

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

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

MINIEXON E VIRULÊNCIA EM LEISHMANIA

Juliano Simões de Toledo

Orientadora: Profa. Dra. Angela Kaysel Cruz
Tese de Doutorado apresentada em 02/07/2007

O gene miniexon tem um papel muito importante no metabolismo de mRNA dos Cinetoplastídeos. O produto deste gene, o spliced leader RNA (SL RNA), é o substrato comum para a reação de trans-splicing, necessária para o processamento do policistron em mRNAs maduros. Estudos anteriores feitos em camundongos BALB/c mostraram que linhagens de *L. (L.) major*, originalmente virulentas, super-expressando o SL RNA perdiam sua virulência. O clone superexpressor do SL RNA, quando “curado” do cosmídio que alberga exclusivamente o arranjo do miniexon reverteu ao seu fenótipo de virulência original, confirmando a correlação positiva entre a super-expressão do SL RNA com a perda da virulência. Neste trabalho foi demonstrado *in vivo*, utilizando dois modelos de hospedeiros distintos, o camundongo e o hamster, que a indução artificial da super-expressão deste gene diminuiu também o padrão de virulência de linhagens de *L. (V.) braziliensis* originalmente virulentas. Em seu conjunto, nossos resultados permitem especular que o excesso de miniexon é incompatível com a proliferação ou sobrevivência do parasito no hospedeiro vertebrado. Neste trabalho foi realizada a caracterização molecu-

lar do mutante super-expressor de SL RNA com o intuito de conhecer a natureza deste fenômeno biológico. Assim, utilizando a eletroforese bidimensional e o DDRT-PCR foram identificados mRNAs e proteínas diferencialmente expressos na linhagem mutante. Os resultados obtidos foram validados por northern e western-blot. Os mutantes têm alteradas proteínas relacionadas à proteólise, citoesqueleto, resposta ao estresse, controle do ciclo celular e proliferação, geração de energia, fosforilação e algumas de função desconhecida, além de mRNAs relacionados a processos como controle de transcrição e tradução, proteólise e degradação de RNA. Com estes resultados, pode-se especular que a super-expressão do SL RNA está ocasionando drásticas alterações metabólicas no mutante, incluindo modificações no padrão de consumo energético e nas atividades do proteossomo e exossomo. O excesso de miniexon causa uma drástica alteração no túbulo multivesicular (MVT) dos promastigotas mutantes, que é apontado como possível sítio de degradação do excesso de proteínas. Embora o excesso de produtos gênicos no promastigota em cultura axênica seja devidamente controlado pela ativação de sua maquinaria proteolítica, via ubiquitinação e proteossomo, e pela degradação de mRNAs, via exossomo, a oferta exagerada do SL RNA é incompatível com a plena diferenciação ou capacidade de multiplicação do parasita intracelularmente.

**TIPAGEM MOLECULAR DE *Escherichia coli* ENTEROPATOGÊNICA POR
SEQÜENCIAMENTO DE *multilocus***

André Pitondo-Silva

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Brocchi
Tese de Doutorado apresentada em 24/08/2007

Escherichia coli enteropatogênica (EPEC) é a principal bactéria causadora de diarreia infantil e é responsável por alta mortalidade em crianças menores que dois anos de idade nos países em desenvolvimento. As técnicas mole-

culares vêm se tornando ferramentas importantes para a melhor compreensão dos processos infecciosos e epidemiológicos destas bactérias. A recente técnica de tipagem por seqüenciamento por *multilocus* (MLST, do inglês *multilocus sequence typing*), baseada na análise de genes bacterianos de manutenção, tem se mostrado importante na caracterização de espécies bacterianas. Esta técnica tem a vantagem de ser altamente reprodutiva e os resultados

podem ser compartilhados *online*, entre países do mundo todo. MLST tem sido pouco explorada em estudos epidemiológicos e filogenéticos envolvendo linhagens de EPEC, particularmente no Brasil. Havia no banco de dados de MLST de *E. coli* apenas 23 linhagens registradas da América do Sul. Este estudo incluiu outras 30 linhagens de EPEC, previamente analisadas e classificadas por técnicas sorológicas (antígenos O e H) e molecular (PFGE, do inglês *Pulsed-field gel electrophoresis*). Seis novos alelos foram encontrados, os quais determinaram 14 novos “Sequence Types” (STs) em 18 linhagens (60%). Doze linhagens foram associadas com 8 STs já descritos. Assim, as linhagens foram divididas em 12 complexos clonais (CC), sendo o maior deles o CC10, do qual pertencem 3 linhagens do estudo e

outras 9 brasileiras, indicando uma prevalência endêmica destes clones no país. Os genes *housekeeping purA* e *recA* apresentaram menor variação em relação aos demais (*adh*, *fumC*, *gyrB*, *icd* e *mdh*). Dezoito linhagens (60%) do estudo são EPEC atípicas e não foi possível, determinar por MLST, relações genéticas entre as EPEC típicas e atípicas, nem mesmo entre EPEC atípicas com EHEC e EAEC. Assim como PFGE, MLST mostrou ser uma técnica de tipagem com tendência para discriminação de sorotipos de EPEC, porém não eficiente. Este estudo permitiu incluir dados do Brasil, no banco de dados de MLST de *E. coli*, visto que os dados originados destas regiões eram praticamente inexistentes, permitindo, desta maneira, análise das linhagens de *E. coli* isoladas no Brasil, em relação às isoladas no mundo todo.

BIOQUÍMICA

TREALASE CONIDIAL DO FUNGO TERMOFÍLICO *humicola insolens*: PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA

Fabricio Vieira de Moraes

Orientador: Prof. Dr. João Atílio Jorge

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/07/2007

Trealases são enzimas amplamente distribuídas nos organismos e são altamente específicas para trealose, sendo classificadas como ácidas ou neutras de acordo com o seu pH ótimo. Apesar da sua estrita especificidade, estas enzimas apresentam notáveis diferenças na sua localização celular, bem como nas suas propriedades bioquímicas e regulatórias. Em fungos filamentosos mesofílicos, a trealase ácida é uma glicoproteína extracelular que exibe ótima resistência térmica, e sua atividade não é dependente de íons. Em contraste, as trealases neutras são citosólicas, controlam o “pool” intracelular de trealose e são ativadas por íons e fosforilada por PKA. Resultados encontrados em nosso laboratório mostraram que as trealases de fungos termofílicos exibem propriedades mistas de enzimas ácidas e neutras. O objetivo deste estudo foi o de caracterizar as propriedades bioquímicas da trealase conidial do fungo termofílico *Humicola insolens*. As enzimas foram obtidas a partir dos conidióforos após 10 dias de crescimento em meio de cultura sólido (4% de farinha de aveia e 1.8% de ágar) à 40°C. A trealase foi purificada pela seqüência cromatográfica em DEAE-celulose e Phenyl-Sephrose, e a enzima purificada foi analisada em PAGE em condições desnaturantes e não-desnaturante, revelado uma única

banda após tratamento com Coomassie blue ou determinação de atividade em gel, respectivamente. A enzima purificada apresentou atividade específica de 14.7 U/mg e rendimento de 23%. A massa molecular aparente foi estimada em 310 KDa em gel de filtração. Uma única banda protéica correspondente a 84 KDa foi encontrada em SDS-PAGE, onde a trealase conidial do *H. insolens* é aparentemente composta por 4 subunidades idênticas. O conteúdo de carboidratos da enzima foi estimado em 53%. O pH ótimo foi de 4.5 para o componente ácido e 7.0 para o componente neutro, evidenciando as propriedades mistas dessa enzima. O componente ácido foi ativado por cálcio e manganês e inibido por floretina. Já o componente neutro, ativado também por cálcio e manganês, foi inibido por EDTA e ATP. Na presença de 10mM de EDTA a atividade da enzima em pH 7.0 foi completamente inibida, porém não afetou a atividade em pH 4.5. A temperatura ótima enzimática foi de 60°C e estudos de inativação térmica mostraram que o cálcio protege a enzima neutra e o manganês a enzima ácida, aumentando a meia-vida na presença desses íons. Os valores de Km para o componente neutro foi de 1.19 mM e o componente ácido foi de 0.25 mM, respectivamente. Ao todo, estes resultados sugerem fortemente que a trealase conidial de *H. insolens* pode conter dois sítios ativos para hidrólise de trealose e também que este fungo termofílico é um bom produtor de trealase mista. Os dados obtidos demonstram claramente, pela primeira vez a existência de dois sítios para a trealase mista presentes em fungos termofílicos.

EXPRESSÃO DE micro-RNAs EM DIFERENTES FASES DE CRESCIMENTO DO MELANOMA HUMANO

Thaís Amaral e Sousa

Orientador: Prof. Dr. Fernando Luiz De Lucca

Dissertação de Mestrado apresentada em 20/07/2007

MicroRNAs (miRNAs) constituem uma classe de pequenos RNAs (21 a 25 nucleotídeos) não codificadores que controlam a expressão gênica através da repressão da tradução ou degradação do RNA mensageiro (RNAm) alvo. Os miRNAs são transcritos pela RNA polimerase II, sendo que os transcritos primários são clivados no núcleo pela Drosha (uma RNase III). O fragmento resultante (“hairpin”) é então exportado do núcleo para o citoplasma pela exportina 5, onde é clivado por uma outra RNase III (Dicer) produzindo um miRNA maduro. O miRNA maduro é incorporado no RISC (complexo de silenciamento induzido por RNA) e, dependendo do grau de complementaridade entre o miRNA e seu transcrito alvo, poderá levar à degradação do RNAm ou à repressão da tradução. Estudos recentes indicam que muitos miRNAs estão aberrantemente expressos em vários cânceres humanos. Entretanto, não há nenhum relato a respeito da expressão dos miRNAs durante a progressão do tumor. No presente estudo, investigamos a expressão de 21 microRNAs em melanócitos isolados de diferentes estágios (radial, vertical e metastático) da progressão do melanoma humano e em melanócito não transformado. A expressão de miRNAs maduros foi analisada por RT-PCR em tempo real usando oligonucleotídeos em forma de “stem-loop” para as reações de transcrição reversa e oligonucleotídeos e sondas para a reação de amplificação de acordo com TaqMan®

Micro-RNA Assay (Applied Biosystems). O RNA de melanócitos não transformados foi obtido comercialmente e usado como referência. Este foi o primeiro estudo a demonstrar uma expressão aberrante de miRNAs durante a progressão tumoral, sugerindo o envolvimento de miRNAs no desenvolvimento do melanoma humano. Nossos resultados mostraram que *let-7*, *miR-16*, *miR-21*, *miR-29a*, *miR-29b-2*, *miR-146*, *miR-200a*, *miR-200b* e *miR-213* são “super-expressos”, enquanto *miR-34*, *miR-129.1*, *miR-194* e *miR-205* apresentaram expressão reduzida durante todos os estágios da progressão do tumor. Verificamos também que *miR-30a-3p*, *miR-30e*, *miR-96*, *miR-145*, *miR-182*, *miR-199a* e *miR-219* são “super-expressos” somente em um estágio da progressão do tumor. A expressão do *miR-215* não teve alteração significativa durante a progressão do tumor. A associação entre a expressão dos miRNAs e os seus efeitos em RNAm alvos de proto-oncogenes e genes do supressores de tumor ainda não é totalmente compreendida. Sabe-se, entretanto, que o *miR-21* regula negativamente o gene supressor de tumor TPM1 em células de câncer de mama. A compreensão de como a expressão de miRNAs é regulada constitui um dos maiores desafios no campo da pesquisa sobre miRNAs. Neste contexto, este estudo sugere que a expressão de *miR-146* e *let-7a* poderia ser regulada pela ativação NF- κ B através da PKR e que ambos os miRNAs poderiam estar envolvidos no desenvolvimento do melanoma. Entretanto, estudos adicionais são necessários para identificar os RNAm alvos a fim de elucidar a função dos miRNAs na progressão humana do melanoma.

CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL E ESTRUTURAL DE UMA METALOPROTEASE ISOLADA DO VENENO DE *Bothrops jararacussu*

Silvana Marcussi

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Giglio

Tese de Doutorado apresentada em 14/09/2007

As metaloproteases de venenos de serpentes compreendem um grupo de enzimas dependentes de zinco, de massa molecular variável, responsáveis pelo efeito hemorrágico induzido pelo veneno destes animais. Este trabalho teve por objetivo a caracterização bioquímica, funcional e estrutural de uma metaloprotease de baixo peso molecular isolada do veneno de *Bothrops jararacussu*, denominada de BjussuMP-II. Esta enzima foi isolada em duas etapas cromatográficas: uma troca iônica em CM-Sepharose seguida por uma hidrofóbica em Phenyl-Sepharose. O grau de pureza da BjussuMP-II foi verificado por SDS-PAGE e HPLC de fase reversa em coluna C18. A BjussuMP-II apresentou

uma única cadeia polipeptídica com massa molecular relativa de aproximadamente 24.000 na ausência e presença de agentes desnaturantes, mostrando ser monomérica. A atividade proteolítica foi avaliada sobre diferentes substratos (caseína, gelatina, fibrina, colágeno e fibrinogênio) e condições experimentais (variações de concentrações, pHs, temperaturas, tempo de incubação, efeito do EDTA, heparina, diferentes íons divalentes, inibidores sintéticos e naturais). A BjussuMP-II demonstrou ser uma potente α - β -fibrinogenase, dose-dependente, permanecendo estável em diferentes pHs e temperaturas. A atividade fibrinogenolítica foi completamente abolida após incubação prévia com EDTA ou heparina. A proteína não apresentou atividade coagulante e anticoagulante sobre o plasma humano citratado, além de não se mostrar miotóxica e letal em doses de 100 e 300 μ g/animal, respectivamente. A protease não induziu he-

morrágica (doses de 50 a 300µg) nem se mostrou ativa sobre o BAPNA e o TAME (ausência de atividade esterásica e amidolítica), sugerindo tratar-se de uma metaloprotease de baixo peso molecular, não hemorrágica, possivelmente da classe P-IB. A análise histopatológica demonstrou infiltrados leucocitários focais, leve destruição das fibras musculares e leve hemorragia no tecido pulmonar. A BjussuMP-II inibiu totalmente a agregação plaquetária induzida por ADP e colágeno, perdendo a atividade inibitória na presença de EDTA, PMSF e benzamidina. A metaloprotease apresentou efeito bactericida sobre as linhagens de *E. coli* e *S. aureus* e atividade antitumoral sobre quatro linhagens de células testadas (JURKAT, SK-BR-3, EAT e B16F10). A partir do RNA total extraído da glândula de veneno da serpente *Bothrops jararacussu*, obteve-se o cDNA da protease de interesse e este foi clonado em *E. coli* e posteriormente extraído e sequenciado. A sequência completa da BjussuMP-II, obtida por técnicas de biologia molecular, revelou 615pb que codificam para 205 resíduos de aa. A sequência N-terminal dos primeiros 30 resíduos de aminoácidos, diretamente da enzima BjussuMP-II, confirmaram que este cDNA codifica para

a mesma proteína. Através do alinhamento da sequência da BjussuMP-II com outras metaloproteases pode-se observar grande similaridade entre elas, principalmente entre as proteases da classe P-I. A expressão da BjussuMP-II foi obtida com sucesso por clonagem em *E. coli*, e a protease recombinante apresentou a mesma massa molecular da proteína nativa em SDS-PAGE além de demonstrar atividade fibrin(ogen)olítica. A BjussuMP-II mostrou-se imunogênica, sendo capaz de induzir a produção de anticorpos quando injetada em coelhos, e, os anticorpos apresentaram-se imunorreativos com metaloproteases e outras proteínas. A modelagem molecular demonstrou claramente que a molécula apresenta uma forma elipsoidal e dois subdomínios, além de apresentar a conformação da região ligante de íon Zn⁺⁺. Os aspectos abordados neste trabalho poderão trazer informações complementares sobre mecanismos de ação, relacionando estrutura e função, podendo resultar no melhor entendimento dos efeitos induzidos pelas metaloproteases de venenos de serpentes e da participação, direta ou sinérgica, destas proteínas nos envenenamentos causados pela serpente *Bothrops jararacussu*.

AVALIAÇÃO DA TRANSDUÇÃO DE SINAL NO RECEPTOR AT₁ DE ANGIOTENSINA II ATRAVÉS DE MUTAÇÕES SÍTIO-DIRIGIDAS

Rosana Inácio dos Reis

Orientador: Prof. Dr. Claudio Miguel da Costa Neto
Tese de Doutorado apresentada em 21/09/2007

A maioria dos efeitos fisiológicos desencadeados pela Angiotensina II, principal molécula efetora do Sistema Renina-Angiotensina, ocorre através da ativação do receptor AT₁. O receptor AT₁ pertence à família dos receptores acoplados à proteína-G e como tal, os resíduos de aminoácidos envolvidos com a transdução do sinal extracelular para o meio intracelular são aqueles localizados nas regiões transmembranares do receptor.

O objetivo deste trabalho foi analisar o papel de resíduos de prolina localizados nas α-hélices transmembranares do receptor AT₁ na transdução de sinal desencadeada mediante a ligação da Angiotensina II ao receptor. Os resíduos de prolina analisados neste projeto de tese foram: Pro⁸², Pro¹⁶², Pro²⁰⁷ e Pro²⁸⁵, os quais foram alterados através de mutação sítio-dirigida para Ala, gerando os receptores mutantes P82A, P162A, P207A e P285A. Os receptores mutantes foram analisados quanto à capacidade de ligação à Angiotensina II, através de ensaios de “binding” e funcionalmente através dos ensaios de acidificação extracelular, mobilização de cálcio intracelular e ativação da via de MAP quinases (ERK1/2).

Os ensaios de “binding” mostraram que os receptores mutantes não apresentaram alteração significativa quanto à afinidade de ligação à Angiotensina II. Quanto aos

ensaios funcionais, os mutantes P162A e P285A apresentaram um perfil de ativação similar ao receptor selvagem. Por outro lado, nossos resultados mostraram que a transdução de sinal da via clássica, extrapolada aqui para os ensaios de acidificação extracelular e mobilização de cálcio intracelular, foi drasticamente reduzida para o mutante P82A e praticamente nula para o mutante P207A, quando estimulados com a Angiotensina II. Apesar da ausência de resposta do mutante P207A ao estímulo da Angiotensina II nos ensaios de acidificação extracelular e mobilização de cálcio intracelular, constatamos que este receptor mutante poderia apresentar uma possível ativação espontânea, ou seja, independente do estímulo do agonista. Em relação ao ensaio de ativação de ERK, verificamos que ambos mutantes foram capazes de ativar esta proteína em nível semelhante ao do receptor selvagem.

Com base nesses resultados, acreditamos que os resíduos de Pro⁸² e Pro²⁰⁷ estejam diretamente envolvidos no processo de ativação da via clássica desencadeada mediante a ativação do receptor AT₁. Além disso, nossos resultados forneceram mais evidências de que os requerimentos estruturais do receptor AT₁ não são os mesmos quanto às diferentes vias de sinalização desencadeadas por este receptor quando estimulado com a Angiotensina II, evidenciados aqui através da comparação de resultados obtidos nos ensaios funcionais de acidificação extracelular e mobilização de cálcio intracelular com aqueles obtidos na ativação de ERK.

CLÍNICA CIRÚRGICA

EFEITO DE UM PROGRAMA PRÉ-OPERATÓRIO DE REABILITAÇÃO DA MUSCULATURA INSPIRATÓRIA NA EVOLUÇÃO HOSPITALAR DE PACIENTES SUBMETIDOS A OPERAÇÕES CARDÍACAS

Paulo Eduardo Gomes Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Alfredo José Rodrigues

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/07/2007

A disfunção respiratória é uma das complicações mais frequentes após operações cardíacas. Vários fatores contribuem para que as disfunções respiratórias ocorram, dentre eles está a disfunção da musculatura inspiratória que, por sua vez, pode ser multifatorial. Portanto, o condicionamento da musculatura inspiratória no período pré-operatório poderia ajudar a reduzir a incidência de complicações respiratórias no pós-operatório de operações cardíacas. No presente trabalho 30 pacientes voluntários, de ambos os sexos, com idade mínima de 50 anos, e candidatos à operação de revascularização cirúrgica do miocárdio e/ou operação valvar cardíaca no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, foram distribuídos aleatoriamente em 2 grupos. Em um grupo, 15 pacientes foram submetidos a um período mínimo de 2 semanas de treinamento da musculatura inspiratória utilizando um incentivador respiratório marca "Threshold® IMT" (Respironics, Cedar Grove, NJ,

EUA), com carga de 40% da pressão inspiratória máxima (PI Max). Os outros 15 pacientes receberam apenas orientações gerais, sem treinamento objetivo da musculatura respiratória. Comparamos os valores espirométricos antes e após o treinamento dentro de cada grupo. A evolução da PI Max, da pressão expiratória máxima (PE Max) e da gasometria arterial de ambos os grupos, antes e após o treinamento, bem como a sua evolução temporal no pós-operatório. Comparamos também a evolução clínica de ambos os grupos. Observamos que o treinamento causou elevação significativa da capacidade vital forçada (CVF) e da ventilação voluntária máxima (WM), bem como redução da relação entre o volume expiratório forçado no primeiro segundo (VEF1) com a CVF. Todavia, não houve diferença na evolução gasométrica e da PI Max, PE Max, tampouco na evolução clínica entre ambos os grupos. Concluímos que o treinamento da musculatura respiratória inspiratória em regime domiciliar além de factível e seguro, resultou em melhora da capacidade vital forçada e da ventilação voluntária máxima, embora o benefício clínico não tenha sido evidente no grupo de pacientes estudados.

EMPREGO DE UM ANÁLOGO ESTÁVEL DE PROSTAGLANDINA E₁ (ALPROSTADIL) EM MÚSCULO ESQUELÉTICO ISQUÊMICO E REPERFUNDIDO DE RATOS

Luiz Gustavo Madi Antonio

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eli Piccinato

Dissertação de Mestrado apresentada em 20/07/2007

Algumas drogas têm sido empregadas na atenuação dos efeitos da isquemia e reperfusão de músculo esquelético. Um grupo de drogas atualmente estudado é o dos análogos estáveis das prostaglandinas, dentre elas, o alprostadil, um análogo da prostaglandina E₁. O presente trabalho tem o objetivo de testar os efeitos de um análogo estável da prostaglandina E₁ (PGE₁), o alprostadil, na possível atenuação das alterações decorrentes da isquemia e reperfusão em musculatura esquelética de ratos, utilizando como marcadores enzimas musculares: aspartato aminotransferase (AST), dehidrogenase láctica (DHL), creatino

quinase total (CPK); produtos de degradação da membrana celular: maloanildaldeído (MDA) e a reserva energética da fibra muscular, na forma de glicogênio. Neste estudo, utilizaram-se 30 ratos machos da raça Wistar, num modelo de isquemia parcial das extremidades posteriores produzida pelo clampeamento da aorta abdominal infra-renal. Foram estudados três grupos de igual tamanho (n=10), submetidos a 5h de isquemia e 1 h de reperfusão. O grupo controle recebeu infusão de SF 0,9% durante todo o experimento. O segundo grupo, pré-isquemia (GPI), recebeu infusão intravenosa de alprostadil durante todo o experimento, com início da infusão 20 min antes do clampeamento da aorta. O terceiro grupo, pré-reperfusão (GPR) recebeu o alprostadil somente no período de reperfusão, iniciando-se a infusão 10min antes da retirada do clampe. Não houve

diferença nos valores de AST, DHL e CPK e do glicogênio muscular entre os três grupos estudados, mas observou-se elevação significativa do MDA nos grupos pré-isquemia e pré-reperusão, em relação ao controle. Comparando-se os grupos GPI e GPR não houve diferença entre eles.

Assim, em condições de isquemia parcial de músculo esquelético, o alprostadil não reduz a liberação de enzimas musculares, nem o consumo de glicogênio muscular e nem é capaz de atenuar os efeitos das lesões isquêmicas de membrana celular, caracterizados pela peroxidação lipídica.

CIRURGIA CARDÍACA NO PACIENTE SEPTUAGENÁRIO OU MAIS VELHO

Lafaiete Alves Júnior

Orientador: Prof. Dr. Alfredo José Rodrigues

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/07/2007

Introdução: No Brasil é crescente o número de pessoas que atingem 70 anos ou mais de idade. Uma vez que a doença cardiovascular é extremamente prevalente nesta faixa etária, sobretudo a doença arterial coronariana, é também crescente o número de pessoas septuagenárias ou mais velhas que necessitam de operações cardiovasculares. Portanto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de conhecer melhor esse subgrupo de pacientes cardiopatas, determinando fatores de risco de morbidade e mortalidade cirúrgicas, com o intuito de aperfeiçoar o atendimento a essa população de pacientes.

Material e métodos: Foram analisados retrospectivamente os dados demográficos pré-operatórios, cirúrgicos e a evolução hospitalar dos pacientes adultos de ambos os sexos submetidos a operações cardiovasculares no período de janeiro de 2001 a julho de 2006 no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP. Os pacientes foram divididos em dois grupos: grupo denominado "Controle", composto por pacientes com idade inferior a 70 ~ anos de idade (512 pacientes), e grupo denominado "Septuagenário", composto por pacientes com idade igual ou superior a 70 anos (191 pacientes).

