

Resumos de Dissertações de Mestrado e Teses de Doutorado apresentadas na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP de outubro a dezembro de 2011

Biologia Celular e Molecular

O PAPEL DOS TRANSPORTADORES DE POTÁSSIO NA REPLICAÇÃO E PATOGÊNESE DE *Legionella pneumophila*

Juliana Issa Hori

Orientador: Prof. Dr. Dario Simões Zamboni

Tese de Doutorado apresentada em 21/10/2011

Legionella pneumophila é uma bactéria Gram-negativa intracelular responsável por causar a “Doença dos Legionários”. Estudos genéticos em camundongos demonstraram que proteínas presentes na célula hospedeira como NAIP5, NLRC4 e ASC participam do controle da infecção bacteriana em macrófagos em um processo dependente da ativação de caspase-1. E ainda, que a ativação desta via ocorre em resposta à flagelina de *L. pneumophila*. Porém, macrófagos de camundongos selvagens ainda apresentam ativação de caspase-1 mesmo quando infectados com bactérias deficientes para flagelina, sugerindo o envolvimento de outros mecanismos bacterianos nessa via de controle. Para determinar se outros fatores bacterianos estariam envolvidos na ativação do sistema imune inato, foi realizado um screening genético em macrófagos e identificado o gene *kupA* como sendo importante para a replicação intracelular de *Legionella*. KupA é um transportador de potássio funcional que não interfere na multiplicação bacteriana em meio axênico; porém, a sua ausência prejudicou a multiplicação bacteriana em *Acanthamoeba castellanii* e também retardou a replicação inicial da bactéria em macrófagos de camundongos. Esse defeito na multiplicação inicial pôde ser correlacionado com um defeito no estabelecimento do LCV (Vacúolo Contendo Legionella). Contudo, bactérias *kupA* foram mais resistentes ao *clearance* por macrófagos. Análises posteriores demonstraram que KupA interfere com a expressão de flagelina, porém, a ativação de caspase-1 mediada por KupA é independente de flagelina. Essa ativação não está relacionada com o inflamassoma de NLRC4 e parece estar envolvida com um inflamassoma dependente de ASC. Por fim, bactérias *kupA* também foram mais resistentes ao *clearance in vivo* e apresentaram um defeito no recrutamento de neutrófilos para o pulmão de animais infectados. Coletivamente, esses dados identificam KupA como um transportador funcional de potássio que facilita a replicação intracelular de *L. pneumophila*, porém contribui para a ativação do sistema imune, por meio de um inflamassoma dependente de ASC.

A2BP1 É COMPONENTE DE COMPLEXOS CONTENDO ME31B E MRNAS MATERNOS NO FOLÍCULO OVARIANO DE *Drosophila melanogaster*

Mayara Terra Villela Vieira

Orientadora: Profa. Dra. Maria Luisa Paçó Larson

Dissertação de Mestrado apresentada em 07/11/2011

A2bp1 é membro de uma nova família de proteínas conservadas em metazoários e com funções relacionadas ao metabolismo de mRNA, tais como, *splicing* alternativo e controle transcricional. Trabalhos em nosso laboratório têm identificado A2bp1 como possível componente de *p-bodies* em células S2R+ de *Drosophila*, sugerindo novas funções para essa família de proteínas. Considerando a importância de proteínas de *p-bodies* para a oogênese e embriogênese, neste trabalho investigamos a localização subcelular de A2bp1 nas células dos folículos ovarianos, e sua interação com as proteínas de *p-bodies* Dcp1 e Me31B. No ovário de *Drosophila melanogaster*, estas proteínas estão presentes nos *sponge bodies*, estruturas subcelulares relacionadas com o transporte de moléculas das células nutridoras para o oócito

