo neuritogênico P0180-199 da mielina de nervo periférico bovino. Realizada imunização através de 2 injeções subcutâneas nas patas posteriores no dorso (base da cauda), respectivamente nos dias 0 e 7º pósimunização (p.i.), contendo 100µl de emulsão, distribuídos equitativamente nas patas. As injeções de TP foram realizadas nos dias -1 (400ng), 0, 1 e 3 (200ng) p.i. Os animais foram divididos em 5 grupos: 1A - 200µg de P0180-199 + TP i.v. (n=16); 1B - 200µg de P0180-199 + TP i.p. (n=16); 2A - 60µg de P0180-199 + TP i.v. (n=8); 2B - 60µg de P0180-199 + TP i.p. (n=8) e grupo3 - 60µg de P0180-199 + TP i.p. + KM<sup>+</sup> (n=12). Os controles pareados receberam injeções de PBS + Adjuvante de Freund completo. Foram realizadas avaliações clínicas diárias até o 40º dia p.i. Para análise histológica foram retiradas amostras do nervo isquiático e de raízes nervosa de L3-L6. O teste de Kruskal Wallis e o post hoc de Dunn foram utilizados para comparação dos 5 grupos. Resultados: 90 % dos camundongos apresentaram algum sinal clínico-neurológico, 57% evoluíram para queda da cauda; 11% das amostras apresentaram células inflamatórias no endoneuro, epineuro ou perineuro. Dessas 8% epineurais ou perineurais e 5% endoneurais. Comparando as formas de aplicação da TP i.p. à i.v. e as doses de peptídeos utilizadas, doses de 200µg de peptídeos se associaram a sinais clínicos e comprometimento histológico mais evidentes do que nos outros grupos. O modelo da NAE desencadeado nos camundongos C57Bl/6 caracterizou-se por discretos sinais clínicos e pouquíssimas alterações histopatológicas. A correlação entre a evolução clínica da NAE e a presença de alterações histológicas nos nervos periféricos foi observada em número reduzido de animais. Trata-se de um modelo de difícil obtenção associado a discretas alterações. Estudos futuros, utilizando métodos que complementem a investigação como imunohistoquímica e eletro-neurofisiologia seriam importantes para confirmação e melhor descrição do desencadeamento e evolução da doença.

## EPILEPSIA E QUALIDADE DE VIDA NA INFÂNCIA: PERSPECTIVA DAS CRIANÇAS E DE SEUS PAIS

**Sandra Souza Funayama**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Vera Cristina Terra

Dissertação de Mestrado apresentada em 16/06/2009

**Introdução:** A preocupação com o conceito de Qualidade de Vida (QV) dentro das ciências humanas e biológicas refere-se a um movimento no sentido de valorizar parâmetros mais amplos que o simples controle de sintomas, diminuição da mortalidade ou o aumento da expectativa de vida. Na área da saúde, especialmente na medicina, o tema QV se destaca, pois integra mudanças nos critérios utilizados para a avaliação dos resultados médicos, antes centrados apenas na doença e sintomas, passando a focalizar as perspectivas do paciente sobre sua doença e o tratamento adotado, sua percepção da necessidade de cuidados e suas preferências por tratamentos e resultados. No entanto, a avaliação da QV na criança com epilepsia é um tema ainda recente e com limitações quanto ao número de instrumentos disponíveis para esta finalidade. Como a epilepsia é um transtorno que se inicia predominantemente na infância e adolescência, é necessário mudar esta realidade.

**Pacientes/Casuística:** Este trabalho avaliou a qualidade de vida de 85 crianças dos ambulatórios de epilepsia infantil do HCFMRP, no período de junho a dezembro de 2007, tendo como referência a opinião das próprias crianças e a dos pais. Os instrumentos utilizados para avaliação foram: *Autoquestionnaire Enfant Imagé* -AUQUEI (Manificat; Dazord, 1997) e *Qualidade de Vida da Criança com Epilepsia* - QVCE 50 (Maia Filho, 2005).

**Resultados:** Os dados coletados demonstraram que as crianças com epilepsia apresentaram qualidade de vida prejudicada, independentemente de estarem com as crises epilépticas controladas ou não, com respostas piores na questão da autonomia. Por outro lado, na opinião dos pais, as crianças com crises controladas apresentavam melhor qualidade de vida quando comparadas com as crianças com crises não controladas na maioria dos domínios avaliados pelo instrumento, havendo um predomínio de respostas negativas no domínio físico.

**Conclusões:** O uso do AUQUEI, não permitiu verificar presença de diferença estaticamente significativa quando se comparou a QV de crianças com epilepsia ativa ou inativa. Por outro lado, com o questionário QVCE-50 constatamos piores escores em crianças com epilepsia ativa, particularmente no que diz respeito aos efeitos visíveis da epilepsia (domínio físico), sendo que os pais julgaram de forma mais favorável os aspectos psicológicos da epilepsia. A qualidade de vida de crianças pode ser melhor compreendida quando utilizamos um instrumento específico para esta condição de saúde e damos oportunidade para a própria criança fazer esta avaliação e não somente os pais. A divergência entre as respostas das crianças e dos pais reforça a idéia de que é essencial ouvir a criança quando se trata de QV relacionada à epilepsia na infância.

## Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço

### FATORES CONDICIONANTES DA DINÂMICA PALPEBRAL INFERIOR

**João Marcos Camillo Atique**

Orientador: Prof. Dr. Antonio A. Velasco e Cruz

Tese de Doutorado apresentada em 17/04/2009

**Objetivo:** Analisar o efeito do posicionamento ântero-posterior do olho, posição da margem palpebral inferior, ângulo e comprimento da fenda e mobilidade do canto lateral na amplitude do movimento sacádico da pálpebra inferior.

**Métodos:** Foram avaliados 35 sujeitos normais (16 homens, 36 olhos) com idades entre 26 e 83 (média de 45,67) anos. O grau de protrusão ocular foi medido com exoftalmometria de Hertel. As outras variáveis relacionadas à fenda palpebral foram quantificadas a partir de fotografias processadas no programa Image J. A motilidade da pálpebra inferior foi registrada pela medida de movimentos sacádicos palpebrais que acompanhavam 60 graus de rotação ocular. Para esse fim foi utilizado um programa específico que media a posição no tempo e espaço de uma marca azul fixada à margem palpebral inferior.

**Resultados:** Os valores médios ( $\pm$  erro padrão) encontrados na amostra foram: exoftalmometria  $12,8 \pm 0,37$  mm; distância margem inferior centro pupilar (DMIP)  $6,5 \pm 0,15$  mm; ângulo da fenda palpebral  $4,6 \pm 0,49$  graus; largura da fenda

26,3 ± 0.26 mm, amplitude dos movimentos sacádicos 5,4 mm e motilidade do canto lateral 1,95 ± 0.15 mm. Análise multivariada, tendo a amplitude dos movimentos sacádicos como variável dependente, mostrou que a DMIP, o ângulo e a largura da fenda estão associados de maneira inversamente proporcional ao grau de motilidade da pálpebra inferior.

**Conclusões:** Fatores como a DMIP, o ângulo e a largura da fenda estão significativamente implicados na motilidade palpebral inferior. Quanto menor o valor dessas variáveis maior a motilidade da pálpebra inferior.

## **ESTUDO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO DE IMPLANTE ORBITAL CONFECCIONADO COM LATEX NATURAL EM COELHOS (*ORICTOLAGUS CUNICULUS*, LINNAEUS, 1758 )**

**Mariluze Maria dos Santos Sardinha**

Orientador: Prof. Dr. Antonio A. Velasco e Cruz

Tese de Doutorado apresentada em 17/04/2009

A restituição parcial do volume perdido como consequência da remoção do bulbo ocular através da utilização de um implante orbital constituiu-se em importante avanço da reabilitação da cavidade anoftálmica. No presente estudo foi avaliado um novo tipo de implante orbital constituído por latex natural. O material empregado já havia sido utilizado com sucesso em reconstruções do esôfago em cães, esclerotomias em coelhos e em úlceras crônicas de membros inferiores e miringoplastias no homem, mostrando-se biocompatível.

Nesta pesquisa foram empregados 24 coelhos, divididos em grupo 1 (eviscerações) e grupo 2 (enucleações) compostos por 12 animais cada. Avaliou-se quali-quantitativamente, de forma subjetiva, secreção ocular, quemose, hemorragia, deiscência de sutura, exposição e extrusão do implante, diariamente, durante 180 dias. A análise histopatológica foi feita sob microscopia óptica, tendo sido considerados os períodos de 21, 60, 120 e 180 dias de pós-operatório. Não houve sinais de infecção em ambos os grupos. Secreção ocular mucóide e quemose foram observadas nos primeiros dias no GI. No GII os animais apresentaram quemose mais intensa e duradoura. O GII apresentou secreção mucóide que persistiu durante o tempo de permanência do implante na cavidade. Não ocorreu exposição do implante no GI. Houve exposição seguida de extrusão do implante em todos os animais do GII. A avaliação histopatológica foi realizada apenas no GI, devido à inviabilidade do material obtido do GII. A histopatologia do material exenterado da órbita dos animais eviscerados revelou que o material utilizado promove inflamação regular e neoformação de um tecido bastante vascularizado, formando uma cápsula fibrovascular em torno do implante. Nas cirurgias de evisceração o implante teve boa resposta clínica e tecidual levando a crer na possibilidade de uso deste tipo de implante em cirurgias de evisceração. Por este estudo foi afastada a possibilidade de utilização deste implante, sem revestimento, em cirurgias de enucleação.

## **FREQUÊNCIA DE RETINOPATIA DA PREMATURIDADE EM RECÉM-NASCIDOS DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP**

**Rogério Neri Shinsato**

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/05/2009

Foi realizada avaliação prospectiva de 70 recém-nascidos (RN) pré-termos com peso inferior a 1500 gramas nascidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP) e encaminhados ao Ambulatório de Retinopatia da Prematuridade desse mesmo Hospital, no período de fevereiro de 2005 a janeiro de 2006. Foram avaliados entre a quarta e sexta semanas de vida para se verificar a presença de retinopatia da prematuridade (ROP). Os pacientes foram acompanhados de uma a três semanas até completar a vascularização da retina ou, caso ocorresse a ROP eram acompanhados semanalmente. Foi observada incidência de 35,71 % entre os prematuros e de 1,36% entre todos os nascimentos. O estágio III foi o mais frequente entre os pacientes que apresentaram ROP com 15,71% seguido do estágio I com 11,43%, não houve casos nos estágios IV e V. Apenas 10% dos casos necessitaram de tratamento com fotocoagulação ou crioblação de retina. Foram identificados como fatores de risco: peso ao nascimento, idade gestacional, uso de oxigenoterapia por intubação e pressão positiva de vias aéreas (CPAP), uso de diuréticos, múltiplas transfusões sanguíneas e o escore SNAPPE II. Não foi verificada associação de risco com os seguintes fatores: índice de Apgar nos primeiro e quinto minutos, uso de cateter de oxigênio e capela, uso de fototerapia, presença de pneumotórax, de broncodisplasia, hemorragia intracraniana, seps e persistência do canal arterial, uso de surfactantes,

corticosteróides no período antenatal, aminofilina, indometacina e presença de múltiplas gestações Esses dados refletem uma diminuição da incidência de ROP, entretanto, apresentando casos mais graves demonstrados pelo aumento do número de casos em estágio III da doença.