Resultados: Dos 191 pacientes no grupo "septuagenário", 113 (59,2%) eram do sexo masculino. A idade média nesse era de $74,30 \pm 3,83$ anos. No grupo controle 287 (55,5%) pacientes eram homens. Foi significativamente maior no grupo septuagenário a proporção de portadores de disfunção renal (14,0% versus 7,6%, $p=0,001$), hipertensão arterial sis-

têmica (75,4% versus 63,2%, $p=0,002$), doença pulmonar obstrutiva crônica (9,9% versus 4,5%, $p=0,006$), comunicação inter-ventricular pós-infarto agudo do miocárdio (2,1% versus 0%, $p=0,005$), de angina instável (17,3% versus 5,4%, $p < 0,001$); no grupo controle predominou os pacientes submetidos à operação cardíaca prévia (15,3% versus 9,4%, $p=0,049$). Em ambos os grupos a revascularização do miocárdio foi a operação mais realizada, seguido pela correção das valvopatias. Com relação à evolução pós-operatória, constatamos que 42,4 % dos pacientes do grupo septuagenário tiveram ao menos um evento adverso no pós-operatório, versus 23,6 % no grupo controle ($p < 0,001$). Predominaram entre os septuagenários ou mais velhos o sangramento pós-operatório, as complicações pulmonares, a mediastinite, a disfunção renal e as complicações neurológicas. A mortalidade hospitalar geral foi significativamente maior no grupo septuagenário de 26,2% ($p=0,001$), contra 9,8% no grupo controle. Todavia, a mortalidade variou dependendo do tipo de operação e a condição na qual a operação foi realizada (eletiva ou não eletiva), sendo semelhante entre os grupos para as revascularizações isoladas eletivas.

Conclusões: O grupo septuagenário apresenta comorbidades perioperatórias com impacto potencialmente negativo na evolução perioperatória com frequência significativamente maior que a população de faixa etária menor. 2) O grupo septuagenário apresenta fatores de risco para morte pós-operatória hospitalar que, com exceção da idade, são semelhantes àqueles observados para a população geral. 3) A morbidade e mortalidade hospitalares pós-operatórias são mais elevadas no grupo septuagenário não em decorrência da idade per se, mas pela maior prevalência de comorbidades.

ESTUDO MORFOMÉTRICO DO CORAÇÃO DE RATOS ALBINOS WISTAR NORMAIS

Camila Albuquerque Melo de Carvalho

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Thomazzini

Dissertação de Mestrado apresentada em 13/09/2007

O uso de animais em pesquisa científica não é recente. O rato é um animal utilizado em experimentos desde antes de Cristo e, no século XIX, com a intensificação das

pesquisas científicas, o uso desta espécie aumentou consideravelmente. Em 1909 obteve-se a primeira linhagem albina e a partir de então, estes são os animais mais utilizados em pesquisas no mundo todo. Embora este fato ocorra, há uma literatura relativa ao coração dos ratos pouco detalhada e pouco descritiva. Praticamente não existe nada descrito sobre a morfometria do coração nestes animais. O objetivo deste trabalho é o estudo morfométrico macros-

cópico de diversos parâmetros ainda não descritos do coração de ratos albinos-Wistar normais em diferentes fases de sua vida e em ambos os sexos, para que os dados encontrados possam ser úteis e dar suporte anatômico em pesquisas que utilizem este roedor em modelos experimentais que necessitem de conhecimentos mais profundos e detalhados da anatomia cardíaca destes animais. Foram utilizados 36 animais divididos em três grupos com doze animais cada, sendo 6 machos e 6 fêmeas. Os grupos foram divididos por peso corporal dos animais em Grupo I: 150-249g; Grupo II: 250-350g e Grupo III: acima de 351g. Estes animais foram pesados e em seguida sofreram eutanásia para retirada dos corações. Estes foram minuciosamente dissecados e, seus vasos da base foram seccionados sempre nos mesmos pontos. Os corações foram pesados e mensurados a distância do sulco atrioventricular ao ápice do coração e o perímetro do sulco atrioventricular. A seguir, foram seccionados através de um corte frontal e sua porção anterior emblocada em parafina para a confecção de lâminas histológicas que foram submetidas a um sistema semiautomático de análises de imagens, onde foram realizadas as medidas: perímetro, diâmetros máximo e mínimo do coração, espessura da parede não septal dos ventrículos direito e esquerdo, perímetro, diâmetros máximo e mínimo das cavidades ventriculares, espessura da parede não septal dos átrios direito e esquerdo, espessura do septo interventricular e espessura do septo interatrial. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente através de um modelo de variância (ANOVA), utilizando-se o procedimento PROC GLM do software SAS ver-

são 9. A análise e a discussão dos resultados obtidos, permitiu alcançar as seguintes principais conclusões: A razão percentual dos pesos dos corações dissecados em relação aos pesos dos animais vivos mostra que estes órgãos representam aproximadamente entre 0,5 e 0,7 % do peso total dos animais àqueles com peso corporal até 650g. A partir deste peso, esta relação diminui, se estabiliza e tende a ser decrescente ao longo do envelhecimento. Os dados sugerem a existência de dimorfismo sexual, onde os corações das fêmeas são mais leves mais curtos, mais estreitos e menores que os dos animais machos. A medida das distâncias dos sulcos atrioventriculares aos ápices dos corações mostrou a tendência dos ventrículos esquerdos nas fêmeas serem mais curtos nos três grupos experimentais e que estes aumentam progressivamente em comprimento ao longo do período de vida dos animais estudados. A espessura da parede não septal do ventrículo esquerdo foi sempre menor para as fêmeas em todos os grupos. O ventrículo direito aparentemente manteve-se inalterado durante o tempo experimental estudado, e a espessura de sua parede não septal foi sempre menor que a espessura da parede do ventrículo esquerdo em ambos os sexos. A avaliação dos parâmetros morfométricos para os átrios ficou prejudicada em função de uma certa inconsistência nos dados obtidos. A espessura dos septos interventriculares mostrou-se semelhante à espessura da parede não septal dos ventrículos esquerdos, uma indicação de que o miocárdio deste septo deve contribuir mais efetivamente para o débito sistólico ventricular desta câmara.

FATORES DE RISCO PARA VENTILAÇÃO MECÂNICA INVASIVA PROLONGADA EM PACIENTES SUBMETIDOS À CIRURGIA CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Renata Croce Megna

Orientador: Prof.Dr. Alfredo José Rodrigues

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/09/2007

Os problemas respiratórios estão entre as causas mais importantes de morbidade e mortalidade no pós-operatório de cirurgia cardíaca e freqüentemente resultam na necessidade de suporte ventilatório adicional, não raramente a ventilação mecânica invasiva, que por sua vez é potencialmente deletéria. Destarte, o conhecimento de antemão dos fatores de risco para a necessidade de ventilação mecânica invasiva prolongada proporciona oportunidade de medidas profiláticas e o melhor gerenciamento dos recursos disponíveis. Assim, os objetivos deste estudo foram: 1) avaliar a incidência e as causas da ventilação mecânica invasiva por mais de 48 horas (VMIP) no pós-operatório de cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea e 2) identificar os fatores de risco pré e intra-operatório para a necessidade de ventilação mecânica invasiva prolongada (>48h).

Foram analisados retrospectivamente as informações clínicas de 501 pacientes adultos consecutivamente submetidos a operações cardiovasculares com circulação extracorpórea no período de 1º de janeiro de 2002 a 31 de dezembro de 2005. Verificamos incidência de 10,8% (54 pacientes) de VMIP no pós-operatório. As complicações respiratórias foram as principais responsáveis pela necessidade de VMIP (48,7%), seguidas da instabilidade hemodinâmica (22,2%) e das complicações neurológicas (14,8%). Foram identificados como fatores isolados associados à necessidade de ventilação mecânica invasiva prolongada no pós-operatório: idade superior a 60 anos, classe funcional III/IV NYHA, endocardite, tabagismo ativo, estado clínico crítico no pré-operatório, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), tempo de CEC >120 minutos, cirurgia não eletiva e cirurgia de revascularização do miocárdio associada à operação valvular. Já a análise de múltiplas variáveis mediante regressão logística forneceu modelo em que apenas a idade superior a 60 anos, o estado crítico pré-operatório, a DPOC,

a classe funcional III/IV NYHA e o tempo de CEC superior a 120 minutos foram incluídos. Concluímos que, na população por nós estudada, a incidência e as causas de ventilação mecânica invasiva prolongada no pós-operatório, assim como os fatores de risco pré e intra-operatórios para a

ocorrência da mesma, assemelham-se àqueles reportados na literatura por outros pesquisadores. Muitos desses fatores de risco são passíveis de tratamento e/ou indicativos da necessidade de planejamento da estratégia operatória mais oportuna.

EXPRESSÃO DO p63, UM MARCADOR DE CÉLULAS TRONCO EPITELIAIS, EM CÉLULAS OVAIS HEPÁTICAS DE RATOS

Carolina Stella de Melo Martins

Orientador: Prof.Dr. Fernando Silva Ramalho

Dissertação de Mestrado apresentada em 26/09/2007

A regeneração hepática é reconhecida como um espetacular exemplo de crescimento tecidual ordenado e organizado. Entretanto, em circunstâncias especiais, como nas hepatites agudas fulminantes, a intensa proliferação dos hepatócitos é insuficiente para o restabelecimento da função e da massa tecidual hepáticas. Nestas situações de lesão parenquimatosa maciça e em modelos experimentais nos quais os hepatócitos estão impedidos de se replicar, o fígado passa a utilizar seu compartimento de células progenitoras, também denominadas de células ovas hepáticas (COH). Estas células apresentam elevado grau de indiferenciação, sendo capazes de originar hepatócitos, epitélio biliar, epitélio intestinal e pâncreas exócrino. Marcadores tradicionalmente associados às células tronco hematopoéticas encontram-se expressos pelas COH (p.ex. CD34, Thy-1 e c-kit). Entretanto, pouco se conhece a respeito de antígenos de células progenitoras epiteliais que também sejam expressos pelas COH. O objetivo do presente estudo foi avaliar a expressão da proteína p63, um conhecido marcador de células tronco

epiteliais, nas COH. Ratos machos Wistar foram tratados com 2-acetilaminofluoreno (2-AAF) por 4 dias consecutivos, e no 5º dia foram submetidos a hepatectomia parcial a 70%, continuando-se o tratamento com 2-AAF por mais 7 dias. Os animais foram sacrificados aos dias 4º, 7º, 9º e 13º pós-cirurgia. Nas amostras teciduais hepáticas foi realizado estudo imuno-histoquímico para o p63 e para reconhecidos marcadores de COH (CK19, Thy-1 e CD34). O antígeno p63 foi identificado no núcleo ovóide de pequenas células localizadas na região periportal nas proximidades dos ductos biliares. A simultânea marcação citoplasmática pelo CK19 confirmou se tratarem de COH. A curva de identificação celular pelo p63 revelou índices de marcação mais elevados no 70º e 90º dia pós-hepatectomia, padrão bastante semelhante ao encontrado para os antígenos Thy-1, CD34 e CK19. O menor número de células identificadas pelo p63 em comparação aos demais marcadores sugere maior grau de especificidade desta proteína. Recentes estudos demonstrando a diferenciação de células progenitoras da derme, positivas para o p63, em hepatócitos maduros, e também a expressão do antígeno p63 em células do colangiocarcinoma humano reforçam a hipótese de que as células progenitoras epiteliais e hepáticas possam compartilhar um mesmo marcador nuclear.

COMPARAÇÃO DA MORBIDADE E MORTALIDADE HOSPITALAR DE PACIENTES DE BAIXO OU MÉDIO RISCO E ALTO RISCO, SEGUNDO O EUROSCORE, SUBMETIDOS À CIRURGIA DE REVASCULARIZAÇÃO DO MIOCÁRDIO COM E SEM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Adilson Scorzoni Filho

Orientador: Prof.Dr. Alfredo José Rodrigues

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/09/2007

Introdução e Objetivo: A cirurgia de revascularização do miocárdio (CRM) é a operação cardíaca mais efetuada no mundo, e durante muitas décadas foi realizada predominantemente com o emprego da circulação extracorpórea (CEC). Seu emprego, embora seguro e muito difundido, não é isento de complicações e, ainda hoje, é objeto de estudos. Assim, uma vez que esse tipo de operação é factível

sem tal emprego, o interesse por esta abordagem ressurgiu como uma maneira de evitar os efeitos deletérios da CEC. Todavia, não há consenso de que revascularização sem CEC esteja associada a menor morbidade ou mortalidade.

Material e Métodos: Foram estudados retrospectivamente os pacientes submetidos à CRM com e sem CEC no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo no período de janeiro de 2003 a julho de 2006.

Resultados e Discussão: Avaliaram-se 308 pacientes consecutivamente submetidos a CRM e distribuídos, segundo o Euroscore, em grupo de risco baixo ou médio e

alto risco. Sessenta e dois pacientes (19,8%) foram operados sem CEC e 247 (80,2%) com CEC. Vinte e dois pacientes operados sem CEC (36,1%) e 44 (17,8%) dos operados com CEC foram considerados de alto risco. No geral, a proporção de pacientes com da fração de ejeção menor que 0,35 foi maior entre os operados sem CEC, bem como os valores médios do Euroscore e da idade. Quando se compararam os pacientes operados pelas duas técnicas, dentro de cada grupo de risco, e a única diferença significativa observada foi maior percentual de pacientes com diabete na população operada com CEC dentro do grupo de risco baixo ou médio. Não houve diferença significativa na mortalidade ou morbidade hospitalares entre pacientes operados com e sem CEC dentro de cada grupo de risco. Todavia, esses

parâmetros foram significativamente maiores nos pacientes considerados de alto risco, independentemente do tipo de técnica empregada. Quando se compararam os pacientes operados com e sem CEC, independentemente do grupo de risco, observou-se que o número de anastomoses distais maior no grupo com CEC (2,89 versus 2,20, $p < 0,001$), mas não se observaram diferenças significativas na mortalidade e na incidência de complicações pós-operatórias, embora as mortes por eventos cardíacos tenham prevalecido nesse grupo.

Conclusão: Concluiu-se que, na população estudada, não houve diferença significativa na morbidade ou mortalidade, independentemente do risco cirúrgico, comparando à CRM com e sem o emprego da CEC.

CLÍNICA MÉDICA

EXERCÍCIO RESISTIDO EM IDOSOS HIPERTENSOS: EFEITO AGUDO SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL

Lúria Melo de Lima Scher

Orientadora: Profa.Dra. Nereida Kilza da Costa Lima
Dissertação de Mestrado apresentada em 12/07/2007

A duração do exercício físico pode influenciar a queda da pressão arterial (PA) em idosos hipertensos, entretanto, existem poucas evidências em relação ao efeito e a segurança do exercício resistido nesta população. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito agudo de exercícios físicos resistidos de baixa intensidade na magnitude e na duração das respostas cardiovasculares. Dezesesseis idosos hipertensos realizaram três sessões experimentais randomizadas com diferentes durações: a sessão Controle (C) – com 40 minutos de repouso – na posição sentada, Exercício 1 (E1) com 20 minutos de exercício resistido (1 volta no circuito) e o Exercício 2 (E2) com 40 minutos (duas voltas no circuito). Em cada sessão de exercício o objetivo foi tentar alcançar 20 repetições com intensidade de 40% de uma repetição máxima (1RM). Durante vinte minutos antes e 60 minutos após cada sessão, a PA e a frequência cardíaca (FC) foram medidas a cada 5 minutos pelos métodos auscultatório e oscilo-

métrico (ONROM-HEM-431). A partir de 60 minutos após o final do exercício, a PA foi monitorada durante 24hs através de monitorização ambulatorial da pressão arterial (MAPA). Independente da duração, o exercício resistido promoveu queda significativa da PA nos primeiros 60 minutos após sua realização. Apenas o circuito de maior duração resultou em efeito hipotensor na pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD), considerando médias de 24 horas e período de vigília. A frequência cardíaca manteve-se elevada durante a recuperação pós-intervenção nas duas sessões de exercício. Em adição, ocorreram aumentos na pressão arterial diastólica, nas médias de 24 horas e no período de sono, e na PAS, durante o sono na sessão E1. A sessão E2 apenas promoveu aumento na PAD no período de sono. Quando analisados os descensos absolutos e relativos, houve uma atenuação, apenas para o sexo feminino, na sessão de menor duração (E1). Concluindo, tanto o exercício resistido agudo com duração de 20 minutos quanto o de 40 minutos, em circuito, promoveram hipotensão pós-exercício. No entanto, apenas a sessão de maior duração diminuiu a PAS, quando avaliada pela MAPA.

EXPRESSÃO DE GENES ENVOLVIDOS NA PROLIFERAÇÃO CELULAR E APOPTOSE NA LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

Francisco de Paula Careta

Orientador: Prof.Dr. Marco Antonio Zago
Dissertação de Mestrado apresentada em 13/07/2007

A Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) é considerada historicamente como uma doença onde o acúmulo clonal das células B ocorre devido à resistência à apoptose. Re-

centemente, têm surgido evidências de que existe elevada proliferação celular nessa neoplasia. Nesse trabalho, analisamos em amostras de pacientes com LLC e de indivíduos saudáveis a expressão dos genes TOSO, EZRIN; BCL-2 e FLIP, relacionados com o controle da apoptose, e de AKT1, GSK3 β , PTEN e β -CATENINA, relacionados à proliferação. A expressão dos genes anti-apoptóticos foi significativamente maior nas amostras de LLC (TOSO $p=0,0009$; EZRIN $p=0,0001$; BCL-2 $p=0,0009$ e FLIP $p=0,0016$), enquanto que os genes AKT1 e β -CATENINA foram menos expressos. ($p=0,0002$ e $p=0,0230$). Não houve diferença de expressão significativa dos genes GSK3 β e PTEN entre as amostras normais e leucêmicas. Em seguida, analisamos a correlação da expressão de RNAm de ZAP-70 e LPL com TOSO, EZRIN e BCL-2 e verificamos que apenas TOSO apresenta correlação com ZAP-70 e LPL ($r = 0,6519$, $p < 0,0001$ e $r = 0,5787$, $p < 0,0001$, respectivamente), além de também apresentar correlação com a expressão de BCL-2 ($r = 0,7477$, $p < 0,0001$). Para verificarmos se existe diferença da expressão de TOSO, BCL-2, EZRIN, ZAP-70 e LPL na evolução da doença, realizamos a distribuição dos valores de expressão de Δ CT desses genes nos estadiamentos A ($n=20$), B ($n=5$) e C ($n=12$)

de Binet. Não encontramos diferença de distribuição da expressão dos genes significativa entre os três estadiamentos (TOSO $p=0,1886$; BCL-2 $p=0,0935$; EZRIN $p=0,2001$; ZAP-70 $p=0,7440$ e LPL $p=0,8413$). Em seguida, analisamos a expressão de TOSO, BCL-2, EZRIN; ZAP-70 e LPL entre os casos de LLC tratados e não tratados. Verificamos que apenas EZRIN e BCL-2 apresentaram diferença estatística significativa ($p=0,0050$ e $p=0,0061$, respectivamente), estando mais expressos nos casos não tratados. Por fim, cruzamos os dados de um trabalho de expressão gênica de microRNAs (miRs) em amostras de LLC com a base do banco de dados miRBase Target Version 4 com o objetivo de procurarmos por possíveis mecanismos relacionados à diferença de expressão dos genes que analisamos. Em conclusão, nossos dados indicam que as células do sangue periférico de indivíduos na LLC apresentam um perfil de expressão gênica mais relacionado à inibição da apoptose do que ao estímulo proliferativo promovido pela via AKT. Além disso, há evidências de que ocorre aumento da expressão de TOSO nos casos de pior prognóstico. Por fim, a análise do banco de dados de miRs sugere que EZRIN pode ser alvo dos miRs 183 e 96, e FLIP dos miRs 20a e 20b.

PESQUISA DE ANTICORPOS ANTINUCLEOSSOMO E ANTICROMATINA EM PACIENTES COM LÚPUS ERITEMATOSO CUTÂNEO E SISTÊMICO, NAS SUAS FORMAS ATIVA E INATIVA

Aieska de Souza

Orientador: Prof. Dr. Paulo Louzada Júnior

Dissertação Mestrado apresentada em 08/08/2007

Introdução: O lúpus eritematoso (LE) é uma doença multissistêmica, caracterizada pela produção de auto-anticorpos contra vários constituintes celulares, com amplo espectro de manifestações clínicas, sendo que a apoptose é um dos fatores ligados a sua etiologia. O processo de apoptose ocasiona a produção de auto-anticorpos, entre eles o anticorpo anticromatina. A presença de anticorpos anticromatina foi detectada em pacientes portadores de LES, especialmente doença ativa. Observou-se presença de apoptose nas lesões cutâneas de LE, porém desconhece-se até o momento se essas células apoptóticas epidérmicas seriam capazes de promover a produção de anticorpos anticromatina em pacientes com LE exclusivamente cutâneo.

Objetivo: Determinar a presença de anticorpos antinucleossomo e anticromatina no soro de pacientes com LE Cutâneo e LE Sistêmico e correlacionar os títulos destes anticorpos com a atividade da doença.

Materiais e Métodos: Foram analisados 154 pacientes, sendo 54 com LE cutâneo e 100 pacientes com LES, subdivididos em dois grupos de acordo com a atividade da

doença determinada pelo SLEDAI (*systemic lupus erythematosus disease activity index*): Grupo LES inativo (SLEDAI<2) formado por 34 pacientes e o grupo LES ativo (SLEDAI>5) com 66 pacientes. A determinação dos anticorpos antinucleossomo (IgG) foi quantitativa e realizada através do método de imunoenensaio enzimático em fase sólida (*Bluewell Nucleosome IgG ELISA, D-TEK, Mons, Bélgica*), considerando-se positivo valores acima de 25 unidades/mL. A determinação dos anticorpos anticromatina foi semi-quantitativa e também utilizou-se ensaio imuno enzimático de fase sólida (ELISA, QUANTA Life Chromatin, INOVA, Ca, EUA), sendo positivo os valores acima 20 unidades/mL.

Resultados: Apenas um paciente, dos 54 pacientes com LEC, apresentou positividade para ambos anticorpos. Todos os demais 53 pacientes com LEC apresentaram resultados negativos. Os pacientes com LES ativo apresentaram elevada positividade para anticorpos anticromatina (56/66 – 84,8%) vs. LES inativo (9/34 – 26,4%). Houve elevada incidência no LES ativo de anticorpos antinucleossomo (49/66 – 74,2%) quando comparado ao grupo LES inativo (4/34 – 11,7%). Os títulos de anticorpos anticromatina e antinucleossomo diferiram significativamente ($p<0,001$) para os três grupos estudados: mediana de títulos de anticromatina: LEC:

3 unidades/mL, LES Inativo: 8,9 unidades/mL, LES Ativo: 103,9 unidades/mL; antinucleossomo: LEC: 15 U/mL, LES Inativo: 17 U/mL, LES Ativo: 53,2 U/mL. A presença de anticorpos anticromatina está correlacionada com a atividade da doença no grupo LES ativo vs. LES inativo ($r=0,4937$, $p<0,0001$). O mesmo é observado para os anticorpos antinucleossomo ($r=0,5621$, $p<0,0001$). (Correlação Spearman). A sensibilidade do exame anticromatina para detecção de LES ativo quando comparado a pacientes com LEC foi de 84,85%, especificidade de 98,15%, o valor preditivo negativo: 84,13%, e o valor preditivo positivo: 98,25% ($p<0,0001$). O exame antinucleossomo teve sensibilidade de 75,76%, especificidade de 98,15%, o valor preditivo negativo: 76,81%, e o valor preditivo positivo: 98,04% ($p<0,0001$). No subgrupo de pacientes com LES e exame anti-DNAs negativo, tanto

o exame antinucleossomo como anticromatina foram correlacionados com a atividade da doença, ($r=0,4754$, $r=0,4281$, respectivamente). No presente estudo, não se observou isoladamente correlação entre nefrite com os auto-anticorpos antinucleossomo e anticromatina. A associação ocorreu em pacientes com doença ativa e dano renal também presente.

Conclusão: No presente estudo, os anticorpos anticromatina e antinucleossomo correlacionaram-se positivamente à presença de LES, especialmente com a atividade da doença, sendo praticamente ausentes no LEC. No subgrupo de pacientes com LES anti-DNAs negativo os exames anticromatina e antinucleossomo correlacionaram-se positivamente com a atividade da doença, podendo este ser utilizado como um exame adicional para caracterizar a atividade da doença.

CONTROLE DAS CRISES EPILÉTICAS REFROTÁRIAS À MEDICAÇÃO PELA OFERTA TERAPÊUTICA DE DIETA CETOGÊNICA

Luciana Duarte Martins

Orientadora: Profa. Dra. Paula Garcia Chiarello

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/08/2007

Introdução: A dieta cetogênica (DC) é indicada para crianças com epilepsia refratária e elevado número de crises de difícil controle. A DC deve oferecer 75% da energia recomendada contendo 90% de gordura e 10% de proteína mais carboidrato.

Objetivo: Avaliar o efeito da DC sobre o estado nutricional e número de crises em crianças com epilepsia refratária.

Casística e métodos: Foram estudados 13 homens e 16 mulheres, com idade média $6,2 \pm 3,5$; durante 24 meses em uso da DC e após 12 meses do seu término. Realizou-se avaliação antropométrica (peso, estatura e indicadores de peso por estatura (P/E) e estatura por idade (E/I), segundo classificação de Waterlow) e avaliação bioquímica (albumina, proteínas totais, triglicérides, colesterol total, LDL, HDL, vitaminas, hemograma, ferro, cálcio, fósforo, potássio, sódio, zinco, magnésio, glicemia, uréia, creatinina, TGO e TGP).

A eficácia da DC foi avaliada pela frequência das crises.

Resultados: 7 pacientes permaneceram até o final do estudo, sendo que todos apresentaram melhora antropométrica. No início 14,3% dos 29 pacientes eram eutróficos e 85,7% desnutridos crônicos. Ao final do estudo todos os pacientes apresentaram melhora nutricional: 28,6% estavam eutróficos e 71,4% desnutridos (42,8% desnutrição pregressa e 28,6% crônica). Nenhum dos parâmetros bioquímicos apresentou alterações, com exceção do colesterol (aumento significativo no primeiro mês com posterior queda, sem diferença ao final do estudo). 44,8% dos pacientes tiveram redução no número de crises, sendo 24,1% com controle total e 20,7% com controle maior que 60%.