durante o desenvolvimento do ovário. Utilizando um anticorpo gerado em nosso laboratório, contra fragmento comum a todas isoformas de A2bp1, observamos que A2bp1 colocaliza-se com Dcp1-YFP e Me31B-GFP nas células nutridoras em focos citoplasmáticos e perinucleares. Também semelhante ao padrão de Dcp1-YFP e Me31B-GFP, a marcação de A2bp1 no oócito apresentou-se intensa e concentrada na região posterior durante os estágios pré-vitelogênicos. Através de experimentos de co-imunoprecipitação de extratos ovarianos, tratados ou não tratados com RNase, observamos que A2bp1 interage com Me31B-GFP de modo independente de RNA. Visto que Me31B participa de partículas envolvidas no transporte e silenciamento de mRNAs de origem materna, a interação de A2bp1 com complexos contendo os mRNAs maternos *oskar*, *gurken* e *bicoid* foi analisada através de RIP (*RNA immunoprecipitation*). Observamos que esses mRNAs são enriquecidos nos imunoprecipitados de A2bp1. Além disso, verificamos que o padrão de localização subcelular de A2bp1 é significativamente alterado nos ovários após tratamento com colchicina, de modo remanescente ao descrito para os *sponge bodies* e proteínas envolvida no transporte e silenciamento de mRNAs. O conjunto de resultados obtidos indicam que A2bp1 faz parte de complexos de mRNP presentes nos *sponge bodies/P-bodies* sugerindo que possa atuar em processos de transporte, localização e/ou repressão de mRNAs; funções ainda não demonstradas para essa família de proteínas.

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE LINHAGENS TRANSGÊNICAS PARA O ESTUDO FUNCIONAL DE *jazigo* DURANTE O DESENVOLVIMENTO DE *Drosophila*

Lucas Anhezini de Araujo

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Guelerman Pinheiro Ramos

Tese de Doutorado apresentada em 20/12/2011

Durante o desenvolvimento dos metazoários hormônios esteróides regulam fenômenos tão distintos quanto diferenciação e morte celular. Na metamorfose de *Drosophila*, dois pulsos sequenciais do hormônio esteróide 20-hidroxiecdisona (20E) disparam respostas estágio e tecido específicas fundamentais para o desenvolvimento do inseto. O primeiro pulso estimula a glândula salivar larval a produzir os polipeptídeos "glue" e dispara a morte celular do intestino médio larval. O segundo pulso dispara a morte celular programada (MCP) da glândula salivar larval e a diferenciação de vários tecidos. Vários genes de resposta inicial à ecdisona, tais como: β FTZ-F1, BR-C, E74A e E93 são essenciais para a ativação dos genes de morte celular como reaper (*rpr*) e *head involution defective* (*hid*). As similaridades observadas entre a MCP em insetos e humanos e o conjunto de ferramentas genéticas disponíveis em *Drosophila* fazem com que esse inseto seja um modelo ideal para a identificação de novos genes. Em um "screen" genético prévio, foi identificado uma mutação (inserção de elemento-P) que afeta a MCP da glândula salivar larval durante o desenvolvimento de *Drosophila*. Os indivíduos homocigotos para a inserção do elemento-P apresentam glândulas salivares persistentes. O gene mutado pela inserção do elemento-P foi nomeado *Jazigo* (*jaz*) e codifica uma proteína que compartilha alta homologia com as proteínas forminas, as quais têm sido implicadas no remodelamento do citoesqueleto de actina em diferentes processos biológicos. *Jazigo* é induzido pelo segundo pulso de ecdisona conjuntamente com outros genes de morte celular. Com base no fenótipo mutante *jazigo*, na importância biológica de forminas e na regulação desse processo por ecdisona, neste trabalho foram construídas e caracterizadas linhagens transgênicas tanto para o *knockdown in vivo* de *jazigo* quanto para a sua expressão ectópica. Análises dos níveis de transcrito por PCR em tempo real mostraram que as linhagens produzidas são efetivas no silenciamento do gene em diferentes contextos e tecidos durante o desenvolvimento, bem como reproduziram o fenótipo de glândulas salivares persistentes. Similarmente aos mutantes já caracterizados de *jazigo*, o silenciamento promoveu alterações no citoesqueleto de actina das glândulas salivares persistentes. Três linhagens transgênicas produzidas para a expressão ectópica do mRNA *jazigo* inteiro, ou deletado dos domínios FH2 e GBD mostraram efetiva indução do transgene pelo sistema UAS-GAL4. Geramos ainda linhagens em que o locus *jazigo* foi deletado pela utilização de transposons que flanqueiam a região genômica. A combinação dessas linhagens (background nulo para *jazigo*) com as construções de super-expressão contendo deleções é uma análise essencial para avaliação da função de *jazigo* como uma formina durante o desenvolvimento. Algumas análises funcionais foram realizadas utilizando "drivers" de expressão no olho em desenvolvimento e em células miogênicas durante a embriogênese. O silenciamento da expressão de *jazigo* no olho resultou em alterações fenotípicas evidentes como: cerdas duplicadas, omatídias fusionadas e com formato aberrante. Já o silenciamento de *jazigo* nas células da linhagem miogênica durante a embriogênese gerou letalidade embrionária. A análise do citoesqueleto de actina dos embriões afetados demonstrou severas alterações da distribuição de actina filamentosa. O envolvimento de *jazigo* no desenvolvimento ocular e na miogênese sugerem novas funções de *jazigo* durante o desenvolvimento, porém, todas essas possíveis funções devem ser confirmadas.