### **AVALIAÇÃO DO EFEITO ANALGÉSICO DO DICLOFENACO POTÁSSICO, EM PACIENTES PORTADORES DE RETINOPATIA DIABÉTICA PROLIFERATIVA, SUBMETIDOS À PANFOTOCOAGULAÇÃO RETINIANA: ESTUDO PILOTO**

**Alexandre de Faria Rodrigues**

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/05/2009

Foi realizada avaliação prospectiva de 30 pacientes do Ambulatório de Oftalmologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), diabéticos, virgens de tratamento, portadores de retinopatia diabética proliferativa bilateral, submetidos à fotocoagulação retiniana na retina nasal de cada olho e, posteriormente, avaliados por meio de questionário utilizando-se a Visual Analogue Scale (VAS) modificada para o estudo para se determinar a ação analgésica do diclofenaco potássico durante a fotocoagulação. Os pacientes foram divididos em três grupos, aos quais, antes da panfotocoagulação de um dos olhos oferecia-se um comprimido de diclofenaco, ou comprimido de placebo ou nenhuma medicação, e posteriormente, na fotocoagulação do outro olho, oferecia-se uma das três opções anteriormente citadas, excetuando-se aquela usada no primeiro olho, sendo eles: Grupo I: Diclofenaco x Placebo, Grupo II: Diclofenaco x Nenhum tratamento e Grupo III: Placebo x Nenhum tratamento. Quando foram avaliados os valores dos resultados das respostas dentro dos grupos, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa nos grupos I e III e no grupo II, tal diferença foi identificada. O presente estudo encontrou dados que serão usados em estudos futuros, como as diferenças de pontuação relacionadas à dor utilizando-se essa nova escala VAS, e mesmo com uma amostra pequena, já foi possível demonstrar o efeito do fármaco em relação à conduta padrão habitual, que é a realização do laser sem analgesia prévia.

### **EFEITO DA PRÓPOLIS VERDE NA INFLAMAÇÃO E REGENERAÇÃO DA CÓRNEA**

**Luiz Fernando Taranta Martin**

Orientador: Prof. Dr. Jayter Silva de Paula

Tese de Doutorado apresentada em 01/06/2009

**Objetivo:** O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de um extrato de própolis verde brasileira nos processos de regeneração e inflamação corneana.

**Métodos:** Em ratos *Wistar* machos foi feita uma lesão corneana central superficial, com diâmetro de 1mm, usando bastões contendo nitrato de prata. A área da lesão foi fotografada nos tempos 0,12, 24, 48 e 120 horas e, com auxílio de um programa de imagem, foi feita a medida da área lesada nos tempos referidos. Os ratos foram divididos em dois grupos, própolis verde (PV) que receberam quatro gotas diárias de colírio contendo microemulsão de própolis verde a 1%, e veículo (VH), que receberam gotas do mesmo colírio, porém sem a própolis. A resposta inflamatória foi medida através da contagem dos neutrófilos presentes em toda a lesão. Dois outros parâmetros foram utilizados para a análise do padrão de migração neutrofílica, a relação entre a contagem de neutrófilos no centro em relação à contagem total (centro/total) e a contagem no centro em relação às das bordas da lesão (centro/bordas), nos tempos 12, 24, 48 e 120 horas. A regeneração também foi medida pela contagem do número de mitoses na camada epitelial basal, através de marcação imunohistoquímica com KI-67.

**Resultados:** Diferenças estatisticamente significativas ( $P < 0,05$ ) foram encontradas nas medidas de áreas dos grupos nos tempos de 12, 24 e 48 horas, com valores menores no grupo PV. Não houve diferenças significativas nos tempos 0 e 120 horas. A contagem neutrofílica total mostrou valores significativamente menores no grupo PV nos tempos de 24 e 48 horas. Não houve diferença significativa nos tempos de 12 e 120 horas. Os parâmetros centro/total e centro/bordas não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos tempos estudados. A contagem das células marcadas pelo KI-67 mostrou diferenças nos tempos 12 e 24 horas, mas não no tempo 48h.

**Conclusões:** O uso tópico da amostra de própolis verde estudada acelerou o processo de re-epitelização corneana após a lesão induzida por álcali. A redução no número total de neutrófilos no grupo PV sugere ação anti-inflamatória do colírio de própolis. O padrão de migração neutrofílica não foi alterado pelo uso do colírio. O número de mitoses na camada corneana epitelial basal é aumentado com a aplicação tópica da própolis verde.

## REGENERAÇÃO DO EPITÉLIO DA CÓRNEA APÓS LESÕES PARCIAIS EM VÁRIAS REGIÕES EM OLHOS DE COELHOS

**Flávia Leão Barbosa**

Orientador: Prof. Dr. Sidney Júlio de Faria e Sousa  
Tese de Doutorado apresentada em 05/06/2009

A fisiologia da renovação do epitélio da córnea constitui área de ativa investigação. A pesquisa foi centrada na regeneração do epitélio da córnea em olhos de coelhos submetidos a tratamentos que a estimulam. Para isto, em um primeiro grupo experimental, a córnea (olho direito) de coelhos albinos (*Oryctolagus cuniculus*) foi demarcada em sua porção central com um trepano de 6 mm e o epitélio periférico em relação a marca foi raspado uma ou mais vezes até o limbo (junção esclerocorneana) utilizando-se uma espátula oftálmica (esclerotomo). Em um segundo grupo, os animais tiveram a córnea demarcada com um trepano de 5 mm e o epitélio central dentro da marca foi raspado uma ou mais vezes. Após os procedimentos cirúrgicos, os animais receberam bilateralmente uma injeção intravítrea de 3H-timidina (3H-TdR) e foram sacrificados em vários intervalos após a injeção (12 horas a 49 dias). Em um terceiro grupo, olhos não estimulados receberam a injeção intravítrea de 3H-TdR e sacrificados 8-24 horas após. As córneas foram processadas para obtenção de cortes histológicos, sendo processadas para autorradiografia. Os resultados da autorradiografia das córneas submetidas a debridamento central demonstraram que o alto índice de marcação foi observado a partir de 2 dias apenas no epitélio neoformado e não na periferia e no limbo. A lesão do epitélio da região central, mesmo em caráter múltiplo, não causou estímulo proliferativo no epitélio de revestimento do limbo ou da periferia da córnea. Nos intervalos mais longos onde se observou persistência da marcação epitelial, até 7 semanas após a lesão, houve expansão centrífuga da região contendo altos índices de marcação, demonstrando-se o papel quase exclusivo do epitélio central na regeneração do epitélio corneano, sem qualquer evidência morfológica ou autorradiográfica da participação do limbo. Em condições fisiológicas, foi observada marcação das células do estrato basal do epitélio do limbo (local das possíveis células tronco) em tempos relativamente curtos (6 horas - 2 dias), após uma única injeção intravítrea de 3H-timidina. Os dados se opõem aos conceitos correntes de que o estrato basal do limbo e a "residência" de células de ciclo lento, assim como de células que retem a marcação nuclear adquirida em ciclo celular anterior, ambas situações consideradas características fundamentais de células tronco. Os resultados demonstraram a capacidade do epitélio da região central na manutenção e regeneração do epitélio da córnea. Assim, as lesões centrais de até 5 mm foram reparadas com a participação exclusiva do epitélio que existia em torno da ferida. A raspagem periférica, por atingir a região do limbo, causou estímulo para a proliferação do seu epitélio, tendo os dados morfológicos indicado a sua contribuição em cerca de 25% para a reepitelização. Os experimentos em que ocorreram múltiplos debridamentos periféricos na mesma córnea também demonstraram que o epitélio central não se esgotou na sua capacidade de proliferação. Os resultados da presente investigação levantam dúvidas sobre a questão da localização de células tronco epiteliais exclusivamente no limbo, conceito altamente difundido na literatura oftalmológica.

## POLIMORFISMO DO GENE *TP53* (CÓDON 72) EM INDIVÍDUOS CAUCASÓIDES PORTADORES DE GLAUCOMA PRIMÁRIO DE ÂNGULO ABERTO

**Márcia Abelin Vargas**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria de Lourdes Veronese Rodrigues  
Tese de Doutorado apresentada em 26/06/2009

Partindo-se do pressuposto de que o gene *TP53* teria um papel importante na apoptose que ocorre na neuropatia óptica glaucomatosa, o polimorfismo do gene *TP53* (códon 72) foi estudado em diferentes populações, com resultados conflitantes. Como esse polimorfismo não foi estudado em pacientes brasileiros com glaucoma primário de ângulo aberto (GPAA), os objetivos do presente estudo foram: determinar a distribuição dos genótipos Pro/Pro, Arg/Arg e Arg/Pro e dos alelos Pro e Arg do gene *TP53* (códon 72) em uma amostra dessa população; e verificar a associação desses genótipos com o GPAA. Participaram do estudo cinquenta e um pacientes com GPAA e setenta e dois indivíduos sadios (grupo controle). O diagnóstico do GPAA foi baseado na gonioscopia, tonometria, oftalmoscopia e perimetria de Goldmann. O DNA foi amplificado através da reação em cadeia catalisada pela polimerase. A região do éxon 4 do gene *TP53* foi amplificada e digerida através da enzima de restrição BseDI. O genótipo Arg/Pro foi o mais frequente nos pacientes brasileiros com GPAA, mas não houve diferença estatística quando feita a comparação com os controles ( $p=0,47$ ). Os resultados não indicam associação de nenhum dos genótipos do polimorfismo do gene *TP53* (códon 72) com o GPAA.

## Ortopedia, Traumatologia e Reabilitação

### EFEITOS COMPORTAMENTAIS E ALTERAÇÕES NEURONIAIS INDUZIDAS PELO TREINO DE MARCHA FORÇADA INTERVALADA EM ESTEIRA, PÓS-ISQUEMIA ENCEFÁLICA BILATERAL EM GERBILOS