Conclusão: A DC foi eficaz para reduzir crises sem prejuízo para o desenvolvimento ponderal em 55,2% dos pacientes, mostrando melhora na recuperação do peso e diminuição na incidência de desnutrição. A DC não resultou em dislipidemia durante o estudo, apesar de níveis elevados de colesterol no primeiro mês. Não houve alterações significativas nos parâmetros bioquímicos analisados ao longo do seguimento.

ÁCIDO FÓLICO E HOMOCISTEÍNA EM DOENÇAS INFLAMATÓRIAS INTESTINAIS: INCREMENTO DIETÉTICO DE FOLATO

Caroline Dumont Adams de Salvo Souza

Orientadora: Profa. Dra. Paula Garcia Chiarello

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/09/2007

Por acometerem partes importantes do trato digestório, as doenças inflamatórias intestinais podem provocar

deficiência de ácido fólico e acúmulo de homocisteína, aumentando o risco de comorbidades nestes pacientes. Com o objetivo de incrementar a ingestão de ácido fólico pela dieta e melhorar o estado nutricional quanto ao folato, controlando as concentrações de homocisteína, 10 pacientes com doenças inflamatórias intestinais (Doença de Chron e

Colite Ulcerativa), tratados no Ambulatório de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP) receberam orientação nutricional individualizada, e foram acompanhados por 2 meses. No início (T0), após 1 mês (T1) e ao final do estudo (T2) foram realizadas: coleta de dados antropométricos (peso e estatura), dados dietéticos (recordatórios de 24 horas) e coleta de sangue em jejum para avaliação de ácido fólico, homocisteína, proteína C-reativa, albumina e vitamina B12 em soro. Metade da amostra era de homens e metade tinha diagnóstico de Colite. Pelo IMC apenas um indivíduo era desnutrido, com deficiência de vitamina B12; não havia deficiência plasmática de ácido fólico e albumina. A hiperhomocisteinemia estava presente em 6 indivíduos e a proteína C – reativa (PCR) estava aumentada em sete pacientes. Após orientações houve um aumento na ingestão de 14,5% na energia ($p=0,05$) e de

24,5% na de carboidratos ($p=0,05$) entre T0 e T1/2 (15 dias). Quanto às vitaminas houve um aumento significativo na ingestão de vitamina B6, em T1 (33,8%) e T2 (38,8%), ambos relativos ao T0. A ingestão dietética de folato aumentou significativamente ($p<0,01$) em T1/2 (49,6%), T1 (31,5%) e T2 (47,8%), quando comparados a T0. As médias de ácido fólico, homocisteína e vitamina B12 plasmáticos não se alteraram, porém houve diminuição significativa de PCR em T1, em média de $0,36 \text{ mg.dl}^{-1}$ ($p=0,01$) permanecendo diminuída em T2, comparando-as com o basal. Conclui-se que, neste grupo de pacientes, o aumento relatado da ingestão de folato não se refletiu em melhora nas concentrações séricas de ácido fólico e homocisteína, mas é possível que as orientações nutricionais tenham induzido escolhas alimentares mais adequadas, auxiliando no controle do processo inflamatório.

ATIVIDADE DA BIOMEMBRANA DE LÁTEX NATURAL DA SERINGUEIRA *Hevea brasiliensis* NA NEOFORMAÇÃO TECIDUAL EM CAMUNDONGOS

Thiago Antônio Moretti de Andrade

Orientador: Prof. Dr. Marco Andrey Cipriani Frade
Dissertação de Mestrado apresentada em 25/09/2007

A biomembrana de látex natural (BLN) da seringueira *Hevea brasiliensis*, utilizada como curativo no tratamento de úlceras crônicas em humanos, mostra-se eficaz no desbridamento e no estímulo à granulação, acelerando a cicatrização. Seu mecanismo de ação ainda é desconhecido, tornando-se importante avaliar sua atividade como implante na indução tecidual, comparando-a aos outros implantes e à cicatrização normal (SHAM). Foram utilizados camundongos C57BL/6, constituído de 5 grupos distintos pelo implante subcutâneo dorsal (1 cm^2): 15 implantados com BLN; 15-LUVA cirúrgica (látex desnaturado); 15-ePTFE (PoliTetraFluorEtileno Expandido – implante sintético) e 15-SHAM. A atividade dos implantes foi avaliada no 2º, 7º e 14º dias, sacrificando 5 animais/grupo/tempo para biópsias (punch-4mm). Toda pele da área implantada foi recortada e fotografada. As amostras foram submetidas a estudos histológicos por HE para contagem das células inflamatórias, fibroplasia e angiogênese, utilizando o *plugin* “Cell Counter” no *software* ImageJ®; pelo Tricrômio de Gomori para quantificação colagênica pelo “Threshold” no ImageJ®, e imunohistoquímica para iNOS, IL-12, VEGF e TGF-21. A partir do sobrenadante do macerado das biópsias foram realizadas as dosagens de mieloperoxidase (MPO), IL-12 e de TGF-21 por ELISA. Macroscopicamente, viu-se maior quantidade de tecido neoformado nos animais implantados com BLN já no 2º dia, diferente dos demais grupos. À histologia (HE), constatou-se que a BLN no 2º

dia estimulou denso infiltrado inflamatório, principalmente neutrófilos, seguido de maior produção de MPO e de IL-12, diferente dos demais tratamentos ($P<0,01$). Com 7 e 14 dias, a quantidade de IL-12 nos grupos LUVA e SHAM foi maior que a da BLN e do ePTFE, mostrando o equilíbrio no estímulo inicial da atividade inflamatória pela BLN. Quanto a angiogênese, os grupos BLN e LUVA com 7 e 14 dias apresentaram maior formação de vasos que o ePTFE e SHAM. Entretanto, na imunohistoquímica observou-se baixa expressão de VEGF no grupo BLN no 7º e 14º dia. Quanto a fibroplasia, o ePTFE com 7 dias apresentou maior fibroplasia que todos os grupos ($P<0,01$). No 14º dia, a BLN apresentou maior fibroplasia, embora sem diferença estatística entre os grupos. Quanto à colagênese, pelo ImageJ® (“Threshold”) por Tricrômio de Gomori, os implantes se comportaram de maneira semelhante, inclusive com o SHAM, exceto no 14º dia que o ePTFE apresentou colagênese maior que a LUVA e BLN ($P<0,01$). O grupo SHAM apresentou maior concentração de TGF-21 que os demais grupos no sétimo dia ($P<0,01$), semelhante à BLN e à LUVA no 14º, entretanto maior que o ePTFE ($P<0,01$). Conclui-se que a biomembrana de látex da seringueira *Hevea brasiliensis* atua significativamente na fase inflamatória da cicatrização, importante no recrutamento neutrofílico para o local, confirmado quantitativamente pela concentração de MPO e IL-12 e por imunohistoquímica. Este fato parece influenciar diretamente as fases subsequentes do processo cicatricial, confirmada pela sua capacidade estimuladora de angiogênese, provavelmente não influenciada por VEGF, e pelo estímulo à fibroplasia independente de TGF-21 e sem modificação na produção colagênica.

EFEITO DA AUSÊNCIA DA INTERLEUCINA-12 NO CURSO DA GLOMERULONEFRITE PROLIFERATIVA MESANGIAL AGUDA INDUZIDA POR *habu snake venom*

Oswaldo Merege Vieira Neto

Orientador: Prof. Dr. Márcio Dantas

Tese de Doutorado apresentada em 28/09/2007

A interleucina-12 (IL12) tem participação na fisiopatologia de várias glomerulonefrites progressivas experimentais, mas seu efeito não foi avaliado na glomerulonefrite mesangial aguda (GMA) induzida pelo veneno da cobra *habu snake venom* (HSV).

Objetivos: avaliar o efeito da ausência da IL12 na GMA induzida pelo HSV.

Materiais e Métodos: GMA foi induzida em camundongos IL12 *knockout* (IL12^{-/-}) e C57Bl/6 (IL12^{+/+}) pela administração única i.v. de HSV. Veículo foi usado nos animais controle. Grupos de camundongos foram estudados após 3, 7 e 14 dias (D3, D7 e D14). Foram avaliadas a albuminúria, creatinina sérica, parâmetros histopatológicos, morfométricos e, por imunohistoquímica, a expressão glomerular de κ -smooth muscle actin (κ -SMA), de desmina, a proliferação celular (PCNA)/tufo glomerular e o número de macrófagos/tufo glomerular.

Resultados: Após tratamento com HSV, camundon-

gos IL12^{+/+} e ^{-/-} desenvolveram lesões focais como microaneurismas intraglomerulares no D3, expansão mesangial e proliferação celular segmentar no D7 e aspecto histológico com padrão de resolução da glomerulonefrite na maioria dos glomérulos no D14. A albuminúria e a creatinina sérica dos animais tratados com HSV apresentaram valores semelhantes aos animais controle. Em comparação com os camundongos IL12^{+/+}, a ausência da IL12 nos camundongos IL12^{-/-} mostrou menores escores (mediana, 1^o; 3^o quartis) de desmina no D7 [1,55 (1,32; 1,65) vs 1,12 (1,07; 1,22); p<0,01] e no D14 [1,60 (1,55; 1,75) vs 1,20 (1,15; 1,20); p<0,001], e de κ -SMA no D14 [0,30 (0,21; 0,38) vs 0,16 (0,26; 0,36); p<0,001], mas alteração estatisticamente significativa não foi encontrada para PCNA e macrófagos.

Conclusão: apesar de ter ocorrido menor expressão de desmina e de κ -SMA nos camundongos IL12^{-/-} em alguns períodos do estudo, a ausência da IL12 não modificou o curso da glomerulonefrite mesangial aguda induzida em camundongos pelo HSV. Estes dados sugerem que, em modelos de glomerulonefrite mesangial aguda com resolução espontânea em 2 a 4 semanas, talvez a IL12 tenha pouca relevância.

REGISTRO DOS DISTÚRBIOS DO RITMO CARDÍACO (DRC) EM PACIENTES ATENDIDOS NA UNIDADE DE EMERGÊNCIA DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA USP

Paula Menezes Luciano

Orientador: Prof. Dr. Antônio Pazin Filho

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/09/2007

O atendimento de pacientes com distúrbios do ritmo cardíaco (DRC) é um desafio para emergencistas pela diversidade de apresentação clínica e pela elevada morbimortalidade associada. Os diversos protocolos de abordagem disponíveis, embora mostrem similaridade, não contemplam o impacto da prevalência dos DRC, que pode ser extremamente variável de serviço para serviço, com implicações para o treinamento e manutenção das habilidades dos médicos emergencistas. Este estudo procura documentar a prevalência e as características do atendimento dos DRC na sala de urgência (SU) de um hospital universitário de nível terciário. Um protocolo de atendimento dos DRC mundialmente aceito já se encontra implantado, visando a contribuir para melhoria da estruturação do serviço e treinamento de sua equipe. Foram estudados 182 pacientes (50% masculino; 66,6 ± 15,6 anos), durante 19 meses (01/02/2004 à 31/08/2005), correspondendo a 1,9% de todos 9598 atendimentos da disciplina de Clínica Médica na Unidade de Emergência

do HCFMRP-USP. Foram registrados dados referentes à identificação do paciente, motivo do atendimento, classificação do DRC (quanto a frequência cardíaca), antecedentes, avaliação da função sistólica ventricular esquerda (FSVE) (subjetivamente pela avaliação clínica e objetivamente pela Doppler ecocardiografia), presença de critérios clínicos de instabilidade hemodinâmica, diagnóstico eletrocardiográfico do DRC (traçado convencional e recursos adicionais), tratamento e seguimento do paciente. Os DRC mais prevalentes foram as taquicardias supraventriculares que não envolvem o nó atrioventricular (TNENAV) (37,3%), seguidos pelas bradicardias ocasionadas por bloqueio atrioventricular (BAV) (21,4%) e fibrilação atrial/bradicardia sinusal (FA/sinusal) (15,9%), taquicardia ventricular (TV) (15,4%) e pelas taquicardias supraventriculares que envolvem o nó atrioventricular (TENAV) (9,9%). A instabilidade clínica foi mais prevalente nos pacientes bradicárdicos (41,2%), mas ao se analisar o subtipo de DRC, nota-se que a TV foi o distúrbio mais associado com instabilidade (60,7%). A análise multivariada demonstrou que a origem ventricular (2,38 95% IC 1,07-5,26) e a disfunção sistólica ventricular esquerda (DSVE) (2,52 95% IC 1,12-5,69) aumentam a chance de apresentação

clínica com instabilidade. A estimativa da FSVE avaliada pela Doppler ecocardiografia associada a critérios clínicos para DSVE, apresentou baixo valor preditivo positivo (56,8%; 95% IC 42,2% – 70,6%). As intervenções terapêuticas utilizadas foram efetivas. A mortalidade observada (22,0%) na

população estudada não se relacionou diretamente com os DRC. Concluindo, o paralelismo entre instabilidade clínica e DSVE avaliada pela Doppler ecocardiografia permitiu levantar a hipótese de associação causal. Esta associação pode auxiliar na seleção de antiarrítmicos para os casos de TV.

FARMACOLOGIA

PAPEL DA VIA ÓXIDO NÍTRICO - GMP CÍCLICO NAS ALTERAÇÕES HEMODINÂMICAS INDUZIDAS PELA EMBOLIA PULMONAR AGUDA EM CÃES

Carlos Alan Candido Dias Júnior

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos
Tese de Doutorado apresentada em 11/07/2007

Embolia pulmonar aguda (EPA) constitui a terceira causa de morte entre os americanos. Nós demonstramos, em cães, que a inalação de óxido nítrico (NO) ou a infusão de sildenafil (inibidor da degradação do GMPc) atenuaram a hipertensão pulmonar induzida pela EPA. Entretanto, a infusão de L-arginina, substrato das sintases do NO (NOS), não potencializou o efeito do sildenafil sobre a hipertensão pulmonar durante EPA. No presente trabalho, nós examinamos melhor o papel desempenhado pelas NOS durante a EPA, bem como possíveis agentes farmacológicos que possam ativar a via NO-GMPc e atenuar seletivamente a hipertensão pulmonar, sem produzir efeitos sistêmicos significativos. Os resultados do primeiro protocolo revelaram que a infusão do L-NAME (inibidor não-seletiva das NOS), além de agravar a hipertensão pulmonar, causou a morte de todos os animais pré-tratados com L-NAME submetidos à EPA. Porém, a infusão de aminoguanidina (inibidor seleti-

vo da sintase induzida do NO, iNOS) atenuou o distúrbio hemodinâmico instalado após a EPA. Além disso, em um segundo protocolo verificamos que a infusão de um composto que libera NO lentamente (DET A- NONOato), além de não ter atenuado a hipertensão pulmonar, não potencializou os efeitos do sildenafil sobre a hipertensão pulmonar durante a EPA. Em um terceiro protocolo experimental visando avaliar os efeitos da infusão de baixas doses de nitrito após a EPA, encontramos que o nitrito produziu efeitos atenuadores sobre a hipertensão pulmonar (em concentrações próximas às encontradas fisiologicamente). Portanto, os resultados destes três protocolos sugerem que o efeito protetor do NO sobre o distúrbio hemodinâmico instalado após a EPA pode depender da quantidade de NO e da disponibilidade de NO nos vasos pulmonares. Este efeito protetor do NO parece não acontecer quando a quantidade de NO aumenta muito acima daquela encontrada fisiologicamente, ou seja, o NO produzido pela iNOS pode agravar a hipertensão pulmonar induzida pela EPA. Além disso, o nitrito de sódio pode ser uma alternativa farmacológica viável para o tratamento das repercussões hemodinâmicas induzidas pela EPA.

ENVOLVIMENTO DA SUBSTÂNCIA CINZENTA PERIAQUEDUTAL VENTROLATERAL NA RESPOSTA CARDIOVASCULAR A MICROINJEÇÃO DE L-GLUTAMATO NO HIPOTÁLAMO LATERAL DE RATOS ANESTESIADOS

Milena Deolindo Vieira

Orientador: Prof. Dr. Fernando Morgan de Aguiar
Dissertação de Mestrado apresentada em 10/08/2007

O hipotálamo lateral (HL) é uma complexa região diencefálica que exerce importante função no controle do sistema cardiovascular. O L-glutamato (L-glu) é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central. Evidências, imunohistoquímicas e farmacológicas indicaram que o hipotálamo é uma das áreas envolvidas na regu-

lação cardiovascular e contém quantidade significativa de glutamato e receptores glutamatérgicos ionotrópicos. Estudos neuroanatômicos indicaram que o HL possui densas projeções para estruturas que podem influenciar a função cardiovascular direta ou indiretamente assim como a substância cinzenta periaquedutal (SCP), NTS, RVLM, núcleo parabraquial e o núcleo vagal. A SCP tem sido descrita como uma região mesencefálica importante para a integração dos sistemas sensoriais e autonômicos envolvidos na efetuação de respostas comportamentais. Com base na resposta cardiovascular evocada por estimulação química (ami-

noácido excitatório) dessa região, a SCP foi dividida em quatro colunas longitudinais, sendo a dorsomedial, a dorsolateral e a lateral associadas à respostas pressoras e a coluna ventrolateral (SCPvl) relacionada à respostas hipotensoras. O objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos cardiovasculares à microinjeção de L-glu no HL de ratos anestesiados, os efeitos da ablação farmacológica da SCPvl nas respostas cardiovasculares à microinjeção de L-glu no HL, bem como os possíveis receptores glutamatérgicos da SCPvl envolvidos na mediação de tais respostas. A microinjeção de L-glu no HL causou resposta hipotensora e bradicárdica em ratos anestesiados. As respostas cardiovasculares foram concentração - dependente, apresentando

CE50 de aproximadamente 0,1 M. As respostas cardiovasculares evocadas pela microinjeção de L-glu no HL foram abolidas pelo pré-tratamento da SCPvl com COC12 (1 mM) um bloqueador não seletivo de sinapses. A resposta hipotensora e bradicárdica ao L-glu não foram afetadas pelo pré-tratamento da SCPvl com NBQX (0,02 M), um antagonista seletivo dos receptores não-NMDA. Contudo, o pré-tratamento da SCPvl com LY (0,02 M), antagonista seletivo de receptores NMDA, aboliu as respostas cardiovasculares. Os resultados sugerem que as respostas cardiovasculares causadas pela microinjeção de L-glu no HL envolvem um relê na SCPvl e que receptores glutamatérgicos do subtipo NMDA medeiam tais respostas.

EFEITOS HEMODINÂMICOS DO BAY 41-2272 DURANTE MICROEMBOLIA PULMONAR AGUDA EM CÃES

Stefany Bruno de Assis Cáu

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos
Dissertação de Mestrado apresentada em 17/08/2007

A embolia pulmonar aguda (EPA) é uma condição clínica severa associada a uma taxa de mortalidade elevada. O BAY 41-2272, um estimulador da guanilato ciclase solúvel (GCs), atenuou a hipertensão pulmonar induzida experimentalmente em alguns modelos animais. Neste trabalho, examinaram-se os efeitos da infusão de BAY 41-2272 durante a hipertensão arterial pulmonar (HAP) associada à EPA em cães anestesiados. Um grupo de animais monitorizados (N=5) recebeu somente infusão de salina. A EPA foi induzida em outros dois grupos experimentais por injeções intravenosas de microesferas de 300 µm em quantidades suficientes para aumentar a pressão média da artéria pulmonar (PMAP) em 20 mmHg. O acompanhamento hemodinâmico foi realizado nos momentos: basal; 15 e 30 minutos após a EPA; ao final de 15, 30, 45 e 60 após a infusão de BAY 41-2272 (respectivamente nas doses de 0,03; 0,1; 0,3; 1,0 mg/Kg/h I.V.), e 75 minutos (final) após a infusão da primeira dose da droga (grupo Emb+BAY; N=8) ou veículo (grupo Emb; N=9). Coletou-se sangue arterial para análise gasométrica nos momentos basal, E30 e final para todos os

grupos experimentais. Para a dosagem plasmática de GMPc e dos níveis de peroxidação lipídica, foi coletado sangue nos momentos basal e final para todos os grupos experimentais. A EPA induziu HAP estável com um correspondente aumento no índice de resistência vascular pulmonar (IRVP), sem mudanças significativas nos demais parâmetros hemodinâmicos avaliados. O grupo controle não mostrou mudanças adicionais na PMAP e IRVP. Entretanto, observamos uma significativa redução na PMAP e IRVP (-17% e -30%, respectivamente; ambos com $P<0,05$) após a infusão de doses crescentes do BAY 41-2272. Estes dados foram acompanhados por elevação dos níveis de GMPc plasmático em 34% no grupo Emb+BAY ($P<0,05$). A maior dose do BAY 41-2272 causou hipotensão severa, registrando-se queda de 27% da pressão arterial média e de 36% do índice de resistência vascular sistêmico. A EPA foi acompanhada de um aumento significativo dos níveis de malondialdeído no plasma, os quais não foram significativamente reduzidos pelo tratamento, sugerindo a participação do estresse oxidativo como um fator limitante das ações do BAY 41-2272. Conclui-se que o tratamento da EPA induzida em cães com BAY 41-2272 apresenta efeitos vasodilatadores pulmonares relativamente seletivos somente nas menores doses.

ENVOLVIMENTO DO FATOR DE TRANSCRIÇÃO NUCLEAR KAPPA B (NF-κB) NA HIPERALGESIA INFLAMATÓRIA PERSISTENTE

Guilherme Rabelo de Souza

Orientador: Prof. Dr. Carlos Amílcar Parada
Dissertação de Mestrado apresentada em 29/08/2007

As dores crônicas de origem inflamatória além de muitas vezes impossibilitarem o indivíduo de exercer normalmente suas atividades, trazendo conseqüências socioeconômicas e psicológicas, ainda é um desafio terapêutico e

sua fisiopatologia não está esclarecida. Neste sentido, nosso laboratório desenvolveu em ratos e em camundongos um modelo de hiperalgesia inflamatória crônica, em que administrações diárias de prostaglandina E_2 (PGE_2 , 100 ng/pata) durante 14 dias induzem um estado de hipernocicepção mecânica persistente (HMP) por mais de 30 dias. No presente trabalho investigamos a participação do fator de transcrição nuclear kappa B (NF-κB) na manutenção da HMP e os eventos moleculares associados com sua ativação. A

hipernocicepção foi avaliada pelo limiar nociceptivo mecânico medido por um analgesímetro eletrônico (von Frey eletrônico). A ativação do NF- κ B durante HMP foi analisada pela quantificação de sua translocação nuclear em neurônios presentes no gânglio da raiz dorsal (GRD) utilizando imunofluorescência. Os resultados obtidos demonstraram um aumento na translocação do NF- κ B para o núcleo de neurônios do GRD em animais submetidos a HMP. Confirmando a importância da ativação do NF- κ B para a manutenção da HMP, foi observado que a administração intratecal de um inibidor seletivo do NF- κ B, o pyrrolidone dithiocarbamate (PDTC - 33 ng) por 4 dias consecutivos, sendo o início do tratamento o 1º dia após o término da fase de indução da HMP, proporcionou uma redução significativa da hipernocicepção persistente bem como uma redução na transloca-

ção do NF- κ B para o núcleo. Além disso, o tratamento dos animais com oligodesoxinucleotídeos (ODN) antisense (AS) para NF- κ B administrado por 5 dias consecutivos, o qual reduz os níveis de RNAm para este fator de transcrição, também reduz a HMP induzida por PGE₂. Em seqüência investigamos a participação de proteinoquinases A e C (PKA e PKC) na ativação do NF- κ B durante a manutenção da HMP. Foi observado que a administração intraplantar de inibidores destas proteinoquinases (PKA - H-89 27 μ g / pata) (Peptídeo inibidor da Proteína Quinase C ϵ - iPKC ϵ 3 μ g / pata) reduz a HMP e também a translocação do NF- κ B para o núcleo. Portanto, estes resultados sugerem que o NF- κ B tem participação efetiva na manutenção da hipernocicepção persistente e que provavelmente sua ativação dependa das proteínas quinase A e C.

EFEITOS CARDIOVASCULARES OBSERVADOS APÓS A MICROINJEÇÃO DE NORADRENALINA NA ÁREA SEPTAL LATERAL DE RATOS

América Scopinho Augusto

Orientador: Prof. Dr. Fernando Morgan de Aguiar Corrêa
Tese de Doutorado apresentada em 24/09/2007

A área septal lateral (ASL) está envolvida no controle central do sistema cardiovascular. Neste trabalho, nós mostramos os efeitos cardiovasculares desencadeados pela microinjeção de noradrenalina (NA) na ASL de ratos, bem como os receptores locais e os mecanismos periféricos envolvidos na sua mediação. A microinjeção de NA na ASL causou resposta pressora e bradicardia dose-dependente em ratos não anestesiados. A ED₅₀ de NA microinjetada na área septal medial (ASM) e no ventrículo lateral (VL) não causou efeitos cardiovasculares sugerindo que os efeitos cardiovasculares da NA ocorram pela ação desse agonista na ASL. Os efeitos da NA na ASL foram abolidos pelo pré-tratamento local com antagonista de receptores α_1 adrenérgicos (WB4101), mas não foi afetado pelo pré-tratamento com antagonista de receptores α_2 adrenérgicos (RX821002). A magnitude da resposta pressora em resposta à NA na ASL é aumentada pelo pré-tratamento i.v. com o bloqueador ganglionar (pentolínio) e foi significativamente reduzida pelo pré-tratamento i.v. com antagonista dos receptores vasopressinérgicos do tipo 1. As respostas cardiovasculares da NA na ASL também não foram observadas em animais hipofisectomizados, sugerindo que o mecanismo periférico envolvido nestas respostas cardiovasculares, é a liberação periférica de vasopressina. Foi verificado também neste trabalho que a microinjeção de NA na ASL em animais com deservação sino-aórtica, causou resposta pressora sem o acompanhamento da bradicardia, ao contrário dos ratos falso operados, que apresentaram resposta bradicárdica concomitante com o aumento na pressão arterial, confirmando que a bradicardia é ocasionada em reflexo

ao aumento na pressão arterial.