Clínica Cirúrgica

EXPRESSÃO E CORRELAÇÃO DOS RECEPTORES AMPA (GluR2), NMDA (NR1), GABAA ($\alpha 2$, $\beta 3$, E $\gamma 2$) E DOS MICRORNAS 181B, 219 E 195 EM AMÍGDALAS E HIPOCAMPOS DE PACIENTES COM EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL MESIAL

Osmi Hamamoto

Orientador: Prof. Dr. Carlos Gilberto Carlotti Junior

Tese de Doutorado apresentada em 18/10/2011

Introdução: Na epilepsia do lobo temporal mesial as crises originam-se na amígdala, no hipocampo ou em ambas as estruturas. O aumento da susceptibilidade do tecido nervoso às crises epiléticas tem sido ligado a uma anormalidade na neurotransmissão, por meio de um aumento da excitatória ou por uma diminuição na neurotransmissão inibitória, ou por ambos os mecanismos. A procura por novas drogas antiepiléticas fez com que os estudos caminhassem no sentido de um melhor entendimento das bases celulares e moleculares da epilepsia. A descoberta de pequenas moléculas de RNA, chamadas de MicroRNAs mostrou que elas possuem um importante papel no desenvolvimento e regulação da plasticidade sináptica no sistema nervoso de vertebrados e vários estudos têm mostrado o envolvimento dos MicroRNAs em muitas doenças neurológicas, porém poucos têm associado os MicroRNAs com epilepsia.

Objetivo: Visando ao melhor entendimento desta patologia, estudamos o perfil de expressão das subunidades dos receptores de neurotransmissores AMPA (GluR2), NMDA (NR1), GABAA ($\alpha 2$, $\beta 3$, $\gamma 2$) e dos MicroRNAs 181b, 219 e 195 em amígdalas e hipocampus de pacientes operados para tratamento da epilepsia do lobo temporal mesial, refratária a medicação e comparamos com controles.

Pacientes e Métodos: A pesquisa foi aprovada pela comissão de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-SP (Processo no. 8728/08). Por meio da técnica de PCR em tempo real, avaliamos o envolvimento dos MicroRNAs 181b, 219 e 195 com a expressão gênica de alguns receptores de neurotransmissores excitatórios e inibitórios em amígdalas e hipocampus de pacientes com epilepsia e realizamos também a mesma análise em 12 amígdalas e hipocampus retirados de necrópsias de pacientes não neurológicos ou psiquiátricos.