**Luana de Castro Marini**

Orientador: Prof. Dr. João Eduardo Araújo

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/05/2009

Relatos na literatura sugerem que a atividade física possa promover recuperação funcional após o AVE. Este trabalho teve como objetivo investigar, em um modelo de lesão encefálica bilateral, o início da atividade motora intervalada 12 e 24 horas após o evento isquêmico, bem como avaliar as repercussões referentes à morte neuronal apoptótica. Foram utilizados roedores da espécie *Meriones unguiculatus* (gerbilo), submetidos à oclusão de ambas as artérias carótidas por 5 minutos. Para a estimulação motora foi utilizada uma esteira para roedores, ajustada a uma velocidade de 10m/min onde os animais permaneceram em treinamento durante 15 minutos, por 3 dias, com intervalo de 24h entre as sessões. A avaliação comportamental foi realizada através de um monitor de atividade, que registrou os comportamentos de cruzamentos, distância percorrida e levantamentos. Para a análise do comportamento motor forçado foi utilizado o teste de Rota Rod. Após os experimentos, os animais foram perfundidos e seus encéfalos removidos, congelados e cortados em um criostato. Foi utilizada a técnica de Hematoxilina e Eosina, para a identificação dos sítios de lesão, e para a identificação de processos apoptóticos uma histoquímica para células TUNEL-positivas. Os dados obtidos foram analisados através de uma análise de variância de uma via (ONE WAY ANOVA), seguida pelo teste de *Holm-Sidak*. Os resultados mostraram não existir diferenças significativas entre os GC, GCE, GS e GSE e revelaram uma diminuição no número de cruzamentos dos GINE, GIE12 e 24h em relação ao GSE e do GINE em relação ao grupo GS ( $F_{4,49}=6,14$ ;  $p \leq 0,007$ ), uma diminuição do número de levantamentos no GINE e GIE24h em relação ao GS e um aumento do GIE12h em relação ao GINE ( $F_{4,49}=2,67$ ;  $p \leq 0,006$ ). Na análise da distância percorrida, foi observada uma diminuição deste comportamento no GINE quando comparado ao GSE e do GINE, GIE12h e 24h comparados ao GS ( $F_{4,49}=5,68$ ;  $p \leq 0,007$ ). Em relação ao comportamento motor forçado, foi encontrado um menor tempo de permanência no Rota Rod no GINE quando comparado ao grupo GS e do GINE, GIE12h e 24h comparado ao GSE ( $F_{4,49}=5,11$ ;  $p \leq 0,007$ ). Na análise histoquímica, encontramos uma marcação para células TUNEL-positivas no GINE nas áreas CA1 do hipocampo, M1 e neo-estriado em relação ao GC. Na análise histológica foi observada uma diminuição da densidade de neurônios na região CA1 do hipocampo, na área M1 e no neo-estriado no GINE, GIE 12h e 24h em relação ao GC ( $F_{3,39}=43,76$ ;  $p \leq 0,025$ ), ( $F_{3,39}=21,89$ ;  $p \leq 0,017$ ) e ( $F_{3,39}=39,05$ ;  $p \leq 0,025$ ), respectivamente. Dessa maneira, este trabalho sugere que a atividade física intervalada não é capaz de melhorar o desempenho motor dos animais submetidos à isquemia encefálica bilateral.

### ALONGAMENTO PASSIVO MANUAL ASSOCIADO À ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA NEUROMUSCULAR NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO PÓS-IMOBILIZAÇÃO. ESTUDO BIOMECÂNICO E HISTOMORFOMÉTRICO EM RATAS

**Leonardo César Carvalho**

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Cláudia Mattiello-Sverzut

Tese de Doutorado apresentada em 18/05/2009

O alongamento e a estimulação elétrica neuromuscular (EENM) são amplamente utilizados na reabilitação, porém as mudanças que essas técnicas propiciam ao músculo esquelético são pouco exploradas cientificamente. Este estudo avaliou as alterações mecânicas, histológicas e histomorfométricas que acometem o músculo gastrocnêmio de ratas wistar, após 14 dias de imobilização e, secundariamente, submetido a alongamento manual passivo, EENM e as técnicas associadas uma ou duas vezes ao dia por 10 dias consecutivos. Foram utilizados 144 animais, sendo 16 para cada grupo caracterizado como: Controle (GC); Imobilizado (GI); Imobilizado e liberado (GIL); Imobilizado e alongado uma vez ao dia (GI1A); Imobilizado e alongado duas vezes ao dia (GI2A); Imobilizado e EENM uma vez ao dia (GI1E); Imobilizado e EENM duas vezes ao dia (GI2E); Imobilizado e EENM seguida por alongamento uma vez ao dia (GI1AE); Imobilizado e EENM seguido por alongamento duas vezes ao dia (GI2AE). O GI teve diminuição nas propriedades mecânicas de carga nos



limites máximo (CLM) e proporcional (CLP), alongamento no limite máximo (ALM), rigidez e resiliência (GI vs GC;  $p < 0,05$ ), reduziu a área de secção transversal (AST) das fibras tipo I (FTI) (49%), IIad (FTIIad) (57%) e IId (FTIId) (60%) e não houve alterações significativas na quantidade de tecido conjuntivo perimisial (TCP). O GI1A recuperou todas as propriedades avaliadas (GI1A vs GC;  $p > 0,05$ ), e restabeleceu a AST das FTIIad e FTIId, associado ao aumento da quantidade de TCP (117%) na porção lateral. O GI2A recuperou apenas as propriedades de rigidez, CLM e CLP (GI2A vs GC;  $p > 0,05$ ), associando reduziu AST de FTIIad (48%) e FTIId (42%), além de aumentar a quantidade de TCP (59% medial e 170% lateral). O GI1E restabeleceu todas as propriedades mecânicas avaliadas (GI1E vs GC;  $p > 0,05$ ), teve a AST recuperada para FTI, FTIIc, FTIIad e FTIId, reduziu a quantidade de TCP (67% medial). O GI2E restabeleceu as propriedades de CLM e CLP (GI2E vs GC;  $p > 0,05$ ), e apresentou o menor valor de resiliência, associadamente recuperou a AST das FTI, FTIIc, FTIIad, FTIId, FTIIdb e FTIIb, na porção lateral e reduziu a área das FTI (39%), FTIIad (45%) e FTIId (41%) na porção medial, com resposta semelhante ao GI1E para a quantidade de TCP. O GI1EA teve as propriedades de CLP, ALP, CLM, rigidez e resiliência restabelecidas (GI1EA vs GC;  $p > 0,05$ ), recuperou a AST da FTIIad e FTIId, em contrapartida reduziu o TCP (70%) para a porção medial e aumentou (20%) para porção lateral do músculo. O GI2EA recuperou apenas as propriedades de CLM e CLP (GI2EA vs GC;  $p > 0,05$ ), reduziu a AST das FTIIad (34%) e FTIId (50%), reduziu o TCP (72%) na porção medial e aumentou (195%) na porção lateral. O GIL restabeleceu todas as propriedades mecânicas (GIL vs GC;  $p > 0,05$ ), apresentou alterações morfológicas como núcleo centralizado, necrose/degeneração, splitting e halo basofílico, reduziu a área de secção das FTIId (31%) para a porção lateral do músculo e não ocorreu aumento significativo na quantidade de tecido conjuntivo. Concluímos que os protocolos de remobilização uma vez ao dia apresentam melhores respostas mecânicas, histológicas e histomorfométricas se comparado aos seus respectivos protocolos executados duas vezes ao dia.

### **CONFIABILIDADE E VALIDADE DE UM DINAMÔMETRO ISOMÉTRICO MODIFICADO, DESENVOLVIDO PARA AVALIAR DÉFICITS NO DESEMPENHO MUSCULAR E SUA CORRELAÇÃO COM TESTES FUNCIONAIS EM PACIENTES SUBMETIDOS À RECONSTRUÇÃO DO LIGAMENTO CRUZADO ANTERIOR E INDIVÍDUOS CONTROLE**

**Rodrigo Antunes de Vasconcelos**

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Débora Bevilaqua-Grossi

Tese de Doutorado apresentada em 02/06/2009

Em estudo de mapeamento funcional dos sítios encefálicas envolvidos com o comportamento predatório em ratos, através de imunodeteção da proteína Fos, Comoli e Canteras (2000) encontraram ativação das porções laterais das camadas intermediárias do Colículo Superior (CSI), não observada em outras situações comportamentais, tais como confronto com um predador natural, nado forçado, choque nas patas, ou após consumo de ração (Comoli e Canteras, 2000; Comoli et al., 2005). Os autores também relataram que a lesão bilateral na região do CSI com ácido N-metil-D-aspartico (NMDA) comprometeu o desempenho do comportamento predatório. Os animais lesados apresentaram movimentos apráxicos da musculatura orofacial e patas dianteiras, e conseqüente dificuldade na captura, imobilização e manuseio das presas. Tais animais se mostraram menos responsivos aos movimentos de deslocamento das presas, estímulo este muito eficiente em eliciar uma resposta de orientação e ataque imediata e muito acurada em ratos normais (Comoli e Canteras, 2000). Estudos com traçadores neuronais e estimulação elétrica sugerem que o CSI origina uma via descendente envolvida com movimentos de orientação e perseguição (Redgrave et al., 1986, Dean et al., 1989). Comoli e Canteras sugeriram que tanto o deslocamento da presa como o contacto das vibrissas são estímulos fundamentais para desencadear a predação, e que esses estímulos podem estar envolvidos com o aumento da marcação de Fos no CSI na predação, uma vez que o CSI recebe aferências sensoriais de estruturas relacionadas á sensibilidade da face e das vibrissas através dos núcleos espinhal (SpV) e principal (PrV) do complexo trigeminal (Comoli e Canteras, 2000; Hemelt e Keller, 2007; Huerta et al., 1983, Killackey Erzurumlu, 1981), Iona Incerta (Ii) (Kolmac et al., 1998; Comoli e Canteras, 2000), núcleo reticular parvicelular (PARN) e ) córtex somatossensorial primário (SSp) (Cohen et al., 2008; Comoli e Canteras, 2000). No intuito de melhor compreender o papel do CSI no comportamento predatório, nós avaliamos a influência das vibrissas na predação no contexto da circuitaria colicular. Para tal, os ratos foram habituados às condições experimentais e então expostos a baratas vivas e íntegras da espécie *Leurolestes circunvagans*. Após a predação, as vibrissas foram removidas e depois de 48 horas os animais foram expostos novamente às presas. Os animais sem vibrissas predaram satisfatoriamente. Entretanto, observamos um menor número de ataques certos sobre as presas. Tal déficit comportamental foi revertido após reconstituição das vibrissas ao tamanho original (30 dias após a remoção). Avaliamos o padrão de marcação de Fos no CSI durante o comportamento predatório, tanto de ratos com vibrissas intactas como daqueles sem vibrissas, e verificamos que houve uma diminuição da marcação de Fos na extremidadelateral da camada branca intermediária, enquanto na extremidade lateral

da camada cinzenta intermediária a marcação se manteve. Em conjunto, os dados anatômicos e comportamentais sugerem que as vibrissas não são fundamentais para desencadear a predação, mas são importantes para uma melhor acuidade de ataques. Sugerimos que a marcação de Fos observada no CSI possa estar mais relacionada aos componentes motores da predação, e que os animais lesados bilateralmente no CSI não predaram eficientemente por terem sofrido principalmente uma perda motora. A morte de células na camada branca do CSI decorrente da lesão poderia estar relacionada com os possíveis déficits de orientação observados nesses animais. Diferentemente, os animais sem vibrissas ficam menos providos de informações sensoriais espaciais que poderiam levar à localização espacial mais precisa das presas e gerar ) ataques mais certos.