Como estrutura final participando nesta via, foi investigada a participação do núcleo paraventricular (NPV) e núcleo supraóptico (NOS) nestas respostas desencadeadas pela injeção de NA na ASL. O bloqueio de sinapses no NPV com cloreto de cobalto (0,1nmol/100nl), praticamente bloqueou a resposta pressora e a bradicardia desencadeadas pela microinjeção de NA na ASL, enquanto que o cobalto no NSO não altera as respostas, sugerindo que NPV é o principal núcleo hipotalâmico responsável pela liberação de vasopressina em resposta à NA na ASL. Ainda, o pré-tratamento do NPV com 2nmol/ 100 nL de NBQX, um antagonista seletivo dos receptores glutamatérgicos não-NMDA, reduziu as respostas cardiovasculares causadas pela NA na ASL, sugerindo que esses receptores no NPV estão envolvidos nestas respostas cardiovasculares da NA na ASL.

Sendo a vasopressina periférica responsável pela mediação da resposta cardiovascular desencadeada pela NA na ASL, e visto que a ASL não se conecta diretamente com os núcleos hipotalâmicos secretores de vasopressina, passamos a investigar o envolvimento de outras estruturas cerebrais nesta via. O bloqueio reversível de sinapses na banda diagonal de Broca (BDB) com cloreto de cobalto potencializou a resposta pressora causada pela microinjeção de NA na ASL de ratos, sugerindo que a BDB tem um papel inibitório sobre a via ativada pela microinjeção de NA na ASL. O conjunto de dados nos sugere que a ativação de receptores noradrenérgicos na ASL modula o controle cardiovascular e neuroendócrino, fazendo a integração entre eles. Além disso, os resultados sugerem que existe uma via descendente ativada pela microinjeção de NA na ASL, e que essa via termina principalmente no NPV do hipotálamo que é um núcleo responsável pela síntese de vasopressina.

FISIOLOGIA

RESPOSTA HIPERTENSORA À OCLUSÃO BILATERAL DE CARÓTIDAS EM CAMUNDONGOS ACORDADOS: PAPEL DOS BARORRECEPTORES E QUIMIORRECEPTORES PERIFÉRICOS

Renata Maria Lataro

Orientador: Prof. Dr. Rubens Fazan Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/08/2007

Os recentes avanços na manipulação de genes têm tornado o camundongo a espécie de referência em estudos dos fatores moleculares e genéticos envolvidos na regulação de funções fisiológicas e na fisiopatogenia de doenças. Entretanto, dificuldades técnicas, principalmente em função do pequeno porte e intensa atividade destes animais, fazem com que muito do conhecimento obtido em espécies de experimentação como o rato, ou outras espécies maiores, ainda não se encontre disponível em camundongos, normais ou geneticamente manipulados.

O objetivo deste estudo foi avaliar o padrão da resposta pressora à oclusão bilateral das carótidas (OBC), bem como a contribuição dos barorreceptores (aórticos e carotídeos) e quimiorreceptores periféricos nesta resposta, em camundongos acordados. Camundongos C57Bl (~30 g) foram anestesiados (tribromoetanol, 250 µg/g, ip) e implantados com oclusores pneumáticos ao redor das carótidas comuns e cânula na artéria femoral para registro da pressão arterial (PA). Alguns camundongos foram estudados intactos (n=6) enquanto outros foram submetidos à desnervação seletiva dos barorreceptores carotídeos (DC, n=5), ou aórticos (DA, n=7), ou ao rompimento da artéria nutridora do corpúsculo carotídeo (ANC-X, n=6), com o objetivo de inativar apenas quimiorreceptores carotídeos. No dia seguinte, após o registro basal da PA (mmHg), camundongos intactos foram submetidos à OBC com duração de 60 s. Nos demais grupos, a OBC foi mantida por 30s.

Nos animais intactos, a PA se elevou imediatamente

após o início da OBC, atingindo um platô (40±5) em 10±2s, que se manteve até o final da oclusão.

Camundongos com DA apresentaram uma resposta hipertensora semelhante à dos intactos (48±3, p=0,054), entretanto, a desnervação carotídea e o rompimento da ANC atenuaram a resposta à OBC (15±3 e 21±3, respectivamente, p<0,05). Não houve diferença entre as respostas apresentadas pelos camundongos com DC ou ANC-X. Ainda para avaliar a participação dos quimiorreceptores periféricos na resposta pressora à OBC, camundongos intactos (n=7), ou com DC (n=6), foram colocados no interior de uma câmara ventilada com ar atmosférico e submetidos à OBC por 30 s.

Após 30 minutos, a câmara passou a ser ventilada com 100% de O₂ e a OBC foi repetida. A pressão parcial de O₂ no sangue arterial, medida em um grupo diferente de camundongos (n=6), foi de 104±2 e 567±6 mmHg com os mesmos respirando ar ou 100% de O₂, respectivamente. A hiperóxia atenuou a resposta hipertensora à OBC em camundongos intactos (30±6 vs. 51±5, p<0,05), mas não nos desnervados carotídeos (20±4 vs. 18±3). Estes resultados indicam que: 1) a resposta hipertensora à OBC em camundongos acordados é em forma de platô; 2) barorreceptores aórticos não desempenham um papel importante em atenuar a resposta pressora à OBC; 3) como a resposta pressora à OBC foi semelhante entre camundongos com ANC-X ou com desnervação completa do seio carotídeo, o rompimento da ANC não foi uma técnica efetiva para inativar apenas quimiorreceptores carotídeos, uma vez que barorreceptores carotídeos também devem ter sido destruídos neste procedimento cirúrgico; 4) o aumento reflexo da PA em resposta à OBC é mediado por baro e quimiorreceptores carotídeos.

EFEITOS DOS GLICOCORTICÓIDES NA SACIEDADE MEDIADA PELA ATIVAÇÃO DO NÚCLEO DO TRATO SOLITÁRIO

Ernane Torres Uchoa

Orientadora: Profa. Dra. Lucila Leico K. Elias

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/08/2007

A ingestão alimentar é controlada por sinais de adiposidade, como leptina e insulina, e por sinais de sacieda-

de. Os sinais de saciedade determinam o tamanho da refeição e compreendem a ativação dos quimiorreceptores estimulados pelos nutrientes, a distensão gástrica e duodenal promovida pela presença do alimento, bem como hormônios liberados em resposta à alimentação. As informações de saciedade são conduzidas por aferências vagais ao nú-

cleo do trato solitário (NTS). Dentre os hormônios liberados durante a refeição, a colecistocinina (CCK) tem sido estudada por ser um potente agente anorexígeno. Além disso, a CCK tem importante função em ativar o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA). Os glicocorticóides são o produto final do eixo HHA, e desempenham importante papel no controle da homeostase energética, como evidenciada pela redução da ingestão alimentar após a adrenalectomia. Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito dos glicocorticóides na ativação neuronal do NTS induzida pela ingestão alimentar e após estímulo com CCK. Para isto, ratos Wistar foram submetidos à cirurgia fictícia (grupo *Sham*) ou adrenalectomia. Os animais adrenalectomizados foram divididos em dois grupos: animais que receberam reposição com corticosterona (B) na água na dose de 25 mg/L (grupo ADX+B) e animais sem reposição hormonal (grupo ADX). A ingestão alimentar, o peso corporal e o conteúdo de tecido adiposo retroperitoneal e epididimal foram avaliados nesses grupos, 7 dias após o procedimento cirúrgico. Um outro subgrupo de animais, no sexto dia pós-cirúrgico, foi mantido em jejum de 16 horas, quando a dieta foi reapresentada para avaliação da ingestão alimentar. Outro subgrupo de animais desse protocolo experimental foi submetido ao mesmo procedimento de jejum prévio de 16 horas, sendo anestesiado e perfundido antes ou 2 horas após a realimentação. O tecido cerebral obtido foi processado para imunistoquímica para Fos e tirosina hidroxilase (TH) no NTS. Adicionalmente, outros grupos de animais *Sham*, ADX e ADX+B, após 16 horas de jejum, receberam injeção de CCK (3,5 mg/Kg i.p.) ou veículo (NaCl 0,9% i.p.). Este protocolo experimental foi utilizado para a verificação da ingestão alimentar 2 horas após as injeções, e também, em um outro subgrupo de animais, para obten-

ção de tecido cerebral após anestesia e perfusão, 2 horas após as injeções. A ADX reduziu a ingestão alimentar diária e o ganho de peso corporal, em relação ao grupo *Sham*, e este efeito foi revertido pela reposição com corticosterona aos animais adrenalectomizados. Além disso, houve redução no peso dos tecidos adiposos do grupo ADX em relação aos grupos *Sham* e ADX+B. Após o jejum de 16 horas, o grupo ADX apresentou menor ingestão alimentar em relação aos animais *Sham* e ADX+B. A realimentação induziu um aumento na imunorreatividade de Fos e Fos/TH nos grupos *Sham*, ADX e ADX+B. Nos animais adrenalectomizados essa imunorreatividade foi maior que nos grupos *Sham* e ADX+B. A injeção de CCK induziu menor ingestão alimentar nos grupos *Sham* e ADX+B, quando comparada à injeção de veículo. No entanto, no grupo ADX não houve diferença na ingestão alimentar, na comparação do tratamento com CCK e veículo. Houve aumento da imunorreatividade de Fos e Fos/TH no NTS nos grupos *Sham*, ADX e ADX+B após o tratamento com CCK, quando comparados com os respectivos grupos tratados com veículo. Não houve diferença na imunorreatividade para Fos e Fos/TH no NTS, após a injeção de CCK, entre os grupos *Sham*, ADX e ADX+B. Os resultados obtidos demonstram que a adrenalectomia promove um quadro de hipofagia, associado à maior expressão de Fos e Fos/TH no NTS em resposta à alimentação. A ADX reduz a sensibilidade aos efeitos anorexígenos da CCK, no entanto, a ativação neuronal no NTS induzida pela CCK não é alterada pela ausência de glicocorticóides. O conjunto dos dados sugere que na ausência de glicocorticóides, além da CCK, outros sinais relacionados à ingestão alimentar devem participar no controle da saciedade mediada pela ativação do NTS, contribuindo para a menor ingestão alimentar após a ADX.

EFEITO DA OVARIECTOMIA E DO TRATAMENTO COM ESTRÓGENO SOBRE A MODULAÇÃO AUTÔNOMICA CARDIOVASCULAR EM RATAS HIPERTENSAS

Daniel Penteado Martins Dias

Orientador: Prof. Dr. Rubens Fazan Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 10/08/2007

Doenças cardiovasculares são a principal causa de morte de homens e mulheres adultas. A literatura indica haver dimorfismo sexual quanto à ocorrência de eventos cardiovasculares, já que mulheres pré-menopausa apresentam menor risco cardiovascular, quando comparadas a homens de mesma idade. Entretanto, após entrada na menopausa este dimorfismo desaparece. Diversas evidências indicam haver efeito do estrógeno no sistema cardiovascular (SCV), porém, resultados pouco conclusivos sobre os

mecanismos envolvidos, mostrando efeitos benéficos, neutros ou maléficis do estrógeno sobre o SCV têm sido mostrados. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar, em ratas normotensas ou espontaneamente hipertensas (SHR), os efeitos da ovariectomia (OVX), e da administração crônica de estrógeno, sobre a pressão arterial (PA) e a modulação autonômica cardíaca, importantes fatores de risco cardiovascular. Ratas Wistar ou SHR foram submetidas à OVX ou cirurgia para retirada fictícia dos ovários. Após 1 semana as ratas começaram a ser tratadas com benzoato de estradiol (10 µg/kg/dia, sc), ou veículo (óleo de milho), diariamente, por 21 dias. Dois dias antes dos experimentos, as ratas foram implantadas com eletrodos para registro de eletrocardiograma (ECG) e um catéter na veia femoral.

Após registro basal do ECG, as ratas receberam atropina (2 mg/kg, iv) seguida de propranolol (4 mg/kg, iv) e, no dia seguinte, receberam os bloqueadores autonômicos na ordem inversa. Ao término do segundo dia de registro, as ratas foram implantadas com um catéter na arterial femoral. Após 24 horas, a PA foi registrada e os animais sacrificados por sobredose de anestésico. Os intervalos entre sucessivas ondas R do ECG foram determinados e séries, batimento a batimento, de frequência cardíaca (FC) foram geradas. Para análise da variabilidade da FC (HRV), as séries de FC tiveram seu espectro calculado pela transformada rápida de Fourier, e integrados em bandas de baixa (LF: 0,2 - 0,75 Hz) e alta frequência (HF: 0,75 - 3 Hz). Ratas Wistar tiveram, como esperado, menor PA basal (98 ± 4 vs. 150 ± 6 mmHg) e menor efeito simpático (bradicardia pós propranolol: 19 ± 3 vs. 42 ± 5 bpm) que as SHR. A FC e PA basal, assim como o tono autonômico cardíaco não foram afetados pela OVX ou pelo tratamento com estrógeno nas ratas Wistar. Entretanto, o estrógeno nas SHR submetidas à OVX promoveu aumento da FC basal (450 ± 18 vs. 369 ± 9

bpm) e do efeito simpático (100 ± 9 vs. 45 ± 7 bpm), quando comparadas às SHR OVX tratadas com veículo. A razão entre as potências do espectro de FC nas bandas de LF e HF (LF/HF) foi maior nas SHR controle em relação às ratas Wistar ($0,63 \pm 0,1$ vs. $0,23 \pm 0,03$). A OVX não alterou a razão LF/HF dos espectros de FC das SHR ou das ratas Wistar. Entretanto, o tratamento diário com estradiol elevou a razão LF/HF dos espectros de FC, tanto nas ratas Wistar ($0,48 \pm 0,08$) como nas SHR ($0,98 \pm 0,11$). Nos espectros de FC a banda de LF é fortemente associada à modulação simpática cardíaca, enquanto que a de HF, à atividade vagal sobre o coração. Assim, a razão LF/HF dos espectros de FC é considerada um forte indicador de balanço simpato-vagal cardíaco. Os resultados do presente estudo sugerem: (1) fêmeas SHR apresentam uma maior modulação simpática cardíaca em relação às ratas Wistar; (2) A OVX não afeta o tono autonômico cardíaco em ratas das linhagens Wistar e SHR; (3) O tratamento com estrógeno parece aumentar o efeito simpático para o coração em ambas as linhagens de ratas estudadas.

AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA E FUNÇÃO RENAL EM RATOS SUBMETIDOS AO AUMENTO DA INGESTÃO DE SÓDIO NO PERÍODO PRÉ-NATAL E AMA- MENTAÇÃO COM NEFRECTOMIA 5/6

Evelyn Cristina Santana Marin

Orientadora: Profa. Dra. Terezila Machado Coimbra
Dissertação de Mestrado apresentada em 05/09/2007

Filhotes de ratas submetidas ao aumento de ingestão de sódio durante a gravidez apresentam ausência da resposta do sistema renina angiotensina (SRA) à sobrecarga de sódio. O SRA contribui para progressão da lesão renal no modelo de nefrectomia 5/6. Esse estudo visa verificar o efeito da sobrecarga de sódio na gestação e amamentação na evolução da lesão renal no modelo de nefrectomia 5/6. Utilizaram-se 48 ratos (Wistar, machos) de mães que receberam salina (NaCl 0,15M) ou água na gestação e amamentação. Os ratos foram submetidos à nefrectomia 5/6 ou cirurgia fictícia aos 60 dias de idade e divididos nos grupos: S: *sham*, mães receberam água; SS: *sham*-salina, mães receberam salina; NE: nefrectomizados, mães receberam água; NES: nefrectomizados-salina, mães receberam salina. A pressão arterial sistólica (PS) e albuminúria foram avaliadas antes e após a cirurgia. A taxa de filtração glomerular (TFG) foi determinada aos 120 dias da cirurgia e os rins retirados para histologia. A análise dos dados foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn (albuminúria, histologia) e os demais dados foram submetidos à análise de variância e pós-teste de Newman-Keuls.

Os valores foram expressos como média±EPM ou mediana e percentis (25-75%). Os filhotes de mães que receberam salina apresentaram aumento da PS (mmHg) aos 60 dias de idade em relação ao controle (131 ± 3 ; 114 ± 3 , respectivamente). Não houve diferença na PS até 90 dias após a cirurgia entre os grupos S e SS (124 ± 4 ; 133 ± 2 , respectivamente) e entre os grupos NE e NES (182 ± 12 ; 189 ± 23 , respectivamente). Os ratos dos grupos S e SS não apresentaram diferença na albuminúria (mg/24h, $0,67$; $0,82$, respectivamente), não houve diferença também na albuminúria dos ratos dos grupos NE e NES (126 ; 98 , respectivamente) aos 120 dias. A TFG (ml/min/100g) dos ratos do grupo S foi semelhante a do SS ($0,44 \pm 0,04$; $0,52 \pm 0,03$, respectivamente) e a dos ratos do grupo NE foi também semelhante a do NES ($0,15 \pm 0,04$; $0,15 \pm 0,03$, respectivamente). O escore para esclerose glomerular dos ratos do grupo SS ($0,06$) foi maior em relação ao grupo S ($0,00$) e entre os grupos NE ($0,29$) e NES ($0,67$) não houve diferença. As lesões tubulointersticiais também foram maiores no grupo SS ($1,00$) do que no grupo S ($0,00$), não ocorrendo diferença entre os grupos NE ($2,00$) e NES ($3,00$). A sobrecarga de sódio na gravidez e lactação pode provocar alterações estruturais nos rins dos filhotes adultos. Contudo, a evolução da nefrectomia 5/6 foi semelhante nos dois grupos, sugerindo que a regulação renal local da angiotensina II pode envolver mecanismos diferentes da sistêmica.

ENVOLVIMENTO DE CIRCUITOS OPIOIDÉRGICOS E GABAÉRGICOS DO NÚCLEO MAGNO DA RAFE E SUA CONEXÃO COM A ÁREA PARABRAQUIAL VENTRAL NA MODULAÇÃO DAS RESPOSTAS DE IMOBILIDADE TÔNICA E NOCICEPTIVA EM COBAIAS

Luis Felipe Souza da Silva

Orientadora: Profa. Dra. Leda Menescal de Oliveira

Tese de Doutorado apresentada em 11/09/2007

A imobilidade tônica (IT) é uma resposta defensiva inata, caracterizada por um estado de profunda inatividade física e relativa falta de responsividade ao meio ambiente. Alguns estudos têm demonstrado que os animais submetidos à IT apresentam antinocicepção mediada pela liberação de opióides endógenos. O núcleo magno da rafe (NMR) tem sua função intimamente relacionada com a modulação de respostas antinociceptivas. Evidências apontam para a participação de circuitos GABAérgicos e opioidérgicos do NMR na coordenação de respostas nociceptivas. Além disso, foi demonstrado que a microinjeção de agonistas colinérgicos no NMR promoveram antinocicepção e redução na duração da IT. Alguns trabalhos sugerem que essas respostas mediadas pela estimulação colinérgica do NMR possivelmente dependem de suas conexões com a área parabraquial ventral (PBv). O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da interação opioidérgica e GABAérgica no NMR na modulação das respostas de IT e da vocalização induzida pela aplicação de um estímulo elétrico, em cobaias. Além disso, verificar se as respostas comportamentais de IT e antinociceptivas observadas após a estimulação colinérgica do NMR dependem de suas conexões com a PBv.

Os resultados do presente trabalho demonstraram que a microinjeção de morfina (4,4 nmol/ 0,2 µl) e de bicuculina (0,4 nmol/ 0,2 µl) no NMR, causaram um aumento na duração dos episódios de IT e antinocicepção em cobaias.

Por outro lado, a microinjeção de muscimol (0,5 nmol) no mesmo sítio promoveu uma redução na duração da IT e hiperalgesia. Além disso, ambas as respostas produzidas pela administração de morfina no NMR foram bloqueadas pela microinjeção prévia de naloxone (2,7 nmol/0,2 µl) ou muscimol (0,25 nmol) no NMR. Os experimentos realizados com o objetivo de avaliar a conexão funcional entre o NMR e a PBv nas respostas de IT e vocalização demonstraram que a microinjeção de carbacol (CCh) no NMR produziu uma redução na resposta defensiva de IT e antinocicepção.

Além disso, a inativação funcional prévia da área PBv (com lidocaína) bloqueou ambas as respostas mediadas pela microinjeção de CCh no NMR. Esses dados foram reforçados pelos resultados do estudo neuroanatômico, o qual demonstrou a presença de projeções do NMR para a PBv.

Assim, os nossos resultados sugerem que a ativação de receptores opióides no NMR tem uma ação facilitatória na modulação da resposta de IT, enquanto que a neurotransmissão GABAérgica atua inibindo essa resposta. Além disso, a ação dos opióides possivelmente ocorre por meio da inibição de interneurônios GABAérgicos tonicamente ativos. As alterações comportamentais observadas indicam que o NMR modula tanto respostas comportamentais defensivas quanto nociceptivas, e a existência de tipos celulares funcionalmente distintos fornece um substrato neural que permite um controle bi-direcional das respostas moduladas por essa estrutura. Além disso, verificamos que a antinocicepção e a redução da IT mediadas pela estimulação colinérgica do NMR dependem da conexão do NMR com a área PBv.

EFEITO DA HIPERGLICEMIA AGUDA SOBRE A ATIVIDADE DOS NERVOS DEPRESSOR AÓRTICO E SIMPÁTICO RENAL DO RATO

Domitila Augusta Huber

Orientador: Prof. Dr. Hélio César Salgado

Tese de Doutorado apresentada em 14/09/2007

O objetivo do presente estudo foi investigar, em ratos Wistar normais, o efeito da hiperglicemia aguda sobre a atividade dos nervos depressor aórtico (NDA) e simpático renal (NSR), e sobre o controle barorreflexo da frequência cardíaca (FC).

A atividade do NDA foi registrada sob anestesia de pentobarbital sódico, simultaneamente com a PA (PA). A

hiperglicemia foi induzida por meio da administração endovenosa de solução de glicose 30%, em bolus (0,25 mL), seguida de infusão contínua (1 mL/h) durante 30 min. Animais tratados com solução de manitol 30%, ou salina 0,9%, foram utilizados como grupos controles. A função barorreceptora foi estudada por meio da curva de PA versus atividade do NDA, e, também, por meio da análise espectral cruzada entre PA média (PAM) e atividade do NDA foi calculada a magnitude da função de transferência (razão da potência entre a PAM e a atividade do NDA) a qual representa o ganho da atividade do NDA. A análise espectral cruzada foi

aplicada durante oscilações de baixa frequência (BF) da PA, induzida por meio da retirada e reinfusão de sangue na artéria femoral, a fim de simular a modulação simpática sobre o tônus vascular, e, também, durante as oscilações de alta frequência (AF) da PA decorrentes da respiração.

Os ratos tratados com glicose apresentaram um aumento da glicemia, enquanto os ratos tratados com salina, ou manitol, apresentaram níveis normoglicêmicos. A osmolaridade plasmática aumentou com a infusão de glicose, ou manitol, e não foi afetada pela infusão de salina. A PAM não foi afetada por nenhuma das substâncias infundidas. O ganho do NDA calculado por meio da curva sigmoidal foi semelhante entre os ratos tratados com salina, glicose ou manitol. A magnitude da função de transferência, obtida pela análise espectral cruzada entre PAM e atividade do NDA, não foi alterada com a infusão de salina, glicose ou manitol, durante as oscilações da PA de BF e, também, de AF.

O registro do NSR foi realizado em ratos acordados, 6 a 8 horas após o procedimento cirúrgico. Os animais receberam administração endovenosa de solução de glicose 50%, ou solução de manitol 30%, em bolus (0,25 mL), seguida de infusão contínua (2 mL/h) durante 30 min. A atividade do NSR foi estudada por meio da quantificação de sua atividade espontânea (% basal), por meio da curva de PA versus neural, e, também, por meio da análise espectral cruzada entre a PAM e atividade do NSR foi calculada a magnitude da função de transferência (razão da potência entre a PAM e a atividade do NSR) durante as oscilações de BF

e AF da PA. Também foi avaliado, nos animais acordados, o controle barorreflexo da FC, por meio da curva de PAM versus FC, e, também, por meio da análise espectral cruzada entre a PA sistólica e o intervalo de pulso, durante as oscilações da PA de BF.

Os resultados demonstraram uma conspícua hiperglicemia e hiperosmolaridade após a infusão de glicose, enquanto a infusão de manitol aumentou, apenas, a osmolaridade. A PAM não se alterou com a infusão de nenhuma das substâncias. A atividade média do NSR se apresentou reduzida após 10 min de infusão de glicose, e assim permaneceu ao longo dos 30 min de registro. Manitol não alterou a atividade média do NSR. A faixa de atividade do NSR, obtida pela curva de PAM versus atividade neural, foi reduzida após 30 min de infusão de glicose, enquanto o ganho não foi alterado. Os parâmetros examinados acima não foram alterados pelo manitol. A magnitude da função de transferência, obtida pela análise espectral cruzada entre PAM e atividade do NSR foi semelhante entre os ratos tratados com glicose, ou manitol, durante as oscilações da PA de BF, e, também, de AF. O controle barorreflexo da FC não foi alterado pela glicose, ou manitol.