## **A INFLUÊNCIA DA DENSIDADE MINERAL ÓSSEA NO EQUILÍBRIO DE MULHERES IDOSAS**

**Deborah Colucci Trevisan**

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Daniela Cristina Carvalho de Abreu  
Dissertação de Mestrado apresentada em 04/06/2009

O processo de envelhecimento traz diversas alterações fisiológicas e na configuração corpórea de idosos, que interferem diretamente no controle postural. A osteoporose, que é uma doença osteometabólica caracterizada pela degeneração da microarquitetura óssea, está entre as principais patologias que acometem os idosos, além de ser responsável pelo aumento da fragilidade óssea e conseqüente aumento no risco de fraturas. Tal patologia também pode ser responsável por alterações na configuração corpórea de pessoas idosas, como por exemplo, o aparecimento da hiper cifose torácica. Baseando-se nesse contexto, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência da densidade mineral óssea no equilíbrio estático e dinâmico de mulheres idosas, e também avaliar a correlação do aumento do grau de cifose torácica com a maior instabilidade postural. O estudo foi composto por um grupo (n=20) de mulheres com DMO normal, com uma média de 65,75 ±4,33 anos, 64,81 ±6,83kg e 1,57 ±0,06m, um grupo (n=20) de mulheres com osteopenia, com uma média de 67,45 ±4,57 anos, 62,63 ±10,21kg e 1,56 ±0,07m, e um grupo (n=20) de mulheres com osteoporose, com uma média de 70 ±5,43 anos, 68,97 ±15,01kg e 1,55 ±0,08m. Foram avaliados o equilíbrio estático (posição vertical imóvel) e dinâmico (teste de sentar e levantar 5 vezes), pelo sistema Polhemus e o grau de cifose torácica, pelo método flexicurva, de todas as mulheres. Para o equilíbrio estático, foram avaliados o deslocamento máximo e velocidade máxima antero-posterior, o deslocamento máximo e a velocidade máxima médio-lateral em 4 situações, na plataforma fixa com os olhos abertos e fechados, e na plataforma instável, com os olhos abertos e fechados. Para o equilíbrio dinâmico foram avaliados os deslocamentos máximos antero-posterior tanto durante a fase de subida, quanto para a descida, e o tempo gasto para realizar o teste. Os resultados mostraram que no equilíbrio estático o grupo com osteoporose apresentou uma maior oscilação de quadril, um maior deslocamento corporal durante a avaliação do equilíbrio dinâmico, maior tempo para realizar o teste, além de uma maior curvatura de cifose torácica. Em algumas situações estáticas as mulheres osteopênicas apresentaram o mesmo padrão que as osteoporóticas. Além disso, as mulheres osteopênicas apresentaram um pior controle postural comparado as mulheres com DMO normal. Esses resultados sugerem que pessoas com osteoporose apresentam um maior comprometimento no controle postural, além da osteoporose ser um fator agravante para a hiper cifose torácica. Entretanto, os resultados mostram que mulheres osteopênicas também apresentam alteração do equilíbrio.

## **Patologia Experimental**

### **ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DAS METALOPROTEINASES 2 E 9 NO DESENVOLVIMENTO DA HIPERPLASIA INTIMAL DECORRENTE DE MODELO EXPERIMENTAL DE ESTENOSE INTRÍNSECA DA AORTA**

**Cristina Tonin Beneli**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Simone Gusmão Ramos  
Tese de Doutorado apresentada em 22/04/2009

As metaloproteínas têm sido implicadas no desenvolvimento de hiperplasias intimais em diferentes situações. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a participação das metaloproteínas 2 e 9 no desenvolvimento da hiperplasia intimal decorrente de modelo experimental de estenose intrínseca da aorta. Este modelo consiste na inserção de um pino acrílico na aorta de ratos. Foram utilizados 288 ratos *Wistar* machos, com peso médio de 250 g, os quais foram separados

em quatro grupos: (1) controle sham-operado, (2) controle sham-operado tratado com doxiciclina, (3) estenosado e (4) estenosado tratado com doxiciclina. Estes animais foram tratados com doxiciclina (inibidor não-seletivo de metaloproteínas) 30 mg/Kg/dia por gavagem e sacrificados nos períodos de 1, 7, e 15 dias após a cirurgia. O segmento da aorta envolvendo o pino foi retirado e estudado com diferentes protocolos para: microscopia óptica de alta resolução e convencional, imunistoquímica, *Western blot* para eNOS e iNOS, zimografia convencional e *in situ*. Um trombo se formou ao redor do pino 24 horas após a cirurgia, mostrando sinais de organização com 7 dias. Com 15 dias, uma hiperplasia intimal adjacente à base do pino foi visualizada. Este espessamento foi caracterizado principalmente por células musculares lisas provenientes da camada muscular média. Apesar das metaloproteínas 2 e 9 estarem inibidas pela doxiciclina (comprovado pela imunistoquímica, zimografia convencional e *in situ*), não observamos alterações importantes na composição e desenvolvimento da hiperplasia intimal decorrente deste modelo experimental de estenose intrínseca da aorta.

### **MARCADORES DE RESPOSTA IMUNOLÓGICA E METÁSTASE ASSOCIADOS AO CARCINOMA INVASOR DO COLO UTERINO E A INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV)**

**Márcia Cristina Guimarães Preti**

Orientador: Prof. Dr. Edson Garcia Soares

Tese de Doutorado apresentada em 08/05/2009

A molécula HLA-G pertence ao gene não clássico de classe Ib do sistema HLA, seu aumento de expressão tem sido relacionado com alguns tipos de câncer e/ou infecções virais. A proteína galectina-3 por possuir a propriedade carboidrato ligante, que constitui a base das interações célula-célula e célula-matriz, também está envolvida na progressão tumoral e metástase. Nesse estudo, foi avaliada a expressão imunistoquímica de HLA-G e galectina-3 em lesões de carcinoma cervical invasor e nos seus linfonodos correspondentes, verificando o envolvimento do HPV na expressão destes marcadores. Para isto foram avaliadas biópsias de lesões cervicais invasoras de 79 pacientes. De acordo com o laudo das biópsias, as pacientes foram divididas em dois grupos: com ausência de metástase (CCIS, n=52) e com presença de metástase linfonodal (CCIC, n=27). Ainda, as biópsias dos linfonodos pélvicos das 79 pacientes foram avaliadas. Para a detecção do DNA do HPV e identificação dos tipos virais foi realizada a técnica de PCR. Os níveis quantitativos de expressão de HLA-G e de galectina-3 foram determinados através do método de imunoperoxidase. Na análise estatística dos resultados foram aplicados os testes de Wilcoxon, Mann-Whitney, Kruskal-Wallis e o Teste Exato de Fisher. Das 79 pacientes, 74 (93,7%) foram positivas para o HPV, 25 (31,6%) expressaram HLA-G e 67 (84,8%) expressaram galectina-3. Apenas o grupo com presença de metástase revelou correlação significativa em relação à expressão de HLA-G entre as lesões do colo e seus linfonodos correspondentes ( $P < 0,0001$ ). Para a galectina-3 essa correlação foi estatisticamente significativa em ambos os grupos, com ausência ( $P < 0,0001$ ) e presença de metástase ( $P < 0,0001$ ). De forma geral, a expressão de HLA-G foi baixa em ambos os grupos avaliados, enquanto que, a expressão de galectina-3 foi elevada no grupo com metástase e parte do grupo sem metástase. Entre os tipos virais avaliados o HPV 18 e a infecção pelos múltiplos tipos virais foram os mais frequentes e não houve associação entre a presença do HPV e a expressão de HLA-G ou galectina-3. Entretanto, para HLA-G foi observada associação significativa entre a baixa expressão desta molécula e o HPV 16 ( $P = 0,0403$ ) e a infecção por múltiplos tipos do vírus ( $P = 0,0114$ ).

### **PARTICIPAÇÃO DO NF-KB E MACRÓFAGOS NA EVOLUÇÃO DA NEFROPATIA IgA PRIMÁRIA**

**Gyl Eanes Barros Silva**

Orientador: Prof. Dr. Roberto Silva Costa

Tese de Doutorado apresentada em 23/06/2009

Muitos estudos demonstraram que a expressão de Fator Nuclear-kappa B (NF-kB) no compartimento tubular, bem como a infiltração de macrófagos, poderiam representar marcadores prognósticos em várias doenças renais. O objetivo do nosso trabalho é analisar o valor prognóstico dos macrófagos e NF-kB na nefropatia da IgA primária (NIGa), além de comparar duas técnicas usadas para averiguar a expressão do NF-kB. Foram colhidos dados em prontuários médicos e relatórios das biópsias de 62 pacientes seguidos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRP-USP) no período de 1987 a 2003. No estudo imunistoquímico foram utilizados o

anticorpo policlonal anti-CD68 e anticorpo monoclonal anti-NF-kB p65 (NF-kB IH). Para a detecção do NF-kB "in situ" foi utilizado o método de Southwestern Histoquímica (NF-kB SW). Esses três marcadores, principalmente o NF-kB SW e macrófagos, estiveram correlacionados positivamente com vários parâmetros clínicos e histológicos, como creatinina, proteinúria, hipertensão, fibrose. Por outro lado, apenas o NF-kB IH, esteve correlacionado positivamente com o infiltrado inflamatório. Nossos dados também mostram que a expressão de NF-kB SW e a infiltração de macrófagos são fatores de mau prognóstico nos pacientes com NIgA. A expressão do NF-kB IH não influenciou na evolução clínica da NIgA. Em conclusão, a expressão de NF-kB SW e macrófagos são marcadores de mau evolução na NIgA, e a expressão do NF-kB SW e NF-kB IH, mostraram-se complementares na avaliação da doença renal na NIgA, provavelmente por detectarem fases diferentes do processo.

### **CARCINOGENESE DE CÓLON E SUA RELAÇÃO COM A MELATONINA EM RATOS SUBMETIDOS A CONDIÇÕES DE LUZ CONSTANTE**

**Vinicius Kannen Cardoso**

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia

Dissertação de Mestrado apresentada em 24/06/2009

Animais sob iluminação de 2.500 lux não apresentam uma significativa redução nos níveis de melatonina, e tem demonstrado significativo aumento nos padrões de carcinogênese colônica. Objetivo: avaliar os padrões carcinogênicos no colon de animais submetidos a condições de luz constante e sob tratamento com melatonina exógena. Materiais e Métodos: os animais foram divididos randomicamente, permanecendo sob luz de 3000lux, recebendo 10mg/kg/dia de melatonina exógena e unica dose de DMH à 125 mg/kg ambas por via intraperitoneal. E sacrificados por decaptação no 14º dias pós-carcinógeno, sendo a melatonina determinada por radioimunoensaio no soro, com análise no cólon em HE de FCAS (focos de criptas aberrantes) e iAEC (Índice Apoptótico do Epitélio Colônico). Por imunohistoquímica foram analisados da iPCNA (índice de proliferação), iCOX-2 (ciclooxigenase-2) e iCPC (Caspase-3). Resultados e Discussão: o grupo sob luz constante apresentou maior nível de melatonina que o controle geral, com um significativo aumento de criptas hiperplásicas e displásicas nos animais sob luz e DMH ( $p < 0,001$ ). Os animais tratados e com DMH apresentaram significativa redução nos níveis de FCAS, aumento em iPCNA e iCPC, com redução em iCOX-2 comparado ao grupo luz e DMH ( $p < 0,001$ ). Esta maior pré-disposição carcinogênica, decorre do maior potencial carcinogênico das criptas displásicas nos animais sob luz constante, confirmando ser a proliferação do epitélio intestinal dependente do ritmo luminoso do dia e da interação entre o relógio circadiano endógeno e vias de controle do ciclo celular. Conclusão: o ambiente de luz constante se apresentou como um agente indutor dos padrões carcinogênicos estudados. Sendo a aplicação de melatonina eficaz para estas alterações.

## **Saúde da Criança e do Adolescente**

### **ESTUDO DOS POLIMORFISMOS GÊNICOS DAS CITOCINAS E DO RECEPTOR FC NA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IMUNE NA INFÂNCIA**

**Daniella Maria de Mendonça Caldas Amorim**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Tone

Dissertação de Mestrado apresentada em 06/05/2009

A Púrpura Trombocitopênica Imune (PTI) é uma desordem hematológica comum na infância, sendo uma das formas mais freqüentes de doença auto-imune em pacientes pediátricos. Tem início súbito com trombocitopenia isolada, com contagem de plaquetas inferior a  $150.000/mm^3$ , com sangramento cutâneo-mucoso. Sabe-se que uma alteração primária ou uma disfunção do sistema imunológico é a base da PTI. No presente estudo, analisamos os polimorfismos gênicos das citocinas IL4-intron3, IL-4 (590), IL-10(627) e dos receptores Fc $\gamma$ IIA e IIIA, sabidamente relacionados à ocorrência da PTI.

A técnica utilizada para o estudo foi a de PCR-RFLP em amostras de DNA extraídas do sangue periférico ou da medula óssea de pacientes com PTI e controles saudáveis. Os genes estudados foram: IL-4 intron 3 VNTR (RP1/RP2), IL-4 (-590 'seta'T), IL-10 (-627C 'seta'A), FcγRIIA (131H/R) e FC γRIIIA (158V/F). Foram analisados 39 casos e 78 controles. Como apenas 6 casos tratavam de PTI aguda, optamos por não utilizar os achados dos casos de PTI aguda na análise estatística e só utilizar os indivíduos do grupo controle que tiveram todos os polimorfismos encontrados, comparando assim, o grupo com PTI crônica (n = 33) versus controle (n = 73). Para isso, utilizamos odds ratio e intervalo de confiança com p calculado por chi-square ou teste exato de Fisher. De todos os polimorfismos estudados apenas o FcγRIIIA mostrou diferença estatística na distribuição do genótipo VV [OR(95%CI) = 3,05 (1,18 - 7,85), P = 0,034] e nas frequências alélicas de F e V (p = 0,0119). A comparação entre PTI aguda e PTI crônica ficou prejudicada devido ao pequeno número de pacientes com PTI aguda (n = 6). Quando comparamos os grupos divididos pelo número de polimorfismos apresentados apenas a variável idade de diagnóstico apresentou diferença estatística significativa (p = 0,037). Não houve diferença estatística entre o gr análise das combinações de alelos de alta afinidade do receptor Fc, porém os indivíduos PTI que possuem esta combinação apresentaram um menor tempo de doença (p = 0,01). A frequência aumentada do alelo V no gene FcγRIIIA é compatível com a literatura, pois este alelo garante um aumento da afinidade do receptor para 3 classes de IgG, aumentando assim a fração de destruição plaquetária, perpetuando a baixa contagem plaquetária característica da doença. A ausência de significância nos outros genes estudados pode estar relacionada ao tamanho da amostra, sendo necessária a análise de um grupo maior de pacientes.

### **QUANTIFICAÇÃO DO DNA DO CITOMEGALOVÍRUS (CMV) E ASSOCIAÇÃO COM ACHADOS NEONATAIS E SURDEZ NEUROSENSORIAL EM CRIANÇAS COM INFECÇÃO CONGÊNITA**

**Patrícia Frizo de Carvalho e Oliveira**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Aparecida Yulie Yamamoto

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/05/2009

O citomegalovírus (CMV) é reconhecido como a principal causa de infecção congênita e de surdez neurossensorial na infância. Os objetivos deste estudo consistiram na verificação da associação entre os níveis da carga viral do CMV na saliva, urina e sangue de recém nascidos infectados congenitamente por este vírus e a presença de infecção sintomática ao nascimento e de surdez neurossensorial. Foram incluídas 109 crianças com infecção congênita pelo CMV identificadas em um programa de triagem neonatal. A infecção congênita pelo CMV foi diagnosticada pela detecção viral na saliva e na urina pela reação de amplificação gênica em cadeia da polimerase (PCR) qualitativa e confirmada pelo isolamento viral em cultura de células nas primeiras duas semanas de vida. A infecção congênita sintomática foi definida com base em achados clínicos e de exames complementares, incluindo tomografia computadorizada de crânio, fundo de olho e avaliação audiológica. A determinação quantitativa de DNA do CMV na saliva, urina e sangue foi realizada utilizando uma PCR em tempo real baseado no corante SYBR Green I. Do total de 109 crianças com infecção congênita pelo CMV, 75 (69%) realizaram todos os exames complementares. Destas, 14 (18,7%) apresentavam alguma anormalidade ao nascimento, sendo que 8 apresentavam sinais clínicos ao nascimento com ou sem surdez neurossensorial, duas tiveram somente achados anormais na tomografia de crânio e 4 crianças sem sintomas clínicos apresentavam surdez neurossensorial. As outras 61 crianças eram assintomáticas ao nascimento com audição normal. A perda auditiva foi definida através do potencial evocado do tronco cerebral (BERA) em 9 (12%) crianças, incluindo 5 com e 4 sem sintomas clínicos ao nascimento. O grupo de crianças com alguma anormalidade ao nascimento apresentou carga viral maior na urina (p<0,01) e no sangue quando comparadas às 61 crianças infectadas (p=0,03). Nenhuma associação foi observada entre a carga do CMV na saliva e a presença de sintomas ao nascimento ou com a surdez neurossensorial (p=0,57). Altas cargas do DNA do CMV na urina e no sangue podem ser consideradas marcadores preditivos para as conseqüências neonatais em crianças com infecção congênita por este vírus.

### **DETECÇÃO DE DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA ATRAVÉS DE TÉCNICA DE PCR EM AMOSTRAS DE LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA**

**Estefânia Rodrigues Biojone**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Alberto Scrideli

Dissertação de Mestrado apresentada em 22/05/2009

**Introdução:** A tendência atual no manejo das neoplasias da infância é identificação de fatores de risco e adequação do tratamento. Entre fatores de mau prognóstico na LLA, destaca-se a infiltração do SNC, definida pela presença de 5 ou

mais |a leucócitos/mm no líquido cefalorraquidiano (LCR), com presença de blastos. Outra característica cujo significado prognóstico tem sido discutido é a ocorrência de acidente de punção lombar (APL), definida pela presença de mais de 10 |a hemácias/mm<sup>3</sup>. A análise morfológica pode ser difícil quando há baixa celularidade e depende da experiência do examinador. Portanto, é de grande importância a realização de pesquisas para definir critérios objetivos de infiltração do SNC e |a estabelecer seu significado prognóstico. Este estudo teve por objetivo avaliar correlação entre positividade de Doença Residual Mínima (DRM) no LCR e APL com as variáveis clínicas, biológicas e taxas de sobrevida livre de evento (SLE) em |a crianças com LLA

**Pacientes e Métodos:** Foram avaliadas amostras de LCR de 76 pacientes entre 0 e 18 anos, com LLA tratados no HCRP-USP, nos quais havia DNA de boa qualidade disponível para a análise. A pesquisa de infiltração de SNC foi realizada |a por análise morfológica convencional e de DRM através de PCR utilizando-se "primers" de consenso para rearranjos de imunoglobulina e de receptor de célula T e análise homo/heteroduplex em gel de poliacrilamida. Foram considerados como positivos |a pacientes que apresentavam o mesmo padrão de migração de banda dos encontrados em amostras de medula óssea (MO) ao diagnóstico para os rearranjos estudados. Foram analisadas amostras de MO e LCR do momento do diagnóstico. Pacientes que |a apresentaram APL foram analisados separadamente. O teste exato de Fisher foi utilizado para avaliar a correlação entre variáveis clínicas e laboratoriais e a presença de DRM no LCR. Curvas de Kaplan Meier do teste log rank útil.

**Resultados:** Dos 76 pacientes avaliados, 32 foram tratados pelo GBTLI-93 e 44 pelo GBTLI-99. Quarenta e três pacientes (56,5%) foram classificados de alto risco e 33 (43,4%) de baixo risco. Infiltração no SNC foi encontrada em 4 |a casos (5,2%). Em 12/44 (27,9%) pacientes tratados pelo GBTLI-99 houve APL. A DRM no LCR do diagnóstico foi positiva 31/64 (48,4%) pacientes que não apresentaram APL. A leucometria do diagnóstico e o grupo de risco apresentaram correlação |a positiva com presença de DRM no LCR ao diagnóstico (p:0.02 e p:0.04 respectivamente). Não houve diferença significativa na SLE dos pacientes com DRM + ao diagnóstico quando comparados com pacientes com DRM negativa no grupo total de pacientes |a (60% versus 73,3%, p:0.20). Entre os pacientes tratados pelo GBTLI 93, a DRM no LCR determinou redução nas taxas de SLE (35,3% versus 73,3%, p:0.03), porém não houve diferença na SLE entre os tratados pelo protocolo GBTLI-99 (73,3% para DRM+ |a versus 92,3% para DRM-, p:0.38) .A SLE dos pacientes nos quais houve APL foi inferior à SLE dos demais pacientes (58,3% versus 82,8%, p:0.04).

**Conclusão:** A detecção de DRM do SNC é evento frequente em crianças com LLA e sua presença ao |a diagnóstico apresentou impacto negativo na evolução dos pacientes tratados pelo protocolo GBTLI-93. A intensificação do tratamento pelo protocolo GBTLI-99, parece ter sido capaz de anular o efeito prognóstico desta variável. A ocorrência de APL |a esteve associada a maior taxa de evento desfavorável em pacientes tratados pelo protocolo GBTLI-99. Análise de um número maior de casos é necessária para a confirmação destes achados.

## EFEITO DO PESO E DO COMPRIMENTO AO NASCER NA ESTATURA DE ESCOLARES E ADULTOS JOVENS

**Ana Claudia Ribeiro**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Heloisa Bettiol

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/05/2009

O crescimento humano é um dos melhores indicadores de saúde da criança e envolve fatores genéticos e ambientais. Crianças que sofreram interferências no crescimento intra-uterino têm maior risco de ficarem baixas na vida adulta. Esta pesquisa objetivou determinar as médias de altura na idade escolar e na idade adulta segundo o peso e comprimento ao nascer, dos participantes da coorte de nascidos vivos de parto único hospitalar em Ribeirão Preto de 1978/1979, com idades entre 23 e 25 anos. Visou ainda avaliar as associações dessas variáveis ao nascer com a altura na idade escolar e na altura final, controladas por características biológicas e sociais nessas idades. Trata-se de estudo de coorte longitudinal e prospectivo. Da amostra de 6827 nascimentos com medidas de peso, comprimento e questionário respondido pela mãe, foram obtidos 1147 indivíduos (561 homens e 586 mulheres) medidos também na idade escolar e adulta. Ao nascer as variáveis estudadas foram peso, comprimento, sexo, escolaridade e tabagismo maternos, ordem de nascimento, idade e situação conjugal maternas, ocupação do chefe da família; na idade escolar as variáveis foram z-escore de altura por idade e tipo de escola; na idade adulta foram cor da pele, escolaridade final e idade da menarca para as mulheres. Calcularam-se as médias e desvios-padrão da altura final segundo as variáveis nos três momentos da vida. As associações entre as variáveis antropométricas do nascimento e as demais variáveis com a altura do escolar e do adulto foram avaliadas por

meio de regressão linear múltipla, em modelos separados para peso e comprimento. Na análise não ajustada, foram associadas à maior altura do escolar nos dois sexos: crianças nascidas com maior peso e comprimento, de mães mais escolarizadas, primogênicas, filhas de trabalhadores não manuais e que estudaram em escolas particulares pagas; tabagismo materno na gestação e mães com menor altura nas meninas. Após ajuste, peso e comprimento, idade materna e ordem de nascimento se mantiveram associados nos dois sexos, e ocupação do chefe entre os meninos e situação conjugal materna entre as meninas. Nos adultos, foram associadas à maior altura nos dois sexos: maior peso e comprimento, mães mais escolarizadas, primogênicos, mães mais idosas, ocupação qualificada do chefe, estudar em escola particular paga, maior altura na idade escolar e maior escolaridade final; menarca tardia foi associada com maior altura nas mulheres. Após o ajuste, permaneceram associados à maior altura nos dois sexos o peso e comprimento ao nascer, a altura do escolar, e a idade da menarca nas mulheres. Conclui-se que o efeito do peso e comprimento ao nascer persistiu na altura dos escolares e dos adultos jovens desta coorte mesmo após ajuste, mas os efeitos das demais variáveis presentes na altura do escolar desapareceram nos modelos da idade adulta após ajuste pelo z-escore de altura do escolar. Esse dado sugere que a altura na idade escolar parece incorporar os efeitos que fatores presentes em fases anteriores da vida têm no perfil do crescimento nesse período inicial, tornando-se importante preditor do crescimento nas fases posteriores.