Conclui-se, por meio de dois métodos distintos de análise da sensibilidade da atividade barorreceptora, que a atividade do NDA não foi alterada pela hiperglicemia aguda induzida em ratos anestesiados. Entretanto, a hiperglicemia aguda induzida em ratos acordados promoveu redução da atividade espontânea do NSR, sem afetar o controle barorreflexo, tanto da atividade do NSR, como da FC.

GENÉTICA

PESQUISA DO PADRÃO DE *IMPRINTING* GENÔMICO EM CRIANÇAS CONCEBIDAS POR TÉCNICAS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

Marcus Vinicius de Matos Gomes

Orientadora: Profa Dra. Ester Silveira Ramos

Tese de Doutorado apresentada em 06/07/2007

O *imprinting* genômico é um mecanismo regulado epigeneticamente, segundo o qual os genes se expressam de acordo com sua origem parental (paterna ou materna). Os mecanismos controladores do *imprinting* ainda não são completamente conhecidos, entretanto, a metilação diferencial do DNA é um importante fator e provavelmente o principal controlador. Experimentos em modelos animais revelaram uma vulnerabilidade dos genes regulados por *imprinting* aos procedimentos utilizados na reprodução

assistida (TRA). Estudos epidemiológicos corroboram com esta hipótese ao relatarem aumento na incidência da síndrome de Beckwith-Wiedemann (SBW), uma doença congênita caracterizada por alterações do *imprinting* genômico, em crianças concebidas por TRA. Foram avaliados, no presente trabalho, o padrão de metilação de diferentes nucleotídeos citosinas (nt), seguidos de guaninas (CpGs), mapeados nas regiões controladoras de *imprinting* KvDMR (nt. 67.334, nt. 67.351, nt. 67.476, nt. 67.482, nt. 67.607 e nt. 67.631) e H19DMR (nt. 1.313, nt. 1.212, nt. 1.387 e nt. 1.500) pelos métodos de PCR específica para metilação (MS-PCR), digestão enzimática sensível à metilação associada à PCR em Tempo Real (DESM-RT), digestão enzimática sensível à

metilação associada à PCR convencional (DESM-C) e reação combinada de bissulfito de sódio e restrição enzimática (COBRA) em 68 indivíduos, sendo 18 pacientes clinicamente normais concebidos por TRA, um paciente portador de SBW concebido por TRA, e 49 pacientes concebidos naturalmente, sendo 15 portadores de SBW, 10 portadores de hemihiperplasia isolada (HHI), 4 portadores de macrossomia sem diagnóstico clínico definido (MSDC) e 20 indivíduos hígidos (controles). Foi observada hipometilação nos nt. 67.334, nt. 67.351, nt. 67.476 e nt. 67.482 da KvDMR em três pacientes concebidos por TRA, em três pacientes com SBW e em um com HHI, pelo método da MS-PCR. Padrão de metilação normal (monoalélico) foi observado nos irmãos gêmeos (dizigóticos) dos três pacientes concebidos por TRA que apresentaram hipometilação da KvDMR. Análise quantitativa da metilação pelo método DESM-RT revelou hipometilação nos nt. 67.607 e nt. 67.631 em todas as amostras, incluindo os controles. Hipermetilação nos nt. 1.212, nt. 1.387 e nt. 1.500 da H19DMR foi observada em dois pacientes concebidos por TRA e em quatro indivíduos con-

troles pelo método DESM-C embora tenha sido observado padrão normal de metilação no nt. 1.313 pelo método COBRA. Os diferentes nts mapeados na KvDMR e na H19DMR podem apresentar padrão discordante de metilação. Pacientes concebidos por TRA clinicamente normais podem apresentar padrão de hipometilação da KvDMR similar ao padrão relatado exclusivamente em portadores de SBW ou HHI. Este resultado corrobora com a hipótese de vulnerabilidade à TRA, porém também demonstra que esta alteração, isoladamente, não é capaz de causar o espectro clínico de SBW ou HHI, sugerindo que o mecanismo etiológico destas doenças seja ainda mais complexo e envolva outras alterações moleculares. Gêmeos dizigóticos concebidos por TRA podem apresentar padrão discordante de metilação na região controladora do *imprinting* KvDMR. Hipermetilação nos nt. 1.212, nt. 1.387 e nt. 1.500, adjacentes ao sexto sítio de ligação da CTCF na H19DMR, pode estar presente em células de cordão umbilical ou placenta de indivíduos controles clinicamente normais assim como em pacientes concebidos por TRA.

CARACTERIZAÇÃO *in silico* E ANÁLISE EPIGENÉTICA EM BOVINOS PRODUZIDOS *in vivo* E POR TRANSFERÊNCIA NUCLEAR DA REGIÃO HOMÓLOGA À 11p15.5 ENVOLVIDA COM A SÍNDROME DE BECKWITH-WIEDEMANN EM HUMANOS

Álvaro Fabrício Lopes Rios

Orientadora: Profa. Dra. Ester Silveira Ramos

Tese de Doutorado apresentada em 24/08/2007

Epigenética é o ramo da biologia que estuda as características herdáveis não associadas a alterações na sequência de nucleotídeos do DNA. Um dos principais processos epigenéticos estudados é a metilação do DNA, a qual está associada a diversos mecanismos de regulação gênica, entre eles o *imprinting* (marcação) genômico. Esse tipo de regulação caracteriza-se pela expressão parental específica dos *loci* associados e à metilação diferencial em regiões regulatórias conhecidas como centros de *imprinting* (ICs). Alterações desse mecanismo estão relacionadas com síndromes de hipo e hiper crescimento em humanos e animais domésticos, desenvolvimento de tumores, doenças associadas com alterações de comportamento e já foram detectadas em indivíduos concebidos por técnicas de reprodução assistida e em células-tronco embrionárias derivadas de diferentes espécies. Essas duas últimas evidenciam que genes marcados são particularmente lábeis ao estresse induzido por manipulação celular *in vitro*. As possíveis causas dessas epimutações não estão completamente esclarecidas. Os bovinos parecem ser um melhor modelo comparativo no estudo dessas alterações, evitando a utilização de embriões humanos. No entanto, existem poucas

seqüências descritas de genes marcados nessa espécie. No presente estudo, duas regiões diferencialmente metiladas (H19DMR e KvDMR1) foram caracterizadas em bovinos em termos de elementos conservados (EC), enriquecimento de elementos repetitivos (ERs) e padrões de metilação. A análise de ECs e ERs foi realizada utilizando-se os programas VISTA e *RepeatMasker*, respectivamente. Os padrões de metilação para ambas as DMRs foram analisados utilizando-se o ensaio de COBRA (do inglês *C*OMBined *B*isulfite *R*estriction *A*nalysis) em DNA de sangue periférico e espermatozoides em amostras de animais concebidos *in vivo*. Também foi pesquisada a possível ocorrência de perda de *imprinting* em uma amostra de quatro animais clonados. A análise dos resultados indicou que os padrões de *imprinting* observados nas DMRs bovinas estudadas são semelhantes aos descritos para regiões homólogas em outras espécies de mamíferos. As características genômicas mostraram uma maior similaridade nas regiões analisadas entre bovinos e humanos do que entre humanos e camundongos. Não foram encontradas diferenças entre o padrão de *imprinting* de animais gerados naturalmente ou por transferência nuclear. Os resultados desse trabalho poderão auxiliar em futuras pesquisas de genes marcados em bovinos, além de contribuir para o melhoramento na utilização dessa espécie como modelo de comparação para desenvolvimento humano.

VARIABILIDADE GENÉTICO-MORFOLÓGICA EM POPULAÇÕES NEOTROPICAIS DE *Apis mellifera*

Tiago Maurício Franco

Orientador: Prof. Dr. Lionel Segui Gonçalves

Tese de Doutorado apresentada em 24/08/2007

Desde o início do processo de africanização das abelhas *Apis mellifera* nas Américas em 1957, as abelhas africanizadas têm sido alvo de muitos estudos, sendo a variabilidade populacional um destes focos. Neste trabalho, populações Neotropicais de *Apis mellifera* do Brasil e do Panamá foram avaliadas quanto a sua variabilidade morfológica por morfometria tradicional, morfometria geométrica e pelo software de identificação automática de abelhas ABIS (Automatic Bee Identification System). Foram ainda avaliadas quanto à origem do DNA mitocondrial encontrado atualmente nas populações, bem como mudanças temporais nos perfis morfométricos e de DNA mitocondrial nas populações de Ribeirão Preto e do Panamá. Os resultados mostram que as populações brasileiras amostradas apresentam um gradiente de variação de tamanho, sendo que as abelhas do sul são significativamente maiores que as do norte do país, assim como as abelhas do princípio do processo de africanização em Ribeirão Preto e no Panamá são maiores que as populações atuais. Essas diferenças de tamanho podem refletir diferentes graus de mistura das populações ancestrais e também fatores ecológicos e ambientais. Entretanto, nenhuma correlação significativa foi encontrada entre as medidas de tamanho de asa e altitude da localidade amostrada, fato este que nos indica que em nossas amostras, a variável altitude não interferiu no tamanho das asas das abelhas. No que diz respeito à variabilidade do formato das nervuras das asas das abelhas africanizadas, esta se

mostra pequena e, apesar de distinto do formato de *Apis mellifera scutellata*, o formato das nervuras das abelhas africanizadas é mais parecido com o destas abelhas do que das demais subespécies formadoras do híbrido. O DNA mitocondrial das populações brasileiras de abelhas africanizadas apresentou-se quase que totalmente como sendo de origem africana à exceção de três colônias que apresentaram DNA mitocondrial como sendo de origem de subespécies do leste europeu. Quando a morfometria geométrica e o ABIS foram testado no quesito identificação populacional, ambos mostraram um desempenho muito fraco em identificar as populações de abelhas africanizadas, provavelmente devido ao alto fluxo gênico entre os grupos. Entretanto, quando tratamos de grupos mais distantes, como viii subespécies e populações isoladas, como é o caso da população de abelhas italianas (*A. m. ligustica*) de Fernando de Noronha, os dois métodos morfométricos se mostraram muito eficientes, com as taxas de acerto girando entre 85% e 100% na identificação de colônias de diferentes subespécies e da população de Fernando de Noronha. A população de Fernando de Noronha apresentou ainda um perfil morfométrico completamente diferenciado de *Apis mellifera ligustica*, subespécie que foi introduzida na ilha em 1984, podendo estas diferenças serem resultado de *inbreeding*, adaptação ambiental ou mesmo efeito gargalo das matrizes introduzidas. Desta maneira, as novas metodologias morfométricas utilizadas neste trabalho, embora não sejam precisas ou as mais apropriadas para identificar o grau de africanização das populações de abelhas africanizadas, se mostram muito promissoras no estudo da identificação das subespécies de *Apis mellifera* e mesmo de outras espécies de abelhas.

RNAs DE FITA DUPLA OFERECIDOS NA DIETA DE LARVAS CAUSAM ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS NO DESENVOLVIMENTO DAS CASTAS DE *Apis mellifera*

Francis de Moraes Franco Nunes

Orientadora: Profa. Dra. Zilá Luz Paulino Simões

Tese de Doutorado apresentada em 31/08/2007

Abelhas adultas produzem vitelogenina, a principal proteína da hemolinfa. Ela está envolvida na reprodução, comportamento, imunidade, longevidade e regulação da organização social. A interferência por RNA interfere e é a mais promissora ferramenta para estudos de função gênica, baseada na introdução de duplex de RNA (dsRNA) que induz a degradação de transcritos alvo-específicos. Injeção de dsRNA altera a transcrição de vitelogenina, mas evidências apontam que a ativação do sistema imune em

abelhas seja um efeito colateral desta manipulação. Desenvolvemos um método para o silenciamento do gene codificador de vitelogenina no desenvolvimento pós-embrionário, que minimiza os efeitos da manipulação, onde 0,5 µg de dsRNA de vitelogenina (dsVg) ou de GFP (controle exógeno, dsGFP) foi oferecido na dieta natural de larvas de segundo estágio, as quais foram mantidas na colônia. Nosso enfoque principal foi a compreensão dos efeitos do silenciamento pós-transcricional de rainhas e operárias de *A. mellifera*, em especial na fase larval. Operárias adultas reconhecem larvas tratadas e as remove. Mantemos certa distância entre as células de cria que recebiam o tratamento e a remoção de larvas tratadas diminuiu consideravelmente.

A expressão de transcritos de vitelogenina em indivíduos sem tratamento e tratados foi analisada no quinto estágio larval de ambas as castas, bem como em operárias adultas de 7 dias e rainhas recém-nascidas, utilizando-se PCR em tempo real e a expressão do gene codificador de actina como controle endógeno. Em adultos, controles sem tratamento e dsGFP expressaram quantidades similares de transcritos de vitelogenina. Os grupos alimentados com dsVg tiveram expressão reduzida de vitelogenina, a saber: quinto estágio larval de operárias (91%) e de rainhas (71%), operárias de 7

dias (88%) e rainhas recém-nascidas (70%). O silenciamento da vitelogenina não afetou a morfologia dos adultos, mas sim a fisiologia de larvas de ambas as castas, como nos títulos de hormônio juvenil e concentração de proteínas circulantes na hemolinfa. Concluímos que a ingestão de dsRNA é um método não-invasivo que induz silenciamento gênico e, assim, uma ferramenta eficiente para estudos funcionais pós-genoma. Os mecanismos regulatórios do gene codificador de vitelogenina e seu papel na diferenciação de castas estão em discussão.

A CAPACIDADE DE INFEÇÃO DO DERMATÓFITO *Trichophyton rubrum* ESTÁ CORRELACIONADA COM A SINALIZAÇÃO DO pH EXTRACELULAR

Henrique César Santejo Silveira

Orientadora: Profa. Dra. Nilce Maria Martinez Rossi
Tese de Doutorado apresentada em 14/09/2007

Dermatofitoses são comumente causadas por fungos que parasitam pele e unha de humanos, cuja propagação depende do contato entre os hospedeiros infectados e não infectados. Muitos fatores contribuem para a patogenicidade dos dermatófitos, dentre eles, a capacidade de se instalar no ambiente ácido da pele se reveste de importância. Sendo assim, para ser bem sucedido, o dermatófito precisa ter capacidade aderente, germinação e penetração rápida das hifas e, portanto, dispor de uma maquinaria metabólica que atue de forma eficiente em pH ácido. A fim de identificar genes supostamente expressos nos passos iniciais da infecção, submetemos a linhagem H6 do dermatófito *T. rubrum* ao pH ácido por 30 minutos e 1 hora e isolamos dessas condições experimentais os transcritos com elevada expressão, empregando a metodologia de Biblioteca Substrativa Supressiva (SSH). Obtivemos um total de 234 unigenes cujos transcritos revelaram ampla diversidade funcional. Esses transcritos estão envolvidos em 13 proces-

so celulares diferentes, tais como, metabolismo, defesa e virulência, síntese de proteínas e transporte celular. Desse, confirmamos por *Northern blotting*, os genes que expressam as proteínas carboxipeptidase S1, acetamidase, aconitase, dessaturase, a proteína TINA, transportador de aminoácidos, fator de alongamento alfa 1, proteína ribossomal L10, e uma proteína hipotética. Nesses experimentos também foi utilizada a linhagem de *T. rubrum pacC-1*, que tem o seu gene *pacC* rompido, com o objetivo de verificar se estes genes isolados seriam regulados pela proteína PacC. O gene *pacC* codifica uma proteína homóloga ao regulador transcricional PacC/Rim101p da conservada via de sinalização do pH. Verificamos que o gene *pacC* se expressa preferencialmente em pH 8.0 e que embora o padrão de processamento da proteína PacC seja dependente do pH a forma íntegra da proteína PacC foi identificada tanto em pH ácido como alcalino. Por outro lado, o mutante *pacC-1* apresentou diminuída capacidade infectiva em fragmentos de unha humana quando comparado com a linhagem selvagem. Além disto, a atividade queratínolítica do mutante também se mostrou diminuída quando comparada ao controle, confirmando o papel da proteína PacC na capacidade infectiva do *T. rubrum*.

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GENES PROCESSADORES DE DANOS OXIDATIVOS EM PACIENTES COM ALZHEIMER

Douglas Vinicius Nogueira Perez de Oliveira

Orientadora: Profa. Dra. Elza Tiemi Sakamoto Hojo
Dissertação de Mestrado apresentada em 24/09/2007

Uma parcela significativa das lesões na molécula do DNA é causada por espécies reativas de oxigênio e a sua produção excessiva e/ou o funcionamento deficiente dos sistemas celulares antioxidantes, que neutralizam a sua ação, é conhecido como estresse oxidativo. Os danos em células normais são prontamente detectados por um sistema de

defesa e, em consequência, uma rede intrínseca de sinalizações é ativada, sendo que uma das vias resulta na ativação dos mecanismos de reparo do DNA. O reparo por excisão de bases (BER) parece ser a via preferencial de reparo de bases oxidadas, mas existem outras vias de reparo implicadas na reversão do dano oxidativo. A doença de Alzheimer (DA), uma patologia causada particularmente por danos oxidativos, acomete atualmente cerca de 25 milhões de pessoas no mundo, sendo o risco aumentado a partir dos 65 anos de idade. Com isso, a necessidade da identificação de

fatores de risco, além de fatores protetores relacionados à DA, tornou-se de grande importância. Por outro lado, há também a necessidade de estudos em nível molecular, que possam fornecer informações sobre os mecanismos que levam ao desenvolvimento da doença. Nesse sentido, foi realizado no presente trabalho, um estudo de expressão gênica transcricional pelo método de microarranjos de DNA, bem como uma análise por PCR em tempo real para uma série de genes envolvidos na resposta ao dano oxidativo no DNA (percepção de danos e reparo do dano), além de outros genes relacionados à doença. Adicionalmente, foram também avaliadas as quebras na fita dupla de DNA causadas por bases oxidadas, em linfócitos de pacientes de Alzheimer (grau moderado) e indivíduos saudáveis, usando-se métodos de detecção de bases oxidadas (8-oxoGuanina). Entre os vinte genes analisados pelo método de PCR quantitativa em tempo real, apenas a *APOE* mostrou-se induzida, enquanto 19 genes (*ADAM17*, *APEX1*,

APP, *BACE1*, *OGG1*, *ATM*, *ATR*, *TREX1*, *FEN1*, *FANCG*, *RAD17*, *DUSP*, *ERCC1*, *ERCC3*, *ERCC6*, *HUS1*, *RAD9*, *RAD1*, *PRKDC*) foram reprimidos transcricionalmente. Essa repressão verificada para a maior parte dos genes estudados indica que várias vias de sinalização celular ligadas a respostas ao estresse oxidativo, incluindo-se as várias vias de reparo do DNA, podem estar envolvidas na condição DA. Adicionalmente, a análise de expressão gênica por microarranjos de cDNA indicou uma série de 41 genes significativamente modulados ($q < 0,06$) (dentre eles, *NOTCH1*, *MARK3*, *PAK*, *SMC1L1*) mas para a maioria destes não há relatos na literatura sobre uma possível relação com DA. Por essa razão, o método de microarranjos de cDNA aponta novas vias que possam estar alteradas em DA, o que constitui uma informação importante. Em conjunto, os dados obtidos no presente estudo fornecem uma contribuição relevante, que futuramente poderão contribuir em termos de intervenção terapêutica.

EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL EM TECIDO ENDOMETRIAL TÓPICO E LESÕES ENDOMETRIÓTICAS

Daniel Blassioli Dentillo

Orientadora: Profa. Dra. Lucia Regina Martelli

Tese de Doutorado apresentada em 27/09/2007

Perdas gestacionais podem ser determinadas por vários fatores, dentre eles a endometriose, doença ginecológica comum caracterizada pela presença e crescimento de glândulas e estroma endometrial fora da cavidade uterina. Os principais sintomas da doença envolvem, além de problemas de fertilidade, dismenorréia, dispneúria, dor pélvica crônica e irregularidades menstruais. Os locais mais frequentes das lesões endometrióticas são o peritônio e os órgãos pélvicos, principalmente ovários. A incidência da endometriose é difícil de ser determinada devido à grande variabilidade de sintomas e à dificuldade para confirmação diagnóstica, que requer método cirúrgico. Estima-se que 15% da população feminina em idade reprodutiva seja afetada pela doença, sendo sua patogênese pouco conhecida. A hipótese mais aceita é a da menstruação retrógrada, onde os fragmentos endometriais descamados durante a fase menstrual seriam transportados através das tubas uterinas até a cavidade peritoneal com implantação, crescimento e invasão local e de órgãos adjacentes. No entanto, apenas o refluxo não é suficiente para o estabelecimento da doença, sendo necessário que as células endometriais possuam certas características moleculares que favoreçam o aparecimento e a progressão da implantação ectópica. Vários estudos na literatura evidenciam que as principais divergências moleculares entre portadoras e não portadoras de endometriose estão relacionadas a processos envolvidos na apoptose, adesão celular, angiogênese, biosíntese

de estrógeno, sistema imune, além de fatores de crescimento e metaloproteínases. Sendo assim, as pesquisas buscam a investigação de genes que se expressem diferencialmente (maior ou menor expressão) nas células de lesões endometrióticas por meio de várias técnicas. A hibridação subtrativa é uma metodologia de *screening* gênico que compara dois grupos celulares distintos, permitindo isolar moléculas de cDNA representantes do genoma de somente um dos dois grupos, pois remove as seqüências comuns entre eles. A técnica de hibridação subtrativa rápida (*RaSH*) simplifica e torna mais eficiente esse processo de subtração, identificando grande quantidade de seqüências diferencialmente expressas. Com objetivo de determinar possíveis marcadores moleculares para diagnóstico e tratamento da doença, aplicamos a técnica de *RaSH* para identificação de genes com expressão diferencial em 11 amostras de lesões endometrióticas (cinco de origem ovariana e seis de origem peritoneal) e em 11 amostras de tecido endometrial tópico de mulheres sem a doença. Após análise dos dados referentes a 166 seqüências de referência, os genes *HTRA1*, *LOXLI*, *SPARC* e *SSAT* foram selecionados para validação por meio da técnica de RT-PCR quantitativa em tempo real, sendo que apenas os dois primeiros mostraram diferença significativa entre os dois grupos estudados. Os genes *HTRA1* e *LOXLI* apresentaram expressão aumentada em lesões endometrióticas de pacientes afetadas, quando comparada aos níveis de expressão no tecido endometrial de mulheres não afetadas. Os resultados obtidos sugerem que os genes *HTRA1* e *LOXLI* podem ser considerados candidatos a marcadores moleculares para o diagnóstico da endometriose.

GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA**MATURAÇÃO *In Vitro* DE OÓCITOS DE MULHERES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS: COMPARAÇÃO ENTRE DOIS MEIOS DE CULTIVO****Carlos Henrique Medeiros de Araujo**

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Maria dos Reis

Tese de Doutorado apresentada em 13/07/2007

Objetivo: Comparar a eficácia dos meios de cultivo HTF (Human Tubal Fluid) e TCM 199 (Tissue Culture Medium) na maturação *in vitro*.

Métodos: Estudo experimental controlado e randomizado no qual foram avaliadas as taxas de maturação oocitária, fertilização, clivagem e produção de embriões de boa qualidade em 23 ciclos não estimulados de maturação oocitária, com 119 oócitos coletados, de 13 mulheres com Síndrome dos Ovários Policísticos. Os oócitos de cada paciente foram transferidos randomicamente para cada um dos

meios de cultivo sendo que, 61 (51%) foram colocados no meio TCM 199 e 58 (49%) no meio HTF. Os dois meios de cultivo receberam suplementação hormonal.

Resultados: Diferenças significativas foram encontradas entre os meios de cultivo TCM 199 e HTF em relação à taxa de maturação oocitária (82% vs. 56.9%, $p = 0.005$), taxa de fertilização (70% vs. 39.4%, $p = 0.007$) e taxa de produção de embriões de boa qualidade (81.3% vs. 41.7%, $p = 0.023$).

Conclusão: O meio de cultivo HTF embora seja utilizado para manutenção de embriões em técnicas de fertilização assistida e em procedimentos de maturação *in vitro* com ciclos estimulados, não é o meio mais apropriado para maturação de oócitos obtidos de mulheres com Síndrome dos Ovários policísticos em ciclos não estimulados.

QUIMIOTERAPIA NEOADJUVANTE NO CÂNCER DE MAMA: VALOR DA EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS HER2, RE, RP, p21 E p53 COMO INDICADORES DE RESPOSTA E PROGNÓSTICO**Daniel Guimarães Tiezzi**

Orientador: Prof. Dr. Jurandyr Moreira de Andrade

Tese de Doutorado apresentada em 09/08/2007

O estudo foi realizado para avaliar a importância de marcadores biológicos como predição de resposta à quimioterapia neoadjuvante e prognóstico em pacientes com câncer de mama estágio clínico II e III.

Pacientes e métodos: sessenta pacientes foram submetidas a quimioterapia pré-operatória com docetaxel (75mg/m) em combinação com epirrubicina (50 mg/m) em infusão endovenosa no dia 1 a cada 3 semanas após terem sido submetidas a biópsia incisional. Elas receberam quimioterapia adjuvante com CMF ou FEC de acordo com o estado axilar avaliada após a cirurgia definitiva. A resposta clínica e patológica foi avaliada após o tratamento neoadjuvante. Avaliamos a taxa de resposta ao tratamento neoadjuvante e a influência dos parâmetros clínicos e patológicos (RE, RP, p51, p21 e HER-2) na taxa de resposta à quimioterapia neoadjuvante bem como na sobrevida livre de doença e sobrevida global. A média da idade das pacientes foi 50,5 anos e tempo de seguimento médio de 48 meses após o diagnóstico.