### **INFECÇÕES DO TRATO RESPIRATÓRIO INFERIOR EM LACTENTES EXPOSTOS E NÃO INFECTADOS PELO HIV**

**Fabrizio Motta**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marisa Márcia Mussi-Pinhata  
Dissertação de Mestrado apresentada em 27/05/2009

Avaliamos o efeito dos níveis de células CD4+ da gestante e dos lactentes com o intuito de entender o impacto da exposição vertical ao HN em crianças não infectadas, com relação ao risco destes apresentarem infecções do trato respiratório inferior (ITRI) durante os primeiros seis meses de vida bem como a frequência e fatores associados à hospitalização. O estudo avaliou uma coorte de crianças nascidas de mães infectadas pelo HIV que foram acompanhadas desde o nascimento até seis meses de idade em centros de pesquisa situados no Brasil e na Argentina (NISDI Perinatal Study). A população de estudo foi composta por crianças não infectadas pelo HIV, a termo, não gemelares, com peso ao nascer '> OU = ' 2500g e sem condições cardiovasculares ou pulmonares graves. Todas as crianças foram avaliadas ao nascer, com seis a doze semanas e seis meses de idade. Diagnósticos de ITRI, hospitalizações e fatores associados foram registrados. Dentre 547 crianças estudadas, 103 (18,8%) apresentaram pelo menos um episódio de ITRI, no total de 116 episódios, observando-se uma taxa de incidência de 0,84 episódios por crianças-semana de observação (IC 95%, 0,7-1,0). A maioria dos episódios (81%) foi devida a bronquiolite. Quarenta e nove (9,0%) crianças foram hospitalizadas pelo menos uma vez com ITRI. Houve 53 (45,7%) episódios de ITRI que necessitaram de hospitalização. Antes de 6-12 semanas de idade, a chance de crianças cujas mães tiveram contagem de células CD4+ < 14% apresentarem ITRI foi 4,4 vezes maior (IC 95% 1,2-16,0). O declínio do CD4+ materno durante a gestação e o peso para a idade ao nascer inferior ao percentil cinco associaram-se com a ocorrência de ITRI em crianças com idade superior a 6-12 semanas. Todas as treze crianças com doença grave foram hospitalizadas. Além disso, a hospitalização foi mais freqüente em crianças morando em domicílios com '> OU = ' 4 pessoas e naquelas com peso para a idade inferior ao (continua) (continuação) percentil 5. Em conclusão, a ocorrência de bronquiolite aguda é comum e freqüentemente grave entre crianças expostas e não infectadas pelo HIV com seis ou menos meses de idade. Menores valores de células CD4+ maternos estão associados com maior risco de ITRI. O melhor entendimento dos mecanismos imunológicos envolvidos na incidência e gravidade das ITRI nesse grupo especial de crianças se faz necessário.

### **EVOLUÇÃO DOS NEONATOS PRÉ-TERMO COM HEMORRAGIA PERI E INTRAVENTRICULAR GRAU IV NASCIDOS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Gustavo Xavier Yamaguti**

Orientador: Prof. Dr. Francisco Eulógio Martinez  
Dissertação de Mestrado apresentada em 02/06/2009

A qualidade do seguimento pré-natal e os cuidados no nascimento e no período neonatal influenciam a mortalidade e a morbidade dos recém-nascidos. O nascimento prematuro é um evento de alto risco. A Hemorragia Periventricular e

Intraventricular (HPIV) é o evento adverso neurológico mais importante do período neonatal. Para avaliar a evolução clínica dos recém-nascidos prematuros com hemorragia grau IV (PAPILE et al., 1978), utilizou-se um estudo retrospectivo tipo caso-controle. Foram identificadas 24 crianças entre 1999 e 2006. Os dados foram analisados nos Programas Microsoft Excel e SPSS 16.0. Os níveis significância foram estabelecidos para  $p < 0,05$ . O projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital. Os pacientes com hemorragia grau IV foram menores de 1.500 gramas em 87,5% e com menos de 32 semanas de idade gestacional em 79,2%. O local de nascimento foi relacionado com maior ocorrência de sangramento. As crianças com HPIV grau IV apresentaram valores do SNAPPE II maiores. O uso de surfactante e a presença de PCA foram mais comuns nesses pacientes. A sepsé neonatal tardia e a ocorrência de crise convulsiva foram mais frequentes entre os casos, assim como alterações nas quatro áreas avaliadas pelo Teste de Denver II. A avaliação da função motora mostrou que 75% dos pacientes avaliados com hemorragia apresentaram tetraplegia. Entre os pacientes com hemorragia grau IV o óbito foi mais frequente naqueles com hemorragia bilateral. Apenas um prematuro com hemorragia grau IV, dos 24 identificados, apresentou Denver II normal mostrando que o prognóstico neste grupo foi muito ruim.

## Saúde Mental

### CRENÇAS E EXPECTATIVAS SOBRE USO DE ÁLCOOL: AVALIAÇÃO DO EFEITO DO TREINAMENTO EM INTERVENÇÕES BREVES

**Jane Moraes Lopes**

Orientador: Prof. Dr. Erikson Felipe Furtado

Dissertação de Mestrado apresentada em 07/04/2009

**Introdução:** As Estratégias de Diagnóstico e Intervenções Breves (EDIB) propostas pela Organização Mundial de Saúde são consideradas efetivas para o diagnóstico e prevenção dos agravos decorrentes do uso do álcool. Atitudes, crenças e expectativas dos profissionais de saúde em relação ao uso de álcool influenciam o efeito destas novas propostas.

**Objetivo:** Este trabalho propõe a avaliação do efeito do treinamento em EDIB sobre as crenças e expectativas a respeito do uso de álcool.

**Métodos:** O estudo é do tipo observacional, transversal, comparativo, sobre uma amostra de 88 profissionais da atenção primária à saúde, provenientes de Ribeirão Preto e região, que concordaram em participar da pesquisa conforme os procedimentos éticos recomendados, treinados pelo Programa de Ações Integradas para Prevenção e Atenção ao Uso de Álcool e Drogas na Comunidade (PAIPAD) no período de 2003 a 2006. Os dados foram coletados através de questionários individuais aplicados antes do treinamento e no período de 4 a 6 meses depois. Os questionários incluíram um formulário sócio-demográfico, o Teste de Conhecimento sobre álcool e Intervenções Breves (IB), o Inventário de Expectativas e Crenças Pessoais acerca do Álcool (IECPA) e um formulário de estimativas sobre o uso do AUDIT ("Alcohol Use Disorder Identification Test") e das IB. A amostra foi caracterizada quanto à prática e preparação profissional na atenção primária, papel, atitudes e crenças dos profissionais em relação aos problemas relacionados ao uso de álcool ou outras drogas pelos seus pacientes.

**Resultados:** No Teste de Conhecimento sobre álcool e Intervenções Breves, a pontuação média foi maior após o treinamento, passando de 4,1 para 5,57 (Wilcoxon Test:  $z = -4,936$ ;  $p \leq 0,001$ ). Os resultados médios do IECPA passaram de 93,45 pontos na fase pré para 78,74 pontos na fase pós-treinamento (Wilcoxon,  $z = -4,138$ ;  $p \leq 0,001$ ). Através do teste de Spearman observou-se tendência à correlação positiva entre a aquisição de conhecimento e as variações no IECPA ( $p = 0,095$ ); o nível de conhecimento pré-treinamento e as estimativas de realização de EDIB ( $p = 0,082$ ); as estimativas de aplicação de AUDITS e o intervalo de tempo ( $p = 0,009$ ). As variações do IECPA se correlacionaram positivamente com as expectativas de aplicação de EDIB (Nonparametric Chi-Square:  $p = 0,053$ ). No Teste de Conhecimento, o nível médio (incompleto e completo) apresentou menor nível de aproveitamento que os outros níveis de escolaridade. As maiores variações no IECPA foram observadas entre os profissionais de nível de escolaridade superior (incompleto e completo). Os profissionais com ocupações de nível superior apresentaram maiores variações positivas quanto ao conhecimento que os de nível técnico, e maior redução na pontuação do IECPA. Conclusões: A estratégia de formação oferecida pelo PAIPAD foi efetiva, promovendo mudanças nas crenças e expectativas da equipe sobre uso de álcool, interferindo positivamente na conduta preventiva dos profissionais treinados junto aos pacientes.



## PERFIL SÓCIO-DEMOGRÁFICO E CLÍNICO DE PACIENTES PSIQUIÁTRICOS TRATADOS EM HOSPITAL DIA

**Simone Andréa Estevam Junqueira**

Orientador: Prof. Dr. José Onildo Betioli Contel

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/04/2009

**Introdução:** A reforma da assistência psiquiátrica no Brasil vem diminuindo progressivamente o número de leitos nos hospitais psiquiátricos convencionais. Ao mesmo tempo vem sendo estruturada uma rede substitutiva de serviços extra-hospitalares, entre os quais se encontra o Hospital Dia do HCFMRP-USP (HD) da DRS-XIII, com sede em Ribeirão Preto - SP. Esse serviço, fonte dos dados do presente trabalho, é menos restritivo que hospitalização integral e mais protetor que tratamentos ambulatoriais. Esse processo, no entanto, apresentou como efeito colateral indesejável o fenômeno denominado "porta giratória", representado pelo aumento importante da taxa de readmissões, que em alguns hospitais passa de 50% dos pacientes admitidos.

**Objetivos:** Procura-se no presente trabalho: caracterizar o perfil sócio-demográfico e clínico da clientela atendida no HD, entre janeiro de 1996 e dezembro de 2005; identificar e descrever características dos pacientes que tiveram internações integrais psiquiátricas anteriores e readmissões ao HD; investigar se ocorre associação entre o tempo de permanência dos pacientes no HD e as variáveis sócio-demográficas e clínicas.

**Metodologia:** Os dados foram coletados no prontuário de cada paciente, por meio de protocolo elaborado especificamente para esta finalidade. Os sujeitos foram 689 pacientes que fizeram 822 internações no HD. As variáveis foram analisadas através do programa SPSS versão 13.0.

**Resultados:** Predominaram pacientes do sexo feminino (58,4%) com idade entre 20 a 39 anos (53,5%), brancos (84,2%), sem vínculo conjugal (59,7%), morando com familiares ou amigos (57,9%), procedentes de Ribeirão Preto e Região (90,2%), escolaridade até primeiro grau (53,6%), inativos profissionalmente (90,5%) e sem renda individual (51,2%). A maioria teve alta por ordem médica (73,3%), encaminhamento na alta para Ambulatórios (86,2%), uma única admissão no HD (84,0%), e tempo médio de permanência de 49 dias. Os diagnósticos mais prevalentes na alta foram: Esquizofrenia (32,8%), Episódio Depressivo (27,0%), Episódio Maníaco/ Transtorno Afetivo (15,1%), Transtorno de Personalidade (14,7%) e Outros/ Transtorno Neurótico (10,4%). Pacientes com internação integral anterior foram responsáveis por 47,0% das admissões. Discussão. Os resultados mostram que o HD trata adultos jovens, atingidos pela doença na plenitude da fase produtiva da vida e com quadros psiquiátricos com predomínio de Esquizofrenia. Existe uma dependência emocional e econômicofinanceira com familiares e com o sistema público regional de dispensa de medicamentos e de transporte. A gravidade dos quadros psiquiátricos, conciliada com a complexidade social da doença mental, repercute negativamente no desenvolvimento do grau de instrução. O tempo médio de permanência está dentro do recomendado pelas normas da Portaria 224. Essa permanência permite uma terapia breve focal na maioria dos pacientes e uma intermediação positiva, retirando pacientes das internações e dirigindo-os para tratamentos ambulatoriais.

**Conclusão:** O HD demonstrou atender pacientes com transtornos mentais graves e persistentes, estar inserido na rede de assistência da DRS-XIII e ser um serviço que desempenha função de ressocialização e reintegração de pacientes psiquiátricos graves na comunidade. O HD trata pacientes oriundos da DRS-XIII com história prévia de internação integral anterior, no entanto, não repete com esses pacientes o fenômeno porta giratória.

## TRANSTORNO DE ANSIEDADE SOCIAL: COMPORTAMENTOS DE SEGURANÇA E EVITAÇÃO

**Kátia Regina Soares da Silva Burato**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sonia Regina Loureiro

Dissertação de Mestrado apresentada em 24/04/2009

O Transtorno de Ansiedade Social (TAS) tem sido considerado um problema de saúde pública, dada a sua alta incidência em pessoas jovens, com curso crônico, associado a comorbidades. Observa-se uma escassez de instrumentos validados que abordem as áreas específicas de dificuldades dos portadores do transtorno, contemplando a identificação dos comportamentos de segurança e de evitação frente às situações sociais. Objetivou-se avaliar a associação do TAS a aspectos cognitivos, relacionados a comportamentos de segurança e evitação frente às situações sociais, por meio da adaptação e validação para o Brasil das escalas de auto-avaliação: Escala de Comportamento de Segurança na Ansiedade Social (ECSAS) e Escala de Ansiedade e Evitação em Situações de Desempenho e Interação Social (EAESDIS). Procedeu-se a avaliação de 155 estudantes universitários procedentes da Universidade de São Paulo - Campus de Ribeirão Preto e

da Universidade de Franca, com idade de 17 a 35 anos, de ambos os sexos, sem história prévia de tratamento, distribuídos em dois grupos: G1- Casos de TAS, com 80 sujeitos e G2- Não Casos, com 75 participantes (sujeitos), sistematicamente avaliados pelo Inventário de Fobia Social (SPIN) e pela Entrevista Clínica Estruturada para o DSM-IV (SCID) como recursos de confirmação diagnóstica do TAS. As avaliações ocorreram em pequenos grupos e os participantes responderam por escrito as escalas de ansiedade. Os dados foram quantificados e tratados por procedimentos estatísticos adotando-se o nível de significância  $p < 0,05$ . A ECSAS apresentou consistência interna medida pelo Alfa de Cronbach de 0,92, e a EAESDIS apresentou um valor de alfa de 0,98. Quanto a fidedignidade avaliada pelo teste e reteste, com um intervalo de duas semanas, com base no *Kappa* ponderado, foram atingidos excelentes níveis de concordância e estabilidade temporal para ambas as escalas (ECSAS = 0,73; EAESDIS = 0,75). A ECSAS, quanto a validade discriminante, avaliada pela curva ROC apresentou indicadores positivos, com valores de sensibilidade de 0,81 e de especificidade de 0,76 para a nota de corte 36, apresentou ainda bons indicadores de validade convergente com o SPIN (0,60), mostrando associação dos padrões de comportamentos de segurança às manifestações sintomáticas do TAS. A EAESDIS apresentou também boa validade discriminante com valores, respectivamente para as subescalas de Ansiedade e de Evitação, com sensibilidade de 0,85 e 0,81 e especificidade de 0,88 e 0,80, para as notas de corte 91 e 79. Conclui-se que as escalas estudadas apresentaram bons indicadores psicométricos, contribuindo para a avaliação sistemática dos padrões de comportamentos de segurança e evitativos associados ao TAS, o que pode contribuir para maior precisão diagnóstica e instrumentar programas de intervenção para portadores de TAS.

## TRADUÇÃO E VALIDAÇÃO DO INSTRUMENTO SHE- SUBJECTIVE HANDICAP OF EPILEPSY PARA A LÍNGUA PORTUGUESA

**Edna de Almeida Monteiro**

Orientador: Prof. Dr. Jaime Eduardo Cecílio Hallak

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/04/2009

O construto Qualidade de Vida (QV) e o impacto da cirurgia de epilepsia é relativamente pouco explorado e merece ser amplamente discutido, principalmente em países em desenvolvimento.

**Objetivo:** Realizar a tradução, adaptação e validação do instrumento *The Subjective Handicap of Epilepsy* para a língua portuguesa e verificar suas propriedades psicométricas como instrumento específico de avaliação da qualidade de vida em indivíduos brasileiros portadores de epilepsia, que se encontram em seguimento clínico e cirúrgico.

**Metodologia:** Foram utilizadas as seguintes técnicas de análise para a validação do SHE: Alfa de Chronbach para avaliar a consistência interna da escala; Coeficiente *Kappa* para avaliar a concordância das respostas do instrumento quando aplicado em três grupos de pacientes; Gráficos de *Bland e Altman* e coeficiente de *Lin* para avaliar a concordância dos domínios; Mapas de Correspondência para verificar o comportamento da escala utilizada; Coeficiente de Correlação de *Spearman* dos escores do SHE e do ESI-55 para avaliar a validade concorrente entre as escalas. Na primeira etapa foram incluídos 206 indivíduos que se encontram em avaliação pré-operatória, 120 indivíduos um ano após a intervenção cirúrgica e 46 com epilepsia controlada (grupo controle). Na segunda etapa foi feita a avaliação de confiabilidade através da comparação teste-reteste, para analisar o grau com que o instrumento pôde reproduzir os resultados em três grupos de pacientes com intervalos diferentes entre a primeira e segunda aplicação. A terceira etapa teve como finalidade verificar a validade concorrente entre os instrumentos SHE e o ESI- 55. Para tanto foi avaliado um grupo de 38 indivíduos durante a internação e aplicado o questionário de qualidade de vida (ESI-55).

**Resultados e Discussão:** A média de idade foi de 36,53 anos ( $\pm 8,49$ ) no Grupo Pré e 36,96 ( $\pm 8,90$ ) no Grupo Pós, diferenciando do Grupo Controle que obteve uma média de idade de 31,00 ( $\pm 11,43$ ). A consistência interna foi alta, indicada pelo Alfa de Chronbach variando entre 0,72 a 0,92. Análise fatorial de quatro fatores sem e com Rotação Varimax permitiu a extração dos seis domínios, que foram concordantes com a versão original do instrumento. De maneira geral pode-se notar que os coeficientes *Kappa* para cada questão apresentam concordâncias predominantemente leves e moderadas no grupo internado e a média dos coeficientes é de 0,31 apresentando assim uma concordância suave, enquanto nos grupos avaliados nos ambulatórios isso não ocorre, mostrando uma associação positiva 0,51 no grupo com intervalo de sete dias e 0,69 no grupo controle com intervalo para o reteste de trinta dias. A média dos coeficientes de *Kappa* substancial encontrada no grupo controle reforça a idéia de que as pessoas com crises epiléticas controladas estão mais adaptadas em todas as esferas da qualidade de vida, sobretudo há uma tendência em se manter estabilidade no cotidiano. Observou-se que as correlações mais expressivas encontradas entre o ESI-55 e o SHE foram Estado Geral de Saúde e Saúde Mental (ESI-55) com todos os domínios do SHE. Nos seis domínios de QV analisados através do SHE, foram verificadas melhoras nos escores no Grupo Pós quando comparados com o Grupo Pré. Esses achados pressupõem que a cirurgia de epilepsia bem sucedida

é uma modalidade terapêutica que contribui para a melhora da qualidade de vida. No grupo Pós as modificações na vida do indivíduo foram grandes e, geralmente, para melhor. Considerações Finais: Por fim pode-se concluir que o SHE é sensível para avaliar qualidade de vida em indivíduos portadores de epilepsia antes e depois do procedimento cirúrgico.

## DETECÇÃO E DIAGNÓSTICO DE TRANSTORNOS MENTAIS PELA EQUIPE DO PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA

**João Mazzoncini de Azevedo Marques**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Waldo Zuardi

Tese de Doutorado apresentada em 04/05/2009

**Objetivos:** Avaliar validade e aplicabilidade do *Mini International Neuropsychiatric Interview* (MINI), utilizado por médicos residentes de família e comunidade atuando em equipes de saúde da família; avaliar validade e aplicabilidade do *Self-Reporting Questionnaire* (SRQ), *WHO Well-Being Index-5 Version 1* (WHO-5) e *Quadros COOP/WONCA*, utilizados por Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e auxiliares de enfermagem para rastreamento de transtornos mentais.

**Metodologia:** O treinamento na aplicação do MINI foi realizado dentro de programa amplo de aprendizado de psiquiatria, ocorrendo inclusive em atividades de consultoria realizadas junto às equipes. O treinamento nos questionários ocorreu inicialmente em encontros de 2 horas de duração com ACS e auxiliares de enfermagem e, posteriormente, quando esses profissionais expressavam dúvidas sobre a aplicação desses instrumentos. Foram comparados os diagnósticos obtidos através do MINI - aplicado por 25 médicos - e os resultados dos questionários - aplicados por 14 ACS e auxiliares de enfermagem - com os diagnósticos obtidos com a aplicação da *Structured Clinical Interview for Diagnosis* (SCID-I) por psiquiatra em 120 pacientes, com idade a partir de quinze anos. Os médicos responderam uma escala sobre a aplicabilidade do MINI e os ACS e auxiliares de enfermagem responderam uma escala sobre a aplicabilidade dos questionários. Os dados foram colhidos entre setembro de 2003 e outubro de 2004.