Resultados: a taxa de resposta clínica objetiva foi de 76,6% com 5% de resposta patológica completa. Os parâmetros clínicos e histopatológicos não foram capazes de prever a resposta clínica. Em análise multivariada, apenas a superexpressão da proteína HER-2 foi associada com uma redução significativa nas taxas de sobrevida livre de doença e sobrevida global ($p = 0,0007$ e $p = 0,003$, respectivamente).

Conclusão: A expressão das proteínas p53, p21, HER-2, RE e RP pela imunohistoquímica no carcinoma de mama foi positiva em 28,3%, 33,3%, 18,3%, 75% e 53,3%, respectivamente. A combinação de docetaxel e epirrubicina neoadjuvante no câncer de mama reduz de forma significativa a expressão das proteínas p53 e p21 e não altera a expressão da proteína HER-2.

Os fenótipos baseados na expressão proteica não estão relacionados com a predição de resposta à quimioterapia neoadjuvante. A resposta clínica está inversamente correlacionada com o risco de morte pela doença em análise univariada e a superexpressão da proteína HER-2 é o principal fator prognóstico em pacientes com câncer de mama estágio clínico II e III submetidas à quimioterapia neoadjuvante com a combinação de docetaxel e epirrubicina.

EXPRESSÃO GÊNICA DO RECEPTOR DE IGF-1 EM CÉLULAS DA GRANULOSA DO CUMULUS LUTEINIZADAS DE MULHERES NÃO OBESAS, SEM RESISTÊNCIA INSULÍNICA COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS (SOP) TRATADAS E NÃO TRATADAS COM METFORMINA

Laura Ferreira Santana

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Maria dos Reis

Tese de Doutorado apresentada em 09/08/2007

A resistência insulínica, hiperinsulinemia compensatória e o sistema de fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF) são considerados os principais fatores envolvidos na etiopatogenia da SOP. O IGF-1 e a insulina são considerados co-gonadotrofinas na estimulação da esteroidogênese e foliculogênese, todavia o exato papel do IGF-1 no contexto ovariano ainda precisa ser determinado. O objetivo deste estudo foi avaliar a expressão gênica do receptor de IGF-1 em células da granulosa do cumulus luteinizadas de mulheres com SOP e não obesas, sem resistência insulínica tratadas e não tratadas com metformina. Nos hipotetizamos que um dos possíveis mecanismos de ação da metformina nas células da granulosa do cumulus seria via receptor de IGF-1 devido à grande similaridade entre os receptores de insulina e IGF-1.

Casística e Métodos: Foi realizado estudo longitudinal, prospectivo, randomizado composto por três grupos: Doze mulheres com ciclos ovulatórios (grupo controle; idade = $25,33 \pm 4,00$ anos); nove mulheres com SOP (idade = $25,56 \pm 5,29$ anos) e oito mulheres com SOP e tratadas com metformina por 8 semanas na dose 1700 mg/dia (idade = $32,50 \pm 2,62$ anos). Todas as mulheres deste estudo eram não obesas e foram similares em peso, índice de massa corporal, circunferência da cintura, e nenhuma delas apresentava resistência insulínica verificada pelo *Quantitative Insulin_sensitivity Check Index*. Todas as mulheres foram submetidas à estimulação ovariana controlada com gonadotrofinas: hormônio folículo estimulante recombinante (FSHr) e gonadotrofina de mulher menopausada (hMG) com protocolo longo de acetato de leuprolide. As células da granulosa foram obtidas a partir da realização de cortes com microdissecção, dos cúmulos de cada um dos cinco oócitos aspirados dos cinco maiores folículos pré-ovulatórios independentemente do ovário punccionado. Foi avaliada a expressão gênica do receptor IGF-1 dos três grupos de mulheres. O RNA total foi extraído com o “*kit Tripure Isolation Reagent (Roche)*” e foi quantificado usando espectrofotômetro. A RT-PCR foi realizada usando o “*kit Titan One Tube RT-PCR kit (Roche)*”. A semiquantificação foi realizada em duplicata e analisada com o *Software Scion Image (ScionCorp., Frederick, MD)*. Também foram determinadas concentrações no soro e no fluido folicular de es-

tradiol, progesterona, testosterona, FSH, LH, insulina, SHBG e IGF-1 de cada paciente. Para análise estatística foram usados os testes: ANOVA, com pós teste de *Newman-Keuls* e coeficiente de *Pearson*, e os dados foram reportados em média e desvio-padrão. Foi considerado nível de significância de 5%.

Resultados: Observou-se uma tendência à sua maior expressão do receptor de IGF-1 em mulheres com SOP não tratadas com metformina ($33,8 \pm 15,6$) e uma expressão similar naquelas que usaram metformina ($27,5 \pm 10,5$) e no grupo controle ($24,0 \pm 9,0$). Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os três grupos com relação níveis séricos e foliculares de insulina e IGF-1. Porém, foi encontrada correlação positiva entre as concentrações foliculares e as séricas de IGF-1 em todas as mulheres com SOP e também correlação positiva entre as concentrações foliculares e as séricas de insulina nas mulheres com SOP não tratadas com metformina. O número de oócitos ($20,44 \pm 9,35$ vs $13,08 \pm 4,16$ vs $11,50 \pm 2,33$ $P=0,009$), os níveis séricos de estradiol (1.896 ± 1.300 pcg/mL vs $985,20 \pm 396,70$ pcg/mL vs $908,10 \pm 497,40$ pcg/m $P=0,02$) e de testosterona ($1,43 \pm 0,75$ ng/mL vs $0,89 \pm 0,23$ ng/mL vs $0,82 \pm 0,19$ ng/mL $P=0,01$) foram maiores nas mulheres com SOP não tratadas com metformina quando comparadas com as mulheres com ciclos ovulatórios e mulheres com SOP tratadas com metformina, respectivamente.

Conclusões: A tendência à maior expressão gênica do receptor de IGF-1 observada neste estudo no grupo de mulheres com SOP não tratadas com metformina, em associação com os maiores níveis séricos de testosterona/estradiol, número de oócitos obtidos e a correlação positiva encontrada entre os níveis séricos e foliculares de insulina nessas mulheres nos leva a concluir que as mulheres com SOP possivelmente têm uma maior estimulação da esteroidogênese ovariana daquelas que não apresentam esta doença. Os achados similares encontrados neste estudo nas mulheres com SOP tratadas com metformina e naquelas do grupo controle em relação à: a) expressão gênica do receptor IGF-1; b) concentrações séricas e foliculares de estradiol, testosterona, insulina e IGF-1 e c) a resposta ovulatória obtida à estimulação com gonadotrofinas, nos leva a hipotetizar que um dos possíveis mecanismos de ação da insulina no sistema IGF-1 nas células da granulosa do cumulus poderia de ser via mecanismos pós-receptor. Futuras investigações com estudos randomizados controlados serão necessárias para confirmar estas hipóteses.

IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA**EXPLORANDO TRANSCRIPTOMAS DOS CARRAPATOS *Amblyomma cajennense* E *Rhipicephalus sanguineus* PARA A DESCOBERTA DE GENES E ANTÍGENOS****Elen Anatriello**Orientadora: Profa. Dra. Isabel K. F. de Miranda Santos
Dissertação de Mestrado apresentada em 30/07/2007

Os carrapatos são artrópodes hematófagos, vetores de doença. Vacinas são uma alternativa para seu controle, já que os parasitas durante a infestação estimulam as respostas imunes do hospedeiro, as quais são implicadas em sua rejeição. As glândulas salivares do parasita são importantes para adquirir refeições de sangue e para mediar os mecanismos de escape às defesas do hospedeiro.

A fim de elucidar a biologia da interface parasito-hospedeiro e descobrir antígenos protetores para uma vacina multicomponente, foram analisados os transcriptomas das glândulas salivares do carrapato do cavalo, *A. cajennense*, e do carrapato do cão, *R. sanguineus*. Bibliotecas de cDNA foram construídas a partir de glândulas salivares de ambos os carrapatos. Os clones selecionados aleatoriamente foram seqüenciados gerando um total de 1803 ESTs que foram analisados por programas de bioinformática. As ESTs foram automaticamente depura-

das de seqüências de iniciadores e do vetor, agrupadas e comparadas com banco de dados usando programas escritos em Visual Basic 6.0 (Microsoft). Peptídeos sinais, indicativos de função secretória, foram detectados com *Signal P 3.0 Server*. As buscas foram feitas nos bancos de dados NR – proteína (NCBI), GO, KOG, P-fam, SMART, rRNA (NCBI) e MIT-PLA (NCBI) e outros bancos de dados particulares como ACARI (referentes a ácaros) e BMNT (referentes a ESTs públicos de *R. microplus*). As seqüências foram agrupadas em um total de 867 contigs. Aproximadamente 90% das seqüências de ESTs mostraram similaridade significativa com proteínas cujas seqüências estão depositadas no banco de dados NR e os 10% restantes não apresentaram similaridade com nenhum acesso dessa base de dados. Entre as seqüências que apresentaram similaridades, incluem-se as similares a proteínas *housekeeping* (vitais), proteínas de cimento, diversos inibidores de proteases incluindo anti-coagulantes, as metaloproteases, peptídeos antimicrobianos, as anti-inflamatórias e uma potente proteína immunosupressora. Essas proteínas podem ter papel importante durante a alimentação do carrapato e podem ser novos candidatos a uma vacina anti-carrapatos.

CATÁLOGO DE TRANSCRITOS E PROTEÍNAS DE GLÂNDULAS SALIVARES DO CARRAPATO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: CLONAGEM DE CDNAS E DESCRIÇÃO DE ANTÍGENOS PARA IMUNOTRIAGEM E VACINAÇÃO**Lucinda Giampietro Brandão**Orientadora: Profa. Dra. Isabel K. F. de Miranda Santos
Tese de Doutorado apresentada em 30/07/2007

A saliva de artrópodes hematófagos facilita seu acesso ao sangue do hospedeiro e às respostas imune e inflamatória elicitada por suas picadas e pela própria saliva. O carrapato do boi possui um ciclo longo de alimentação no hospedeiro que dura 21 dias, durante os quais o carrapato libera até 250mL de saliva. O hospedeiro desenvolve resposta imune específica ao carrapato, indicando que os componentes salivares podem ser antígenos úteis para controle imunobiológico desse parasita. O objetivo desse trabalho é identificar genes das glândulas salivares do carrapato do boi que codifiquem para antígenos úteis para vacina. *Expressed sequence tags (ESTs)* de 3 bibliotecas de cDNA

de glândulas salivares (fêmeas com 3-4 dias de alimentação, ninfas e machos em alimentação) do carrapato *R. Boophilus microplus* foram analisadas. As ESTs foram automaticamente cortadas de iniciadores e seqüências do vetor, agrupadas e comparadas com banco de dados usando programas escritos em Visual Basic 6.0 (Microsoft). Peptídeo sinal, indicativo de secreção, foram detectados com *Signal P 3.0 Server*. As buscas foram feitas nos bancos de dados NR – proteína (NCBI), GO, KOG, P-fam, SMART, rRNA (NCBI) e MIT-PLA (NCBI) e outros bancos de dados como ACARI and BMNT. As 3487 ESTs produziram 1644 contigs e vários dele foram diferencialmente expressos nos diferentes estágios do carrapato. Pelo menos 200 contigs contém peptídeo sinal indicando que os produtos codificados são secretados na saliva e no hospedeiro. Os genes de interesse para vacina são os que codificam

para inibidores de trombina, metaloproteases, lipocalinas ligantes de histamina e serotonina, inibidores de agregação plaquetária e cimentos que são ricos em glicina, tirosina e ou serina, peptídeos antimicrobianos, proteínas envolvidas em adesão celular, proteínas ligantes de imunoglobulinas, proteínas ligantes de eritrócitos, ente outros. As se-

quências completas dos cDNAs desses transcritos foram clonadas por um processo em massa e serão triadas usando DNA plasmidial como sistema de entrega de antígeno. Eles serão testados pela capacidade de induzir reação cutânea de hipersensibilidade tardia, que é a leitura imunológica correlacionada com a resistência a carrapatos.

PROTEÍNAS LIGANTES DE FETUÍNA: CARACTERIZAÇÃO E PAPEL BIOLÓGICO NA PARACOCCIDIODOMICOSE EXPERIMENTAL

Leandro Licursi de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Ademilson Panunto Castelo

Tese de Doutorado apresentada em 28/08/2007

No presente trabalho descrevemos o isolamento de proteínas do antígeno total de *Paracoccidoides brasiliensis*, através de cromatografia de afinidade em coluna de fetuína-agarose. O material adsorvido à resina e eluído com NaCl, foi chamado de FBP (do inglês Fetuin Binding Proteins), e não apresentava atividade enzimática nem lectínica, tendo sua associação a fetuína dependente de cátions divalentes. A análise eletroforética da preparação FBP revelou uma proteína proeminente de 60kDa e quatro minoritárias de 50, 35, 24 e 14kDa. A proteína de 60kDa de FBP foi capaz de se ligar à matriz extracelular de pulmão de camundongo, sugerindo que poderia ser importante no processo infeccioso, tornando-se um alvo para intervenção terapêutica. Quando tratamos camundongos infectados com *P. brasiliensis* por 21 dias com FBP ou salina emulsificada com adjuvante completo de Freund (do inglês CFA – Complete Freund's Adjuvant), um forte indutor de resposta protetora Th1 na paracoccidiodomicose (PCM), observamos que os animais tratados com CFA foram protegidos, enquanto os animais tratados com FBP + CFA tinham reversão dessa proteção. Estes animais apresentaram grande número de unidades formadoras de colônias

(do inglês CFU – Colony-forming unit), revelando na análise histopatológica granulomas bem formados repletos de fungos viáveis, porém sem grande comprometimento pulmonar, quando comparado aos animais infectados não tratados, que apresentavam uma inflamação crônica que atingia grande extensão do parênquima pulmonar. Além disso, homogenatos dos pulmões dos camundongos tratados com FBP apresentaram maiores níveis de IL-2, IL-4 e IL-10, características de um padrão Th2, além de TGF- β . Quando analisamos as células do baço desses animais, observamos uma diminuição de células T CD8⁺ em relação ao grupo tratado com CFA. Células CD8⁺ dos animais tratados com FBP apresentaram o marcador de uma população de células T reguladoras (T CD8⁺reg), o Foxp3. Tendo como base esses resultados, aventamos a hipótese de que esses linfócitos T CD8⁺reg seriam responsáveis pela supressão da resposta imunitária protetora disparada pelo CFA, o que permitiria a persistência de fungos viáveis no interior dos granulomas. Além disso, animais tratados com FBP apresentaram níveis aumentados de TGF- β no epitélio pulmonar, o que aumentaria a supressão no órgão. O conjunto de resultados apresentados sugere que FBP desempenha papel importante na imunossupressão característica da PCM, abrindo perspectivas de que uma intervenção nesse processo supressivo possa levar a um efeito benéfico na gravidade da PCM.

CONSTRUÇÃO DE UMA VACINA DE DNA MÚLTIPLA CONTENDO DOIS ANTÍGENOS MICOBACTERIANOS (Ag85A + Hsp65) E AVALIAÇÃO DA PROTEÇÃO CONTRA TUBERCULOSE EXPERIMENTAL

Juliana Issa Hori

Orientador: Prof. Dr. Célio Lopes Silva

Dissertação de Mestrado apresentada em 31/08/2007

Mais de 100 anos após sua descoberta, a tuberculose (TB) ainda é considerada uma das maiores causas de mortalidade em todo o mundo. A única vacina atualmente licenciada para uso na profilaxia da TB é o BCG, porém esta tem mostrado uma eficácia variável de 0 a 80%. Portanto,

estratégias para o desenvolvimento de novas vacinas tem sido alvo de intensa investigação. A vacina DNA-Hsp65, desenvolvida pelo nosso grupo, tem demonstrado não só atividade preventiva como terapêutica contra a doença já estabelecida. No entanto, uma vacina baseada em um único antígeno poderia não proteger efetivamente toda a população humana. Assim, no intuito de otimizar essa vacina, o objetivo desse trabalho foi construir uma vacina múltipla de DNA, contendo dois antígenos micobacterianos: a Hsp65 e

o Ag85A, e avaliar a sua eficácia protetora em modelo de TB experimental. Após a construção e caracterização da vacina múltipla DNA-Ag85A/Hsp65, os experimentos em modelo murino foram desencadeados. Camundongos Balb/c foram imunizados com 4 doses quinzenais de 100 µg de DNA e 15 dias após a última imunização, os animais foram sacrificados para realização dos ensaios de imunogenicidade, ou então desafiados com 105 bacilos H37Rv e sacrificados após 30 dias para realização dos ensaios de proteção. Os dados de imunogenicidade não mostraram uma boa indução de resposta. Entretanto, nos ensaios de proteção, os animais

vacinados com DNA-Ag85A/Hsp65 apresentaram ativação de linfócitos B de memória, aumento no recrutamento de linfócitos TCD4⁺ e CD8⁺ efetores e TCD8⁺ de memória, produção de IL-12 e IFN-γ e diminuição de IL-4. Além disso, houve produção de IL-10, importante citocina antiinflamatória. Esse perfil de resposta gerado contribuiu para a redução do número de UFCs nos pulmões e também para uma maior preservação do parênquima pulmonar após infecção por Mtb se comparados com os animais controles. Assim, essa vacina apresentou-se como uma alternativa promissora para o uso na profilaxia contra TB experimental.

NEUROLOGIA

COMPARAÇÃO DOS ASPECTOS MORFOMÉTRICOS ENTRE OS NERVOS FRÊNICOS DE RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS, MACHOS E FÊMEAS: ESTUDO EM NÍVEL DE MICROSCOPIA DE LUZ

Anaceres Ribeiro Rodrigues

Orientadora: Profa. Dra. Valéria Paula Sassoli Fazan
Dissertação de Mestrado apresentada em 03/07/2007

O nervo frênico é o principal nervo envolvido na respiração. Entretanto, além das fibras motoras para o músculo diafragma, ele também contém fibras simpáticas que apresentam uma descarga rítmica durante as fases da respiração, que variam em diferentes espécies. Sendo ratos espontaneamente hipertensos (SHR) sabidamente hiper-ativos simpáticos, o objetivo do presente estudo foi avaliar morfometricamente o nervo frênico nesses animais. Ainda, existem diferenças importantes nos níveis de pressão arterial entre machos e fêmeas, sendo necessário a comparação entre ambos. SHR machos (N=7) e fêmeas (N=9), com idade de 20 semanas foram perfundidos via intra-cardíaca com solução fixadora e os nervos frênicos direitos e esquerdos foram dissecados e preparados com técnicas histológicas convencionais para inclusão em resina epóxi. Secções transversais semi-finas dos segmentos proximais e distais des-

ses nervos foram avaliadas com o auxílio de um sistema computacional (KS 400, v. 2.0). Comparações estatísticas foram realizadas entre os segmentos de um mesmo lado, entre o mesmo nível (proximal ou distal) em lados diferentes, e entre machos e fêmeas. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Nossos dados mostraram uma assimetria longitudinal (proximal versus distal) nos nervos do lado esquerdo, tanto em machos quanto fêmeas. Na comparação entre lados, também houve assimetria nos segmentos distais, sendo os nervos do lado esquerdo menor que os direitos em ambos os gêneros. Curiosamente, os nervos frênicos dos machos foram significativamente maiores que os das fêmeas. Entretanto, o número de fibras mielínicas e a densidade dessas fibras foram significativamente maiores nas fêmeas. Esses resultados sugerem que o tamanho do nervo acompanha o tamanho do animal, uma vez que os machos têm maior peso corporal que as fêmeas. Entretanto, as diferenças no número de fibras estão sendo descritas pela primeira vez nessa linhagem de animais e indicam a necessidade de um estudo funcional mais detalhado do nervo frênico em SHR I machos e fêmeas.

PARTICIPAÇÃO DO NÚCLEO PRÉ-TECTAL ANTERIOR E DE RECEPTORES OPIÓIDES µ1 E SEROTONINÉRGICOS 5-ht 2a/2c NA ANALGESIA PÓS-ICTAL

Priscila Cabrera Zanandréa

Orientador: Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra
Dissertação de Mestrado apresentada em 27/07/2007

Tem sido descrito na clínica médica que alguns pacientes relatam hipalgesia, um fenômeno muito mal estudado em neurociência, quando consideramos serem suas causas

reações convulsivas. Como alguns medicamentos anti-epilépticos podem causar analgesia, e a maioria dos pacientes ser medicados já desde longa data, esse fato tem sido um agravante no estudo desse fenômeno. O pentilenotetrazol (PTZ), um antagonista não-competitivo GABAérgico que bloqueia o influxo de Cl^- , mediado pelo GABA, foi experimentalmente usado para induzir crises convulsivas em animais, bem como a antinocicepção pós-ictal. Lesões neurotóxicas foram usadas para investigar o envolvimento do núcleo pré-tectal anterior (NPtA). Também foi avaliada a neurotransmissão opióide e serotoninérgica na analgesia que segue a síndrome da imobilidade pós-ictal, através de microinjeções no núcleo pré-tectal anterior, de antagonistas farmacológicos seletivos, com o objetivo de estudar a participação de receptores opióides e serotoninérgicos nesse processo antinociceptivo. Estudou-se o envolvimento do NPtA através de lesões neurotóxicas intra-NPtA com

ácido de ibotênico em modelo experimental de crises convulsivas em *Rattus norvegicus* (*Rodentia, Muridae*). A latência das crises convulsivas tônico-clônicas evocadas pelo pentilenotetrazol e o efeito do pré-tratamento com os antagonistas farmacológicos sobre as crises convulsivas foram avaliados de acordo com o índice de Racine (1972). Nossos dados mostraram que as lesões intra-NPtA causaram uma diminuição significativa no limiar nociceptivo, quando comparado ao controle. A microinjeção intra-NPtA de naloxonazina, um antagonista com maior afinidade para receptores μ_1 , e de ritanserina, um antagonista com maior afinidade para receptores 5-HT_{2A/2C}, antagonizou de maneira dose-dependente a antinocicepção que segue as crises convulsivas tônico-clônicas. Estes achados sugerem o envolvimento do NPtA na analgesia pós-ictal, e o recrutamento de receptores μ_1 e 5-HT_{2A/2C} do pré-tectum nesse fenômeno antinociceptivo.

QUALIDADE DE VIDA EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM PARALISIA CEREBRAL: VALIDAÇÃO DO INSTRUMENTO ESPECÍFICO “CHILD HEALTH ASSESSMENT QUESTIONNAIRE” (CHAQ)

Nívea de Macedo Oliveira Morales

Orientadora: Profa. Dra. Carolina Araújo Rodrigues
Tese de Doutorado apresentada em 09/08/2007

O estudo teve como objetivo verificar as propriedades psicométricas do *Child Health Assessment Questionnaire* (CHAQ) aplicado em crianças e adolescentes com paralisia cerebral (PC) e avaliar a qualidade de vida relacionada à saúde (QVRS) desses indivíduos por meio do CHAQ. Representantes de crianças e adolescentes com idade entre 5 e 18 anos com diagnóstico de PC do tipo espástico, extrapiramidal ou atáxico, em acompanhamento na AACD-MG (Associação de Assistência à Criança Deficiente de Minas Gerais), foram solicitados a responder o CHAQ pela técnica de auto-aplicação, durante o período de dezembro de 2003 a abril de 2004. Dados clínicos e demográficos foram obtidos por entrevista e avaliação neurológica. O grupo controle compreendeu 314 crianças e adolescentes saudáveis, com idade entre 5 e 20 anos, recrutados durante o estudo de tradução e validação da versão brasileira do CHAQ entre dezembro de 1999 e novembro de 2000. O *Gross Motor Function Measure* foi utilizado como um critério externo para a avaliação da função motora dos pacientes. O grau do comprometimento motor foi classificado em leve, moderado e grave, conforme o nível funcional estabelecido pelo *Gross Motor Function Classification System*. As propriedades psicométricas foram avaliadas pela qualidade dos dados (proporção de dados perdidos, efeito piso e efeito teto), confiabilidade (consistência interna do item e confiabilidade da consistência interna) e validade

(de face, discriminante do item, discriminante, convergente, divergente, de critério ou concorrente e de construto). Os escores obtidos por meio do CHAQ foram comparados com os da população saudável e segundo a classificação dos pacientes pelo tipo clínico e gravidade do comprometimento motor. Noventa e seis representantes responderam ao questionário. A idade dos pacientes variou de 5,0 a 17,9 anos (média: 9,3). A taxa de dados perdidos foi baixa (variou de 3,1 a 9,3). O efeito piso foi observado nos domínios levantar (26,0%), andar (13,7%) e apanhar (16,0%), e foi significativa nas escalas visual-analógicas (26,1% a 35,5%). O efeito teto foi significativo em todos os domínios (variou de 30,2% a 68,8%) e particularmente elevado nos pacientes com as formas tetraparética e extrapiramidal. A confiabilidade e a validade foram adequadas como um todo. Os escores obtidos pelos pacientes foram significativamente maiores que os da população saudável em todos os domínios e escalas. Pelo índice de incapacidade do CHAQ, os pacientes em todos os tipos clínicos e formas de gravidade da doença obtiveram escores significativamente maiores que os da população saudável. A incapacidade funcional foi maior para as formas tetraparética e grave da PC. Os resultados confirmam que o CHAQ mostrou ser um instrumento confiável e válido para avaliar crianças e adolescentes com PC, pela perspectiva do responsável. O efeito teto deve ser cuidadosamente considerado na avaliação de pacientes com as formas tetraparética e extrapiramidal. Os pacientes com PC apresentaram impacto negativo na QVRS quanto à capacidade funcional, avaliação global e de dor. Pacientes classificados com a forma tetraparética e nível grave apresentaram maior incapacidade funcional.

ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE A DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DE PLACAS DE ESCLEROSE MÚLTIPLA E TAXA DE TRANSFERÊNCIA DE MAGNETIZAÇÃO NO CÉREBRO HUMANO NORMAL

Luciana Torres Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos dos Santos

Tese de Doutorado apresentada em 16/08/2007

A esclerose múltipla (EM) representa a mais forma mais comum de doença desmielinizante do sistema nervoso central. Contudo, a América do Sul é considerada uma região com baixa prevalência de EM. Esta afeta mais frequentemente mulheres, sobretudo na fase mais produtiva de suas vidas, quando adultos jovens, causando debilidade neurológica significativa para os afetados, e um custo elevado para a sociedade. A doença manifesta-se em três formas clínicas distintas, sendo estas denominadas: forma surto-remissão (FSR), forma progressiva secundária (FPS) e forma progressiva primária (FPP). Sua causa não é bem definida, mas fatores individuais, genéticos e ambientais parecem estar envolvidos no desenvolvimento da doença. Desde o início da sua utilização na prática clínica, e sobretudo pela sua sensibilidade na demonstração de placas, a ressonância magnética (RM) convencional vem sendo usada para o diagnóstico, evolução e mesmo avaliação do risco prognóstico de desenvolvimento de EM. Nos últimos anos, devido a baixa especificidade patológica das placas de EM nas imagens de RM convencional, várias técnicas semi-quantitativas e quantitativas de RM foram desenvolvidas para o estudo da EM. Dentre estas podemos ressaltar a transferência de magnetização (TM). A transferência de magnetização baseia-se na troca de energia entre moléculas de água livres e ligadas às macromoléculas, permitindo de avaliar de forma indireta o conteúdo de macromole-

cular do tecido cerebral, representado na sua maioria pela mielina na substância branca. As placas de EM são caracterizadas por aumento de sinal em seqüências ponderadas em T2 e baixo sinal em T1. Apresentam também realce pós-contraste durante algumas semanas na sua fase ativa. Quanto a sua distribuição espacial, estas são vistas mais frequentemente na região em torno dos ventrículos e no corpo caloso (CC), apresentando conformação alongada (linear) e distribuição perpendicular ao maior eixo do CC. Acredita-se que isto se deve a sua distribuição em volta dos espaços venosos, em torno das veias medulares profundas. Sabe-se ainda que as placas envolvem preferencialmente algumas regiões do sistema nervoso, contudo a exata explicação para este achado é ainda fruto de muitas argumentações. O presente estudo propõe a utilização de uma nova técnica de geração de mapas tridimensionais de TM no cérebro humano normal e em pacientes com EM e de placas de EM, desenvolvida localmente no nosso laboratório e apresentada como tese de doutorado nesta instituição. A partir da utilização destes mapas, realizou-se o estudo da distribuição espacial de placas de EM entre os diferentes grupos clínicos e a sua correlação com a variação da TM no cérebro humano normal. Não se observou um padrão definido de correlação entre a TM e as placas de EM. Ainda, exceto pelo maior volume de placas em todas as regiões cerebrais e sobretudo a fossa posterior nos pacientes com a FPS, não se observou diferença significativa entre a distribuição espacial de placas de EM nos diferentes grupos clínicos de manifestação da doença, sobretudo FSR e FPP.

ESTUDO NEUROANATÔMICO FUNCIONAL E NEUROFARMACOLÓGICO DO ENVOLVIMENTO DO NÚCLEO PRÉ-TECTAL ANTERIOR EM PROCESSOS ANTINOCICEPTIVOS

Andressa Daiane de Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra

Tese de Doutorado apresentada em 28/09/2007

O núcleo pré-tectal anterior (NPtA) é uma estrutura encefálica, bilateral, que se localiza entre o mesencéfalo e o diencefalo. Vários estudos demonstram seu envolvimento em processos antinociceptivos, não precedido por reações motoras sugestivas de aversão ao estímulo. A antinocicepção induzida pela estimulação elétrica do núcleo pré-tectal anterior tem sido largamente estudada. Contudo, a investigação das conexões e dos neurotransmissores envolvidos nesse processo antinociceptivo necessita de mais

estudos, pois é de extrema importância o conhecimento das estruturas conectadas ao NPtA e os neurotransmissores envolvidos no sistema neural que controla esse tipo de antinocicepção, já que tal estrutura pode se tornar um alvo farmacológico para futuras abordagens clínicas que visem o tratamento da dor crônica. Assim, o objetivo do estudo foi investigar a anatomia conectiva do núcleo pré-tectal anterior e estruturas mesencefálicas e diencefálicas funcionalmente relacionadas, utilizando-se técnicas neuroanatômicas clássicas de traçamento de vias, e estudando-se as implicações neurofisiológica e neurofarmacológica dessas vias nos processos antinociceptivos eliciados por estimulação elétrica do núcleo pré-tectal anterior.

A destruição, com ácido ibotênico, de neurônios do colículo superior (CS), da substância cinzenta periaquedual (SCP), do núcleo dorsal da rafe (NDR) ou da zona incerta (ZI), estruturas que mantêm relações conectivas com o NPtA, diminuiu a antinocicepção evocada por estimulação elétrica do NPtA. Ainda, o antagonista farmacológico seletivo para receptores opióides μ_1 , naloxonazina, quando administrado no CS, SCP, NDR foi capaz de reduzir o efeito antinociceptivo da estimulação elétrica do NPtA. Porém, a naloxonazina quando administrada na ZI diminuiu discretamente essa antinocicepção, e seu efeito foi estatisticamente significativo imediatamente após o estímulo elétrico do NPtA e aos 45 minutos da evocação da antinocicepção

organizada pelo NPtA. Já a administração dos antagonistas farmacológicos não seletivos para receptores serotoninérgicos, metisergida (5 $\mu\text{g}/0,5 \mu\text{l}$), e seletivos para receptores 5-HT₂, cetanserina (5 $\mu\text{g}/0,5 \mu\text{l}$), quando administrados no CS, SCP, NDR e ZI atenuaram de maneira mais consistente a antinocicepção induzida por estimulação elétrica do NPtA.

Os presentes resultados sugerem o envolvimento de neurônios do CS, da SCP, do NDR e da ZI na elaboração da antinocicepção evocada pela estimulação elétrica do NPtA, sendo recrutados especificamente receptores opióides μ_1 e serotoninérgicos 5-HT₂ ao longo dessa complexa rede neural.

OFTALMOLOGIA, OTORRINOLARINGOLOGIA E CIRURGIA DE CABEÇA E PESCOÇO

COMPARAÇÃO ENTRE DOIS MÉTODOS DE COLETA PARA AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA EM PACIENTES COM RINOSSINUSITE CRÔNICA

Karina Mantovani

Orientadora: Profa. Dra. Wilma T. Anselmo-Lima
Dissertação de Mestrado apresentada em 26/09/2007

Introdução: A punção direta do seio maxilar foi, por muito tempo, considerada como padrão ouro para coleta de amostras em pacientes com Rinossinusite Crônica (RSC). Porém, diversos autores demonstraram boa correlação entre amostras colhidas do meato médio sob visão endoscópica com amostras obtidas por punção. Para obtenção dessas amostras, diversos métodos têm sido utilizados, como o swab e a aspiração direta de secreção do meato médio.

Pacientes e Métodos: Estudo transversal em 31 pacientes com RSC, submetidos à coleta de secreção do meato médio sob visão endoscópica por dois métodos diferentes (aspiração com coletor estéril de secreção nasal “suction

trap” e aspiração usando cateter com seringa acoplada) para determinação do diagnóstico microbiológico e comparação dos métodos utilizados.

Resultados: Dos 31 pacientes estudados, 45% não apresentaram crescimento de microrganismos nas amostras cultivadas. Os microrganismos mais frequentes foram *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e outras bactérias aeróbicas Gram-negativas. Não houve crescimento de fungos e bactérias anaeróbicas. Os resultados das culturas foram coincidentes entre os dois métodos em 71% dos pacientes.

Conclusão: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e outras bactérias aeróbicas Gram-negativas constituem a flora predominante nos seios paranasais de paciente com RSC. Houve correlação satisfatória entre os achados microbiológicos obtidos pelo uso de cateter acoplado à seringa com o do coletor nasal do tipo “suction trap”.

ASPECTOS HISTOLÓGICOS DO PÓLIPO NASOSSINUSAL

Luciano Gustavo Ferreira Couto

Orientadora: Profa. Dra. Wilma T. Anselmo-Lima
Dissertação de Mestrado apresentada em 28/09/2007

Introdução: Há poucos estudos na literatura que se preocupam com as diferenças histológicas dos pólipos nasais, sem a influência de tratamento medicamentoso, e a possível implicação clínica que essa diferenciação possa ter, apesar de sua importância para um diagnóstico preciso.

Objetivos: Estudar morfológicamente, através da microscopia óptica, as alterações estruturais do pólipo nasal na ausência de qualquer tratamento prévio e classificá-lo histologicamente.

Material e Métodos: Foram estudados 86 pacientes com polipose rinossinusal sem tratamento prévio. As amostras dos pólipos foram colhidas por biópsia ambulatorial e analisadas através de microscopia óptica.

Resultados: As amostras foram classificadas da se-

guinte forma: pólipos Edematosos ou Eosinofílicos: 64 casos (74,4%); pólipos Fibroinflamatórios: 14 casos (16,3%); pólipos com Hiperplasia de Glândulas Seromucinosas: 06 casos (7,0%); e pólipos com Atipia de Estroma: 02 casos (2,3%).

Discussão: O presente estudo é o único bem documentado que analisa amostras isentas da influência de tratamento prévio. Mesmo com essa diferenciação, os resul-

tados seguiram a mesma prevalência de tipos histológicos encontrada anteriormente na literatura.

Conclusões: Este trabalho permitiu uma análise ampla e exaustiva das características histológicas do pólipos nasal. Na ausência da influência medicamentosa, foi encontrada maior prevalência do pólipos eosinofílico, seguido pelo tipo fibroinflamatório.

ORTOPEDIA

INFLUÊNCIA DO PREPARO DO ORIFÍCIO PILOTO E DA FREQUÊNCIA DE COLOCAÇÃO DO IMPLANTE NO SEU TORQUE DE INSERÇÃO E RESISTÊNCIA AO ARRANCAMENTO

Rodrigo César Rosa

Orientador: Prof. Dr. Helton Luiz Aparecido Defino
Dissertação de Mestrado apresentada em 04/08/2007

O objetivo do estudo foi avaliar a influência do diâmetro do orifício piloto e a frequência da colocação dos implantes no torque de inserção e na resistência ao arrancamento. Foram utilizados parafusos de 5, 6 e 7mm do sistema USS de fixação vertebral, os quais foram inseridos nos corpos de prova de madeira, poliuretano, polietileno e osso bovino. Para inserção dos implantes foram confeccionados com broca orifícios piloto com diâmetros menor, igual e maior que o diâmetro interno do parafuso. O torque de inserção dos parafusos avaliado nos corpos de prova de madeira foi mensurado por meio de torquímetro com capacidade de 5Nm, e nos demais corpos de prova foi utilizado torquímetro de 2Nm. Os ensaios mecânicos de arrancamento dos parafusos foram realizados utilizando máquina universal de ensaio Emic® e *Software Tesc 3.13* para análise dos resultados, utilizando células de carga com capacidade de 2000 N e 20000 N, selecionadas de acordo com a resistência mecânica de cada corpo de prova, e com velocidade de aplicação de força de 2 mm/min. Os valores do torque de inserção dos parafusos de 5, 6 e 7mm de diâmetro externo, nos diferentes materiais, apresentaram maiores valores de torque na primeira inserção, com exceção dos corpos de

prova de poliuretano com orifício piloto de 5,5mm. O diâmetro do orifício piloto em relação ao diâmetro interno do parafuso apresentou influência no torque de inserção dos implantes, nos diferentes corpos de prova, observando maior torque de inserção nos corpos de prova com orifício piloto menor que o diâmetro interno do parafuso e menor torque de inserção nos corpos de prova com diâmetro do orifício piloto maior que o diâmetro interno do parafuso. A força máxima de arrancamento nos parafusos de 5, 6 e 7mm de diâmetro externo, inseridos nos diferentes corpos de prova, apresentaram maiores valores na primeira inserção nos diferentes diâmetros de orifício piloto. O diâmetro do orifício piloto em relação ao diâmetro interno do parafuso apresentou influência na força máxima de arrancamento dos implantes, nos diferentes corpos de prova, observando maior força de arrancamento nos corpos de prova com orifício piloto menor que o diâmetro interno do parafuso e menor força de arrancamento nos corpos de prova com diâmetro do orifício piloto maior que o diâmetro interno do parafuso. Podemos concluir que a frequência de colocação dos implantes influencia na qualidade da ancoragem. A realização de menor frequência de colocação dos implantes proporciona uma melhor fixação. A perfuração do orifício piloto com instrumental de menor diâmetro, em relação ao diâmetro interno do parafuso, tende a apresentar melhor fixação do parafuso que a perfuração com diâmetro maior.

INFLUÊNCIA DA ALTURA DO ENXERTO ÓSSEO INTERSOMÁTICO NA ESTABILIDADE BIOMECÂNICA DA FIXAÇÃO MONOSEGMENTAR ANTERIOR DA COLUNA CERVICAL

Jorge Alfredo Léo

Orientador: Prof. Dr. Helton Luiz Aparecido Defino
Tese de Doutorado apresentada em 14/08/2007

O objetivo do trabalho foi estudar experimentalmente a influência da altura do enxerto ósseo intersomático da coluna cervical na estabilidade biomecânica da fixação cer-

vical anterior. Foram realizados ensaios mecânicos utilizando a coluna cervical de suínos (C3-C4). Foram formados sete grupos experimentais compostos por 70 segmentos da coluna cervical (C3-C4) de acordo com o grau de instabilidade produzido e a fixação do segmento vertebral. Grupo I: intacto. Grupo II: retirada do disco intervertebral e colocação de enxerto intersomático de 3,0 mm. Grupo III: retirada do disco intervertebral e colocação de enxerto intersomático de 6,0 mm. Grupo IV: retirada do disco intervertebral, colocação de enxerto intersomático de 3,0 mm e fixação anterior com placa. Grupo V: retirada do disco intervertebral, colocação de enxerto intersomático de 6,0 mm e fixação anterior com placa. Grupo VI: retirada do disco intervertebral, secção dos ligamentos posteriores e cápsulas articulares bilateralmente, colocação do enxerto intersomático de 3,0 mm e fixação anterior com placa. Grupo VII: retirada do dis-

co intervertebral, secção dos ligamentos posteriores e cápsulas articulares bilateralmente, colocação do enxerto intersomático de 6,0 mm e fixação anterior com placa. Os segmentos vertebrais foram submetidos a ensaios mecânicos de flexão-compressão, flexão lateral e torção em máquina universal de ensaio. Os parâmetros analisados foram força máxima (N), rigidez (N/m.l0³) e o momento (N .m) para produzir uma deflexão pré-estabelecida. Não foi observada em todos os grupos experimentais diferença estatística dos valores da força máxima (N), rigidez (N/m.l0³) e do momento (N.m), entre as diferentes alturas (3,0 mm e 6,0 mm) do enxerto ósseo intersomático. A associação da placa de Orozco as discectomias anteriores dos modelos experimentais estudados, restabeleceu a estabilidade biomecânica nos movimentos de flexão e torção, não a restabelecendo na flexão lateral.

PATOLOGIA

ESTUDO E CORRELAÇÃO DE DIFERENTES DERIVADOS DE HEMATOPORFIRINAS E CLORINAS NO PROCESSO DE TERAPIA FOTODINÂMICA

Juliana Ferreira

Orientador: Prof.Dr. Sérgio Zucoloto

Tese de Doutorado apresentada em 03/07/2007

A terapia fotodinâmica (TFD) é uma técnica alternativa importante e não invasiva, no tratamento de vários tipos de neoplasias. A TFD consiste na ação combinada de um fotossensibilizador (FS) e uma fonte de luz, emitindo num determinado comprimento de onda e na presença do oxigênio molecular. Um fato importante relacionado é o uso dos fotossensibilizadores na TFD, que são moléculas que sofrem modificações durante a iluminação. Estas modificações são induzidas pela luz, que produzem uma transformação nas características espectrais, bem como induzindo à eficiência fotodinâmica dos FS's. Assim, há muitas investigações no aspecto de correlacionar a profundidade de necrose em tecido normal e a fototransformação dos FS's, obtendo uma dose limiar (threshold dose), que na TFD corresponde à existência de uma dose mínima para induzir o tecido à morte. Este trabalho tem como objetivo estabelecer uma dosimetria para TFD com diferentes FS's e concentrações, e com variação dos parâmetros de iluminação (comprimento de onda e fluência); investigaram-se as propriedades de fototransformação dos FS's bem como a dose limiar. Foram utilizados 3 diferentes derivados de hematoporfirina e 3 di-

ferentes FS's à base de clorinas. O trabalho foi dividido em 2 etapas: 1 - estudo *in vitro* para análise da fotodegradação e 2 - estudo *in vivo* para análise da profundidade de necrose. As transformações observadas nos FS's durante a iluminação são normalmente associadas com foto-reações. Acredita-se que o principal responsável pela fototransformação das moléculas é o oxigênio singlete que tem tempo de vida curto. Baseados nestes mecanismos, pode-se dizer que a produção do oxigênio singlete é essencial para a eficiência fotodinâmica em induzir o tecido alvo à morte. Observou-se uma correlação entre a fototransformação e a eficiência fotodinâmica, correlacionando o parâmetro de fotoestabilidade (η) e a dose limiar (D_{th}). Altos valores de η mostraram maior instabilidade do FS sob iluminação; por outro lado, baixo limiar de dose (D_{th}) mostrou alta eficiência fotodinâmica. O FS mais instável apresentou uma baixa absorção da luz, perdendo as propriedades espectrais e mostrando uma grande capacidade de induzir o tecido alvo à morte e um baixo limiar de dose. Estes resultados indicam a existência de uma forte correlação entre a fotoestabilidade e a eficiência fotodinâmica. Este comportamento está de acordo com a proposição do rendimento quântico para a produção do oxigênio singlete em determinadas fotoreações na eficiência fotodinâmica, bem como com as causas das fototransformações das moléculas do FS.

PARTICIPAÇÃO DOS MASTÓCITOS TGF-2 E MIOFIBROBLASTOS NA EVOLUÇÃO DA NEFROPATIA DA IgA PRIMÁRIA

Gyl Eanes Barros Silva

Orientador: Prof. Dr. Roberto Silva Costa

Dissertação de Mestrado apresentada em 10/09/2007

Muitos estudos demonstraram que a expressão de κ -actina de músculo liso (κ -SM actina) e do TGF-21 nos compartimentos glomerular e túbulo-intersticial, bem como a infiltração de mastócitos, poderiam representar marcadores prognósticos em várias doenças renais. O objetivo do nosso trabalho é analisar o valor prognóstico dos mastócitos, TGF-21 e κ -SM actina na nefropatia da IgA primária (NIgA), além de fatores clínicos e histopatológicos associados à pior evolução da doença. 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 (HCFMRP-USP) no período de 1987 a 2003. No estudo imunistoquímico foram utilizados o anticorpo monoclonal anti-

“Mast Cell Tryptase”, anticorpo policlonal anti-TGF-21 e anticorpo monoclonal anti- κ -SM actina. O curso clínico desfavorável da NIgA esteve relacionado com o sexo masculino, a intensidade da proteinúria e da creatinina na primeira consulta, outra apresentação clínica que não a hematuria macroscópica, quadro histológico de glomerulonefrite segmentar e focal, hipertensão arterial no início dos sintomas e durante o seguimento, infiltrado intersticial de mastócitos e a expressão de κ -SM actina no compartimento túbulo-intersticial. Por outro lado, a expressão glomerular de κ -SM actina e a expressão de TGF-21 no glomérulo e no compartimento túbulo-intersticial não mostraram correlação com o curso clínico da NIgA. Nossos resultados também indicam que mastócitos no parênquima renal não afetam a proteinúria, mas aumentam a creatinina sérica. Em resumo, podemos concluir que o maior número de mastócitos no túbulo-interstício e a maior expressão de κ -SM actina também no compartimento túbulo-intersticial possam ser fatores de pior prognóstico para pacientes com NIgA.

SAÚDE MENTAL

CRIANÇAS COM QUEIXA ESCOLAR: FATORES DE RISCO PARA DESISTÊNCIA E ABANDONO DO ATENDIMENTO PSICOPEDAGÓGICO

Carina Cella Panaia

Orientadora: Profa. Dra. Edna Maria Marturano

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/09/2007

Pesquisas mostram que existe uma grande procura de atendimento para crianças com queixa escolar em serviços públicos vinculados a área de saúde mental, assim como há uma elevada taxa de abandono das famílias nos atendimentos. Diferentes fatores estão associados ao término em diferentes momentos do atendimento. As famílias *desistentes* (que terminam antes de iniciar o tratamento) apresentam características diferentes das que *abandonam* (que terminam durante o tratamento). O objetivo deste trabalho foi verificar se há diferenças entre as famílias que seguem o atendimento infantil até a alta e aquelas que terminam em algum momento após a primeira entrevista. Foi realizado um estudo retrospectivo com dados de 258 crianças, com idade entre seis e onze anos, colhidos na primeira consulta no

Ambulatório de Psicologia Infantil do HCFMRP – USP. Foram utilizados dados sócio-demográficos e dados dos seguintes instrumentos: Raven, Escala Comportamental Infantil A2 de Rutter (ECI), Inventário de Recursos do Ambiente Familiar (RAF) e a Escala de Eventos Adversos (EEA) recentes. Para a análise, foram feitos dois conjuntos de comparações: a) entre o *Grupo desistente* (n = 41) e *Grupo não desistente* (n = 217); b) no *Grupo não desistente*, comparação entre o *Grupo abandono* (n = 107) e o *Grupo alta clínica* (n = 110). Os dados foram analisados em três blocos: a) variáveis sócio-demográficas; b) variáveis clínicas da criança; c) variáveis ambientais, considerando-se como índice de significância $p \leq 0,05$. Os resultados mostraram que o *Grupo Desistente*, comparado ao *Grupo Não Desistente*, apresentou menor tempo de escolaridade, menos dificuldades cognitivas, menos problemas de comportamento, menor média de atividades programadas e, em relação aos eventos adversos experienciados pelas famílias, apresentou menor escore de eventos adversos recentes na vida pessoal

da criança. O *Grupo Abandono*, em relação ao *Grupo Alta Clínica*, apresentou menor tempo de escolaridade, menores médias em relação à idade das crianças e dos pais e escolaridade do pai, mais prejuízo cognitivo; maiores escores em relação ao total de eventos adversos e às adversidades parentais recentes. Os dados apontaram que o *Grupo Desistente* tinha mais crianças nas séries iniciais - fase em que as dificuldades ainda não são tão evidentes - e poucos problemas comportamentais, fatores que podem levar a família a acreditar que as dificuldades da criança não demandam atendimento especializado. O *Grupo abandono* apresentou

crianças mais novas, pais mais jovens e com menos escolaridade - condições preditoras de abandono, como corroborado pela literatura. O prejuízo cognitivo pode ter levado a família a não ter as expectativas supridas em relação à efetividade do tratamento. Além disso, a vivência de situações adversas dificulta o comprometimento dessas famílias no atendimento, constituindo uma condição de risco para abandono. Os resultados ressaltam a importância de se fazer a distinção entre as famílias *desistentes* e *abandonadoras*, a fim de buscar subsídios para uma maior retenção das crianças nos atendimentos ambulatoriais.

PORTA GIRATÓRIA: CONCEITO E OCORRÊNCIA NAS INTERNAÇÕES PSQUIÁTRICAS EM RIBEIRÃO PRETO - SP

Raquel dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Jose Onildo Betioli Contel
Tese de Doutorado apresentada em 21/09/2007

Introdução: A redução do número de leitos no sistema de atendimento à saúde mental, a nível internacional, a partir de 1960, e no Brasil, através de legislação específica, a partir de 1992, deu origem a um processo denominado de desinstitucionalização. Esse processo provocou o fechamento de grandes hospitais psiquiátricos e o surgimento de um subgrupo importante de pacientes, com transtornos mentais graves, que apresentavam em comum uma alta frequência de reinternações hospitalares. Essas reinternações constituíram um fenômeno denominado de porta giratória, pelo qual alguns hospitais chegaram a registrar até 80% dos pacientes sendo readmitidos nos dois anos seguintes à alta.

Objetivos: Caracterizar, nos períodos de 1998-1999 e 2003-2004, na XIII Direção Regional de Saúde de Ribeirão Preto (DIR-XIII), nos Serviços da Enfermaria de Psiquiatria e Unidade de Emergência Psiquiátrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e no Hospital Psiquiátrico Santa Tereza de Ribeirão Preto: 1) a porcentagem das internações psiquiátricas, com destaque para o fenômeno da porta giratória caracterizada pelos pacientes com três ou mais internações; 2) a duração média de internação e as possíveis diferenças entre elas e entre os Serviços e; 3) a prevalência de diagnósticos psiquiátricos nas porcentagens de internação em cada serviço.

Material e Método: Os dados foram coletados do Centro de Processamento de Dados Hospitalares do Departamento de Medicina Social da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, que utiliza a folha-resumo – FOLHA DE ALTA – preenchida por ocasião da alta dos pacientes, a qual identifica o hospital, a enfermaria e o paciente. Foram estudadas 7973 internações

com diagnóstico de transtornos mentais e comportamentais, sendo 3846 no primeiro e 4127 no segundo período. As internações e reinternações foram divididas em um grupo com até duas e outro com três ou mais por paciente. As variáveis hospital, tempo de permanência hospitalar, duração média da internação, diagnóstico, sexo, idade e número de reinternações por paciente, foram analisadas através do programa EFI-INFO, versão 6.04.