**Resultados:** Foram analisadas as concordâncias para os seguintes diagnósticos entre o MINI e a SCID-I: qualquer transtorno mental; transtornos depressivos em geral, episódio depressivo maior e distímia; transtornos ansiosos em geral, transtorno de ansiedade generalizada e transtorno do pânico; transtornos por uso de substâncias. Coeficientes *Kappa* variaram entre 0.65 e 0.85; sensibilidades, entre 0.75 e 0.92; especificidades, entre 0.90 e 0.99; valores preditivos positivos (VPP), entre 0.60 e 0.86; valores preditivos negativos (VPN), entre 0.92 e 0.99; acurácias totais entre 0.88 e 0.98. Os médicos consideraram satisfatórias a compreensibilidade e a relevância clínica do MINI; a brevidade de sua aplicação nos pacientes foi considerada satisfatória apenas com a utilização de rastreamento prévio. Os valores de curva ROC para os resultados da aplicação do SRQ, WHO-5 e o Quadro Sentimentos dos Quadros COOP/WONCA foram maiores que 0.80 (respectivamente 0.918, 0.900 e 0.877); suas acurácias totais foram idênticas (85%) e suas sensibilidades, especificidades, VPP e VPN muito semelhantes. Os ACS e auxiliares de enfermagem consideraram satisfatórias a compreensibilidade e relevância clínica dos questionários e consideraram viável aplicação de cada um a cada seis meses em todos os pacientes, embora não tenham considerado viável aplicá-los em todo atendimento realizado para cada paciente.

**Conclusões:** O presente estudo mostrou que o MINI é um instrumento útil, com boas qualidades psicométricas, quando utilizado por médicos que trabalham em APS. Este resultado pressupõe um programa de treinamento com estratégias de aprendizagem diversificadas e realizadas dentro do trabalho cotidiano desses profissionais. O SRQ, o WHO-5 e o item Sentimentos dos Quadros COOP/WONCA apresentaram índices de validade semelhantes e elevados como instrumentos de rastreamento, além de boa aplicabilidade, o que os torna aptos a serem utilizados por auxiliares de enfermagem e ACS em condições semelhantes às do presente estudo.

## TRANSTORNO DE ANSIEDADE SOCIAL E HABILIDADES SOCIAIS: ESTUDO PSICOMÉTRICO E EMPÍRICO

**Antonio Paulo Angélico**

Orientadora: Profª. Drª. Sonia Regina Loureiro

Tese de Doutorado apresentada em 22/05/2009

O Transtorno de Ansiedade Social (TAS) tem sido considerado um grave problema de saúde mental pela sua alta prevalência em pessoas jovens e pelas incapacidades decorrentes no desempenho e interações sociais. É fundamental que se disponha de instrumentos validados e abrangentes que avaliem tanto os recursos e déficits comportamentais

quanto os prejuízos sociais e funcionais destas pessoas. Objetivou-se, neste trabalho, verificar as associações entre as manifestações comportamentais e clínicas do TAS por meio de dois estudos, um psicométrico e outro empírico, visando: (a) aferir as propriedades psicométricas do Inventário de Habilidades Sociais (IHS-Del-Prette), enquanto medida do repertório comportamental de habilidades sociais, em relação à avaliação das manifestações clínicas próprias do TAS, medidas pelo Inventário da Fobia Social (SPIN); e (b) comparar e caracterizar o repertório de habilidades sociais apresentado por universitários brasileiros portadores de TAS e não portadores frente a uma situação experimental estruturada, o Teste de Simulação de Falar em Público (TSFP). Do estudo psicométrico, participaram 1006 universitários, na faixa etária entre 17 e 35 anos, de ambos os gêneros, provindos de duas instituições de ensino superior. Posteriormente, 86 participantes foram randomicamente selecionados desta amostra inicial e agrupados como casos e não-casos de TAS a partir de avaliação clínica sistemática por meio da Entrevista Clínica Estruturada para o DSM-IV. Do delineamento empírico, participaram 26 universitários, sendo 13 com diagnóstico de TAS e 13 não portadores de transtornos psiquiátricos. Quanto aos resultados, o IHS apresentou boa consistência interna para o escore total, reforçando a sua validade de construto. Observou-se boa validade concorrente entre o IHS e o SPIN, com um coeficiente altamente significativo de correlação negativa entre eles, indicando que quanto mais elaborado for o repertório de habilidades sociais de um indivíduo, menor é a sua probabilidade de satisfazer os critérios de rastreamento de indicadores para o TAS. O IHS demonstrou distinguir significativamente indivíduos com e sem TAS, atestando sua validade discriminativa e preditiva para esse diagnóstico, evidenciando-se assim a sua validade clínica e a possibilidade do seu uso em estudos empíricos que testem a eficácia terapêutica de programas de intervenção. No TSFP, os grupos caso e não-caso de TAS não demonstraram diferenças significativas, em termos de frequência, para a maioria dos marcadores comportamentais de ansiedade avaliados. Um número maior de sujeitos do grupo não-caso foi avaliado como apresentando um nível de habilidades sociais apropriadas para falar em público, que variou de moderado a alto, em comparação ao grupo caso. Ao longo do TSFP, a frequência de emissão dos marcadores comportamentais de ansiedade pelos sujeitos de ambos os grupos manteve-se estável. Os grupos diferiram significativamente na maioria dos itens indicativos da habilidade de falar em público do IHS e quanto ao escore geral desta habilidade. A análise dos resultados do estudo empírico aponta para a necessidade de novos estudos com amostras clínicas de indivíduos com TAS dos subtipos generalizado e circunscrito, e não-clínica, com maior número de sujeitos, previamente avaliados quanto ao medo de falar em público, e também para a possibilidade de uso do TSFP em programas de Treinamento em Habilidades Sociais.

### **INFLUÊNCIA DE EXPECTATIVAS E DO GRUPO DE PARES SOBRE O COMPORTAMENTO DO USO DE ÁLCOOL ENTRE ESTUDANTES DA ÁREA DA SAÚDE: UMA PERSPECTIVA DAS DIFERENÇAS DE GÊNERO**

**Alexandre Fachini**

Orientador: Prof. Dr. Erikson Felipe Furtado

Dissertação de Mestrado apresentada em 26/05/2009

Evidências recentes na literatura apontam um elevado consumo de álcool entre estudantes universitários. Expectativas relacionadas aos efeitos do uso de álcool têm sido associadas tanto ao início quanto à manutenção do beber de jovens. De forma análoga, o grupo de pares é um aspecto de destacada relevância sobre o comportamento dos jovens, inclusive no que se refere ao uso de álcool. Por sua vez, tanto expectativas quanto grupo de pares podem modular de forma diferente o comportamento do beber de homens e de mulheres. O objetivo deste estudo foi avaliar diferenças de gênero sobre o uso de álcool, expectativas relacionadas aos efeitos do uso de álcool e o envolvimento com o grupo de pares de risco para o uso de álcool entre estudantes universitários da área da saúde. Participaram 238 estudantes (105 homens) de todos os anos dos cursos de Medicina e Fisioterapia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Estudantes preencheram um questionário estruturado autoaplicável contendo os instrumentos AUDIT (*Alcohol Use Disorders Identification Test*), para avaliar o uso de álcool, AEQA (*Alcohol Expectancy Questionnaire - Adolescent Form*), para avaliar as expectativas dos efeitos do uso de álcool, e DUSI (*Drug Use Screening Inventory*), para avaliar o grupo de pares. A prevalência do uso de álcool no ano foi de 92,1% entre os homens e de 81,2% entre as mulheres ( $X^2=10,87$ ;  $p=0,02$ ). Homens também apresentaram maior prevalência do padrão de uso problemático de álcool ( $X^2=8,19$ ;  $p<0,01$ ) e de *binge drinking* ( $X^2=8,13$ ;  $p<0,01$ ). Expectativas de transformações globais positivas ( $Z=-2,12$ ;  $p=0,03$ ) e de melhora no desempenho sexual ( $Z=-2,76$ ;  $p<0,01$ ) associadas ao consumo de álcool foram mais significativamente relacionadas ao gênero masculino. Entretanto, não houve diferenças de gênero na pontuação média para a escala de relação de pares do instrumento DUSI ( $Z=-1,67$ ;  $p=0,09$ ). Apesar do elevado uso de álcool para ambos os gêneros, homens apresentaram maior prevalência de uso de álcool no ano, uso problemático e *binge*. Grupo de pares parece ser um possível fator de

vulnerabilidade para o uso de álcool, independente do gênero. Entretanto, expectativas se correlacionaram de maneira positiva com o uso de álcool apenas entre os homens. Esses resultados podem indicar que diferenças de gênero podem ter importante papel na elaboração de estratégias de prevenção mais precisas e eficazes sobre o uso de álcool.

## Saúde na Comunidade

### ENVELHECIMENTO E QUALIDADE DE VIDA: SIGNIFICADOS PARA IDOSOS PARTICIPANTES DE GRUPOS DE PROMOÇÃO DE SAÚDE NO CONTEXTO DA ESTRATÉGIA SAÚDE DA FAMÍLIA

**Jennifer Tahan**

Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Antônio Carlos Duarte de Carvalho

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/06/2009

O crescimento progressivo no número de idosos nas últimas décadas, resultado da queda das taxas de fecundidade e mortalidade e do conseqüente aumento da expectativa de vida, fez com que se desenvolvesse o interesse pelo estudo do envelhecimento. Na literatura é destacada a relevância científica e social de se investigar as condições que interferem no bem-estar na senescência e os fatores associados à qualidade de vida de idosos, a fim de criar alternativas de intervenção e propor ações e políticas na área da saúde, buscando atender às demandas da população que envelhece. Importantes avanços no campo da saúde têm sido conquistados no Brasil e a Estratégia Saúde da Família surge como meio possível no processo de reorganização da atenção básica em saúde e com grande potencial para tornar concreta a participação da comunidade e à integralidade das ações. Assim este estudo teve por objetivo analisar as percepções dos idosos em relação à sua qualidade de vida, com vistas à integralidade da assistência, após a adesão a Grupos de Promoção de Saúde em funcionamento no Centro de Saúde Escola da Vila Tibério (Ribeirão Preto-SP). A pesquisa foi feita na abordagem qualitativa e a coleta de dados realizada por meio de entrevista semi-estruturada e da observação participante no período de 22 de julho de 2008 a 04 de dezembro de 2008 em três grupos. A análise foi feita através da análise de conteúdo, usando a técnica de análise temática, sendo identificados seis grandes temas: *Sentimentos em relação a como é ser idoso no Brasil; Satisfação com a Saúde; Significados de qualidade de vida; Satisfação com a vida; Importância das atividades sociais e de lazer para qualidade de vida; Os Grupos de Promoção de Saúde*. A análise dos achados mostra que os idosos entrevistados valorizam sua independência e autonomia na realização de suas atividades e atribuem uma vida saudável a comportamentos adequados em relação aos cuidados com a saúde, alimentação, sono, além de destacarem as atividades de lazer, a participação nos grupos de promoção de saúde e os bons relacionamentos como imprescindíveis para satisfação com a vida, evidenciando que esses idosos ao se envolverem com atividades promotoras de saúde passaram a valorizar e privilegiar fatores positivos acerca de sua saúde. Apontam ainda que as atividades sociais e de lazer, em especial a participação nos grupos de promoção de saúde foram de extrema importância para a qualidade de vida dos idosos e para formação de uma rede social de cuidado que integra a comunidade e os serviços de saúde, já que os idosos passaram a se cuidar mais, se sentirem mais felizes, mais saudáveis e com uma nova rotina de vida após fazerem parte desses grupos. Assim considera-se que este estudo traz questões relevantes acerca do envelhecimento e das novas propostas da saúde para a melhoria da qualidade de vida da população do estudo e da comunidade, necessitando que as falas dos sujeitos sejam consideradas importantes para a criação de novas ações em saúde pautadas nos reais quereres e necessidades do público alvo.