Resultados: O Santa Tereza e a Emergência apresentaram as maiores porcentagens de internações nos dois períodos. Entre o primeiro e o segundo período a Enfermaria deu um salto de 6% para 14% do total das internações. O número de internações no período 2003-2004 aumenta nas primeiras, diminui nas segundas e mostra aparente estabilização nas três ou mais internações. A duração média de internações foi significativamente diferente quando o grupo com até duas internações foi comparado com o de três internações, nos dois períodos. Os diagnósticos mais prevalentes em ambos os períodos foram: Alcoolismo, Transtorno Bipolar de Humor e Esquizofrenia. No período 2003-2004 os Transtornos de Personalidade é parte dos três diagnósticos mais prevalentes em pacientes com três ou mais internações.

Discussão: A presença de uma porcentagem importante de pacientes que repetem três ou mais internações nos dois períodos caracteriza a existência e persistência ao longo de cinco anos, do fenômeno da porta giratória nos hospitais estudados. A prevalência da porta giratória é diferente de um hospital para outro, chegando a 30% e 33,1% no Hospital Santa Tereza, respectivamente em 1998-1999 e 2003-2004. A duração média de permanência de 9 e 13 dias no período 1998-1999 e de 10,7 e 12,8 dias no período 2003-2004 mostra uma grande rotatividade dos leitos existentes. A rotatividade, à custa da curta permanência e a prevalência de diagnósticos graves são duas condições necessárias para o surgimento e persistência do fenômeno da porta giratória no sistema de atendimento psiquiátrico estudado.

SAÚDE NA COMUNIDADE

DOENÇA MENTAL MATERNA: AÇÕES DE *Parenting* E SUPORTE SOCIAL

Andrea Ruzzi-Pereira

Orientador: Prof.Dr. Jair Lício Ferreira Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 06/07/2007

A reforma psiquiátrica possibilitou o tratamento de doentes mentais em serviços de saúde da comunidade, ampliando as condições de mulheres doentes mentais constituírem família e criarem seus filhos. O presente trabalho teve por objetivos identificar associações entre práticas parentais de mães portadoras de transtornos mentais, suporte social e condições sócioeconômicas das mesmas e de verificar possíveis diferenças entre práticas parentais de mães com transtorno mental e mães saudáveis. A pesquisa foi realizada com 41 mulheres portadoras de transtorno mental e seus filhos adolescentes, comparando-se com 41 díades mãe-filho saudáveis, de uma pequena cidade do interior de São Paulo. Os dados foram coletados através do

Questionário de Suporte Social, das Escalas de Exigência e Responsividade Parentais e do Critério de Classificação Econômica Brasil. Os resultados evidenciam maior insatisfação com o suporte social recebido por famílias cuja mãe é portadora de transtorno mental, e que nessas famílias, os pais são menos responsivos do que os pais do grupo comparado. O estudo também encontrou que as mães do grupo comparado são mais exigentes e responsivas do que as mães do grupo de estudo; que as mães de ambos os grupos são mais responsivas e mais exigentes com os filhos mais jovens e que a situação econômica familiar também influencia no cuidado materno. Conclui-se que a doença mental influencia nas ações de cuidado materno; que o baixo suporte social e condições financeiras precárias podem influenciar de forma negativa, mas que o suporte social adequado pode atuar como fator protetivo, influenciando positivamente no cuidado materno.

OCORRÊNCIA DE DISFUNÇÃO SEXUAL ENTRE MULHERES SUBMETIDAS À LAQUEADURA TUBÁRIA NO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO PRETO (SÃO PAULO – BRASIL)

Rodolfo de Carvalho Pacagnella

Orientadora: Prof.Dra. Elisabeth Meloni Vieira

Dissertação de Mestrado apresentada em 26/07/2007

Introdução: Embora a contracepção seja bastante prevalente no Brasil (77%), apenas dois métodos predominam: o contraceptivo hormonal oral e a esterilização cirúrgica (LT). No entanto a LT não é inócua e pode trazer diversas conseqüências para a vida dessas mulheres que se submetem a ela. Dentre estas pode estar a deterioração da função sexual o que seria contraditório visto que a LT objetiva uma vida sexual melhor, menos atemorizada pelo medo da gravidez. O presente estudo teve como objetivo avaliar a função sexual de mulheres submetidas à LT.

Métodos: Estudo transversal de 235 casos, representativos de 1826, com dados obtidos através de inquérito da função sexual entre as mulheres laqueadas pelo SUS em Ribeirão Preto (SP) entre 2000 e 2004, utilizando-se o *Female Sexual Function Index (FSFI)* adaptado para o contexto brasileiro.

Resultados: As entrevistadas tinham em média 35,9 anos e foram esterilizadas em média aos 33,3 anos; 89,8% estavam em união marital, 57,9% declararam-se brancas e

66,8%, católicas, tinham em média 6,1 anos de estudo e 76,6% pertenciam às classes C e D; 93,4% referiram ter um bom relacionamento conjugal e 59,5% declararam que o relacionamento não mudou após o procedimento. A média de filhos vivos foi 3,2, resultaram aborto 8,8% das gestações, 71,2% resultaram partos vaginais e 28,8%, cesáreas; 52,3% usaram pílula 6 meses antes da cirurgia; 98,7% responderam estar satisfeita com a cirurgia e 6,8% referiram dor pélvica. Em geral, 34% das mulheres apresentaram escores de índice com risco para disfunção sexual medido pelo FSFI. Foi observada associação entre a variável disfunção sexual e categoria de escolaridade, renda per capita, dor pélvica, número de gravidezes, número de partos vaginais e de cesáreas. Observou-se correlação negativa entre o escore de função sexual e o número de filhos vivos e correlação positiva entre o escore e renda familiar, renda per capita e os valores de classificação econômica.

Conclusão: A partir dos dados obtidos, pôde-se observar que dentre as mulheres laqueadas do estudo a presença de disfunção sexual estava associada à dor pélvica e maior número de cesarianas, assim como a situações ligadas à vulnerabilidade social (baixa renda e escolaridade e maior número de filhos).

ANÁLISE DAS CONDIÇÕES DO USO DE MEDICAMENTOS POR IDOSOS ATENDIDOS EM AMBULATÓRIO DE HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Cris Renata Grou Volpe

Orientador: Prof. Dr. Antonio Ruffino Netto

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/08/2007

O envelhecimento é inevitável, a população brasileira está envelhecendo, fazendo necessário um sistema que direcione as questões que surgem com esta situação. O presente estudo, uma investigação epidemiológica descritiva, inquérito prospectivo, teve como objetivo estudar as condições do uso de medicamentos em pacientes, com idade igual ou superior a 60 anos, atendidos em ambulatório de um hospital universitário de Ribeirão Preto-SP, bem como avaliar a adesão desses pacientes ao tratamento farmacológico. Foram entrevistados 127 pacientes que utilizavam medicamento domiciliar do ambulatório de geriatria do referido hospital, aleatoriamente, 79,5% pertenciam ao sexo feminino, com idade média de 75,37 anos e 32,3% analfabetos. Houve predominância dos casados com 45,7% e viúvos 45,7% e aposentados 69,3%, com predominância também da baixa renda familiar 39,3%, renda de 2 salários mínimos. O grupo estudado fazia uso em média de 6,5 medicamentos por dia, a maioria dos pacientes adquiriam seus medicamentos no posto e complementavam com a farmácia. Os pacientes tinham, em média, 6,6 diagnósticos por cada um, demonstrando a complexidade dos entrevistados. O Teste Morisky e Green foi utilizado para mensurar a adesão individual ao tratamento farmacológico, sendo que do total de 127 entrevistados, 55 % esqueciam de tomar seus

medicamentos, enquanto 36 % se descuidavam do horário, 81 % não tomam quando se sentiam bem e ainda, 64,6 % deixavam de tomar, caso os medicamentos faziam mal. Quando utilizado o Critério 1, obtivemos uma adesão de 47%, e ao Critério 2, uma adesão de 22%. Foram consideradas as atividades de vida diária (AVD), avaliadas pela aplicação da Escala de Barthel de AVD, sendo que 91,3% apresentam grau leve de dependência, a Escala de depressão geriátrica (EDG) foi aplicada nos pacientes e os índices de depressão encontrados na população estudada foram um quanto preocupantes, 60% dos pacientes tinham sintomas depressivos, dos quais 24% apresentavam sintomas de depressão grave. Quanto aos resultados do Mini Exame do Estado Mental (MEEM), 63% dos pacientes estavam com alterações cognitivas significantes. Foi possível relacionar os índices de adesão com os resultados obtidos na EDG, MEEM e Barthel, e concluiu-se que, enquanto mais presente os sintomas de depressão e as alterações cognitivas menor a adesão, bem como quanto maior a independência, avaliada pela escala de AVD de Barthel, maior a adesão. O processamento dos dados foi efetuado pelo programa EXCEL e SAS. Os dados apresentados evidenciam que a adesão ao tratamento farmacológico é um padrão de comportamento individual, que reflete nas crenças, medos, danos causados pela doença e vantagens do tratamento farmacológico. Também se identificou necessidade de estratégias que visem racionalizar o uso de medicamentos em idosos para melhoria de sua qualidade de vida.

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS ESTATÍSTICOS APLICADOS AO ESTUDO DE TESTES DIAGNÓSTICOS NA PRESENÇA DO VIÉS DE VERIFICAÇÃO

Davi Casale Aragon

Orientador: Prof. Dr. Edson Zangiacomi Martinez

Dissertação de Mestrado apresentada em 31/08/2007

O estudo de métodos estatísticos na avaliação de métodos diagnósticos tem aumentado consideravelmente nas últimas décadas. Desde o início, quando Yerushalmy (1947) publicou seu trabalho sobre confiabilidade do roentgenograma na identificação da tuberculose, novas metodologias surgiram para que fosse possível a obtenção de valores de sensibilidade e especificidade de testes diagnósticos. A sensibilidade é definida como a probabilidade de o teste sob investigação fornecer um resultado positivo, dado que o indivíduo é realmente portador da enfermidade. A especificidade, por sua vez, é definida como a probabilidade de o teste fornecer um resultado negativo, dado que o indivíduo está livre da enfermidade. Na prática, é

comum ocorrerem situações em que uma proporção de indivíduos selecionados não pode ter o estado real da doença verificado, por se tratar de procedimentos invasivos, como no diagnóstico de câncer de pulmão, ou quaisquer outros casos em que são envolvidos riscos, portanto não praticáveis, nem éticos, ou ainda por serem de alto custo. Assim, em vez de se contornar o problema, muitos estudos de avaliação do desempenho de testes diagnósticos são elaborados apenas com informações de indivíduos verificados. Esse procedimento pode levar a resultados viesados. É o chamado viés de verificação, que consiste no cálculo de estimativas de sensibilidade e especificidade de testes diagnósticos quando apenas os indivíduos verificados pelo padrão ouro são inseridos na análise e os não verificados são descartados ou considerados livres de doença. Este trabalho apresenta uma revisão das metodologias já propostas para se calcularem a sensibilidade e a especificidade

quando existe o viés de verificação, bem como uma análise detalhada da influência da proporção de indivíduos não verificados, o efeito do tamanho amostral e a escolha de distribuições *a priori*, quando utilizada a metodologia bayesiana,

no cálculo dessas estimativas. Também foi introduzida uma metodologia, sob enfoque bayesiano, para a estimação das medidas de desempenho de dois testes diagnósticos, na presença do viés de verificação.

INDICADORES DA FUNÇÃO RESPIRATÓRIA FRENTE AO POSICIONAMENTO EM RECÉM-NASCIDOS PRÉ-TERMO SUBMETIDOS AO AUMENTO DO VOLUME GÁSTRICO

Gisley de Pádua

Orientador: Prof. Dr. Edson Zangiacomi Martinez

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/09/2007

As alterações respiratórias durante o aumento do volume gástrico, como na dieta por gavagem, acarretam algumas conseqüências ao recém-nascido pré-termo, alterando indicadores da função respiratória, como: aumento da frequência respiratória e cardíaca, fadiga muscular, apnéias, cianose, hipoxemia e hipercapnia. Um posicionamento corporal adequado apresenta grande influência sobre a biomecânica da caixa torácica, pois serve como ponto de apoio à musculatura respiratória, ocasiona maior contratilidade do músculo, altera a pressão pleural, aumenta o volume de ar pulmonar gerando menor esforço respiratório e menor desvantagem mecânica ao sistema respiratório. O posicionamento direcionado aos recém-nascidos prematuros promove uma reorganização sensorial, sono tranqüilo, menor gasto energético e menor desordem no equilíbrio muscular postural, promovendo menor índice de complicações futuras no desenvolvimento. O presente estudo propôs analisar através dos indicadores da função respiratória a resposta aos posicionamentos em recém-nascidos pré-termo submetidos ao aumento do volume gástrico durante a gavagem. Foi realizado um estudo com delineamento prospectivo, randomizado e tipo crossover. Foram estudados 16 recém-nascidos prematuros de 31 a 34 semanas de idade gestacional, com peso de nascimento até 2.500 g. Foram selecionados os recém-nascidos que recebiam a dieta via sonda oro-gástrica com volume total de 150 ml/kg/dia, que se encontravam do sétimo ao décimo dias de vida, sem oxigenoterapia suplementar. Foi utilizado a cada administração da dieta um posicionamento de decúbito diferente,

sendo todos com 30° de elevação. Cada recém-nascido recebeu quatro gavagens com intervalo entre elas de 3 horas. Os decúbitos foram: lateral direito, lateral esquerdo, pronação e supinação. Os indicadores da função respiratória analisados foram: frequência respiratória e cardíaca, saturação de oxigênio, tiragem intercostal, batimento de asa nasal e gemência. Os parâmetros foram coletados de dois em dois minutos a partir de cinco minutos antecedendo a gavagem até o quinto minuto após o término da administração da dieta. Os recém-nascidos acompanhados apresentaram média de 32 semanas de idade gestacional (desvio padrão, DP, 1,31), peso médio ao nascimento de 1.722 g (DP 276,33). Na comparação entre os decúbitos, a frequência respiratória média apresentou-se com valores mais altos durante toda a coleta em supinação e lateral esquerdo (média = 69 e 68, incursões por minuto, ipm) e os valores mais baixos foram encontrados em lateral direito e pronação (61 e 59 ipm). Nos posicionamentos em lateral direito e pronação a frequência cardíaca média obteve os níveis mais estáveis e mais baixos durante toda a coleta, porém, a supinação apresentou os valores mais altos (média = 142,4, batimentos por minuto, bpm). No decúbito lateral esquerdo e supinação a saturação de oxigênio médio apresentou os menores valores (média geral = 94%) principalmente após a gavagem. Na tiragem intercostal, no batimento de asa nasal e na gemência o lateral direito e pronação apresentaram maior ausência destes sinais, e o lateral esquerdo e supinação apresentaram maior frequência a eles. Assim, concluiu-se que os decúbitos lateral direito e pronação demonstraram maior repercussão positiva nos indicadores da função respiratória, sendo a supinação e lateral esquerdo as posições de maiores efeitos negativos nos recém-nascidos submetidos ao aumento do volume gástrico.

OS SENTIDOS CONSTRUÍDOS ACERCA DO CUIDADO AO PORTADOR DE TRANSTORNO MENTAL GRAVE POR UMA EQUIPE DE SAÚDE DA FAMÍLIA NA CIDADE DE ARARAQUARA (SÃO PAULO - BRASIL)

Carina Fernanda Robles Angelini

Orientadora: Prof. Dra. Maria do Carmo G. G. Caccia-Bava.

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/09/2007

Introdução: O processo de transformação das ações no campo da saúde mental no Brasil tem se configurado

como um grande desafio a todos os atores sociais envolvidos. As múltiplas significações da loucura, os conceitos de saúde-doença, os modelos de organização da rede assistencial, a (des)alocação de recursos, a preparação dos profissionais para o novo projeto tecno-político, determinam condutas e norteiam decisões com relação à promoção do

cuidado em saúde mental. Novas tendências apontam para a importância de ações construídas a partir de seu contexto, voltadas a comunidades. Dessa forma, a construção de novos dispositivos para o cuidado ao doente mental, como a implantação dos CAPS, propôs a reorganização do cuidado, a implantação da Estratégia Saúde da Família o fez em relação ao cuidado à saúde de forma abrangente. Estes dois dispositivos devem integrar-se numa rede articulada sob a lógica do cuidado coordenado, humanizado, territorializado, paciente-centrado, não sendo suficiente a mera mudança física dos locais das práticas assistenciais. Assume-se que é preciso sair dos fundamentos rígidos para as flexibilidades, da especialidade profissional isolada para o conhecimento interdisciplinar colaborativo. Nessa reconstrução as falas dos trabalhadores ganham valor fundamental e o construcionismo social oferece condições para se conhecer o modo como as pessoas constroem sentidos no contexto onde realizam suas práticas.

Objetivo: compreender os sentidos sobre o cuidado ao portador de transtorno mental grave, construídos por uma equipe de saúde da família.

Método: Foi áudio-gravada uma sessão de Grupo Focal com a equipe de saúde da família na cidade de Araraquara (SP), de onde procede o maior número de encaminhamentos de pacientes para o CAPS. Para análise dos dados foi utilizado o Construcionismo Social como referencial teórico-metodológico. A sessão de grupo foi transcrita e junto ao diário de campo, constituíram a base de dados. Construiu-se um Mapa de Associação de Idéias baseado na transcrição do grupo focal, utilizando-se categorias de análise e eixos temáticos.

Resultados: A análise descreveu sentidos acerca das noções que vem sustentando as práticas de cuidado ao portador de transtorno mental em uma equipe de saúde da família. Verificou-se que, a multiplicidade de sentidos favorece a desnaturalização de discursos fixos sobre o doente mental grave se seu cuidado na Atenção Básica.

Considerações finais: A construção conjunta aponta possibilidades de transformação do cuidado àqueles que, historicamente, tiveram a si mesmos e seus cuidados excluídos dos serviços de saúde e do mundo social.

MODELOS DE ANÁLISE DE SOBREVIVÊNCIA APLICADOS NO ESTUDO DO COMPORTAMENTO DE RETORNO DO DOADOR DE SANGUE

Adriana de Fátima Lourençon

Orientador: Prof.Dr. Edson Zangiacomi Martinez
Dissertação de Mestrado apresentada em 20/09/2007

Notícias de escassez no mundo inteiro, dada a crescente demanda e o rigor na triagem clínica, levaram a necessidade de investigar métodos que mensurem o comportamento de retorno do doador de sangue, sobretudo o indivíduo que manifesta a intenção voluntária em doar. Curvas de Sobrevivência entre outros métodos estatísticos são amplamente estudados na literatura com o intuito de obter uma estimativa da chance de um doador vir a realizar uma subsequente doação, associado ao seu perfil. O objetivo

do presente estudo é identificar modelos estatísticos capazes de descrever esse comportamento utilizando os registros do Centro Regional de Hemoterapia de Ribeirão Preto. A construção de modelos de longa-duração, por exemplo, pode ser um meio de evidenciar possíveis subgrupos mais propensos a retornar, além de estimar a proporção de doadores que jamais retornarão. Entre os resultados, observamos que apenas 40% dos doadores voluntários retornaram após um ano decorrido da primeira doação, e 20% destes jamais retornarão. O ajuste do modelo longa-duração possibilitou ainda indicar alguns subgrupos de doadores prováveis e improváveis de retornar, porém tais resultados reforçam as evidências de que a motivação intrínseca é o que leva o indivíduo a retornar.

ASPECTOS FAMILIARES ENVOLVIDOS NO DESENVOLVIMENTO DE CRIANÇAS COM PARALISIA CEREBRAL

Helena Barcellos Guarnieri Ferreira

Orientadora: Profa.Dra. Maria do Carmo G. G. Caccia-Bava,
Dissertação de Mestrado apresentada em 27/09/2007

O presente estudo aborda o tema família de crianças e adolescentes com paralisia cerebral e tem como objetivo identificar como alguns fatores (condições socioeconômicas, suporte social e grau de comprometimento motor) vivenciados pelas famílias podem estar relacionados com o

seu desempenho e independência nas tarefas. Uma criança com paralisia cerebral na família pode alterar todas as relações gerando a necessidade de reação frente à nova e desconhecida situação. Dentre os fatores de resiliência familiar - definida como capacidade de reação e aceitação positiva diante de situações estressantes e adversas, destacou-se o suporte social, que mereceu destaque nesse trabalho. Como demonstra a literatura, a presença de uma rede de apoio social pode auxiliar os familiares na supera-

ção das adversidades. Utilizou-se o “*Social Support Questionnaire*”, traduzido e validado por Matsukura; Marturano; Oishi (2002), que foi aplicado às cuidadoras de crianças e adolescentes com paralisia cerebral na cidade de Barretos. Este instrumento permite obter escores para o número de figuras de suporte percebido pelas cuidadoras e a satisfação com este suporte social. Para estabelecer o grau de independência no desempenho ocupacional das crianças e adolescentes com paralisia cerebral aplicou-se a Avaliação Pediátrica do Inventário da Incapacidade -PEDI (MANCINI, 2005), que estabelece o perfil funcional nas áreas de autocuidado, mobilidade e função social, e o nível de assistência dado pelo cuidador nestas habilidades. Por meio do Índice Paulista de Vulnerabilidade Social -IPVS (SEADE, 2006), indicador da situação socioeconômica que classifica as famílias a partir de seus endereços, foi possível situá-las nas áreas de vulnerabilidade social muita baixa, baixa, média, alta e muito alta. Participaram desta pesquisa 27 cuidadoras de crianças e adolescentes com paralisia cerebral de duas instituições de atendimento multipro-

fissional a pessoas com necessidades especiais na cidade de Barretos. A apresentação dos resultados buscou evidenciar os padrões de distribuição e frequência das variáveis, bem como possíveis associações entre elas. Enfocou-se as duas instituições separadamente, bem como a população estudada em seu conjunto, o que permitiu identificar diferenças no perfil da criança atendida, nos aspectos socioeconômicos e no suporte social percebido pela cuidadora. Como resultado do estudo encontrou-se que as cuidadoras da APAE e também aquelas com melhor condição socioeconômica estavam mais satisfeitas com o suporte social. Os familiares, principalmente o marido, foram apontados como principais fonte de apoio. Encontrou-se uma incidência alta de depressão entre as cuidadoras. Ressalta-se a necessidade dos profissionais envolverem de forma mais intensa os familiares nos tratamentos e atividades direcionadas às crianças e jovens com paralisia cerebral e que as ações de assistência sejam mais articuladas e integradoras, buscando suprir necessidades emocionais, afetivas e materiais, tanto da criança como de sua família.

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE SAÚDE BUCAL DA POPULAÇÃO DO PARQUE INDÍGENA DO XINGU, ENTRE OS ANOS DE 2001 E 2006

Raquel de Carvalho Pacagnella

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Rodrigues Júnior
Dissertação de Mestrado apresentada em 28/9/2007

A epidemiologia da saúde bucal dos povos indígenas no Brasil ainda é pouco conhecida. Os dados disponíveis, em geral, são pertinentes às zonas urbanas. As informações sobre a epidemiologia dessas doenças no Parque Indígena do Xingu (PIX) resultam de investigações nas quais foram utilizadas diferentes metodologias de coletas e análises de dados, dificultado assim um adequado panorama epidemiológico. A partir da implantação do Distrito Sanitário Especial Indígena do Xingu (DSEI-Xingu), em 1999, foram realizados três inquéritos epidemiológicos para doenças bucais, baseados na metodologia proposta pela OMS. O presente estudo teve como objetivo analisar a epidemiologia das referidas doenças no PIX, especificamente de quatro aldeias de diferentes etnias, considerando as necessidades assistenciais odontológicas. Para tal, foi realizado um estudo epidemiológico descritivo, utilizando dados secundários colhidos pela equipe do DSEI-Xingu, provenientes de inquéritos realizados em três momentos distintos: 2001, 2003 e 2006. Foram utilizados: o índice CPO-D, para avaliação da experiência de cárie e para aferir a doença periodontal, o índice periodontal comunitário (IPC). A análise dos resultados mostrou que nas aldeias estudadas, o principal problema de saúde bucal é a cárie, atingindo no ano de 2006, 81% da população. Em relação à cárie, nota-se uma queda nas médias do CPO-D para a maioria das faixas

etárias no ano de 2006 em relação a 2001 e houve melhora também nos percentuais de pessoas livres de cárie para as idades entre 0 e 19 anos. As médias de ceo-d para o grupo etário de 0 a 3 anos apresentam elevação no período, exceto na aldeia Moigu, que mostrou diminuição de 8,0 em 2001 para 1,8, em 2006. Ao se analisar os componentes do CPO-D e ceo-d, quando comparados os dados obtidos em 2006 e 2001, foi possível verificar que o componente “cariado” apresentou redução para a maioria das faixas etárias em todas as aldeias, assim como o aumento dos componentes “obturados e perdidos”. Observou-se que para a dentição decídua o componente cariado possui grande contribuição no ceo-d em todas as aldeias, variando entre 69% a 86% do índice. Isso traduz dificuldades no acesso dessa população aos serviços odontológicos. O índice IPC mostrou aumento do percentual de pessoas sem doença periodontal em todas as aldeias, queda no percentual de pessoas com algum tipo de bolsa periodontal e cálculo como o principal problema. Em relação às necessidades de tratamento verificou-se que restaurações foram as indicações mais frequentes e houve um aumento no número de dentes sem nenhuma necessidade. Para a doença periodontal, observou-se que mais de 80% das pessoas acima de 15 anos precisam de tratamento e necessidade de profilaxia; as necessidades por cuidados mais complexos representam apenas 3%. Concluímos que no período de 2001 a 2006, houve uma melhoria nas condições de saúde bucal dessas populações. Uma hipótese explicativa seria a estruturação do programa de saúde bucal nestas áreas.