Resultados: O MicroRNA 219 foi menos expresso em amígdalas epiléticas quando comparado com controles e houve uma relação inversa com o receptor NMDA(NR1). No hipocampo, o MicroRNA 219 estava aumentado e a relação inversa com NR1 também foi encontrada. O MicroRNA 195 foi menos expresso em amígdalas epiléticas e houve relação inversa com subunidade GABAA $\gamma 2$, porém não houve diferença entre hipocampus epiléticos e controles. O MicroRNA 181b não mostrou diferença na expressão entre epiléticos e controles.

Conclusão: Observamos aumento da subunidade NMDA (NR1) nas amígdalas de pacientes com crises convulsivas do lobo temporal mesial. As subunidades GluR2 do receptor AMPA estão aumentadas em amígdalas de pacientes epiléticos e o MicroRNA 181b não está envolvido na modulação desta subunidade em amígdalas e hipocampus epiléticos. O MicroRNA 219 modula a expressão das subunidades NR1 do receptor NMDA em amígdalas e hipocampus de pacientes epiléticos. O MicroRNA 195 pode modular especificamente a subunidade GABAA $\gamma 2$ em amígdalas de pacientes com epilepsia do lobo temporal mesial.

EXPRESSÃO DOS GENES RELACIONADOS À VIA EXTRÍNSECA DA APOPTOSE FAS, CASPASE 3, CASPASE 8 E c-FLIP EM CÂNCER DE BEXIGA

Denis Henrique Valdez Esteves

Orientador: Prof. Dr. Adauto José Cologna

Dissertação de Mestrado apresentada em 21/10/2011

Introdução: O câncer de bexiga representa o quarto tipo de tumor mais frequente no sexo masculino e é responsável por cerca de 7% de todas as neoplasias. A apoptose, ou morte celular programada, é um processo fisiológico vital para o desenvolvimento embriológico e manutenção da homeostase, estando também envolvida em muitos processos patológicos e no surgimento do câncer. Centenas de genes iniciam, executam e regulam esse processo. O conhecimento pormeno-

rizado da apoptose pode ser útil no tratamento das neoplasias malignas, incluindo o câncer de bexiga. O objetivo do estudo foi avaliar a expressão de genes relacionados a apoptose em amostras de pacientes portadores de carcinoma urotelial de bexiga.

Pacientes e Métodos: Foram utilizadas 60 amostras de câncer de bexiga (20 Grau I, 20 Grau II e 20 Grau III) e como controle, 20 amostras de tecidos vesicais normais provenientes de necrópsias para o estudo da expressão gênica de genes apoptóticos responsáveis pela ativação da via extrínseca (FAS, CASPASE 8 e CASPASE 3) e do gene anti-apoptótico c-FLIP por meio da técnica de PCR em tempo real.

Resultados: Foi observado aumento na expressão do gene FAS nos três graus do tumor, com diferença estatisticamente significativa entre controle e Grau I, controle e Grau II e tumor Grau I e Grau III ($p < 0,0001$); aumento na expressão da CASPASE 8 nos Graus I e II, porém sem diferença estatisticamente significativa ($p = 0,0770$); maior expressão de CASPASE 3 no Grau II, com diferença estatisticamente significativa entre controle e Grau I, controle e Grau II, tumor Grau I e Grau II e tumor Grau II e Grau III ($p < 0,0001$). O gene anti-apoptótico c-FLIP mostrou maior expressão nos três graus do tumor quando comparado ao controle, sendo maior no Grau III.

Conclusão: Os resultados mostraram que a expressão dos genes apoptóticos relacionados à via extrínseca foi baixa, principalmente no Grau III, demonstrando que este mecanismo celular é baixo neste tipo de tumor, fato reforçado pela maior expressão do gene anti-apoptótico c-FLIP.

EFEITOS DA BRADICININA NA LESÃO DE ISQUEMIA E REPERFUSÃO EM MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS

Luciano Rocha Mendonça

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eli Piccinato

Dissertação de Mestrado apresentada em 21/10/2011

Contexto: Alguns agentes farmacológicos em estudos de modelos animais demonstraram proteção nas lesões de isquemia e reperfusão do miocárdio. Entre eles, a bradicinina desempenha papel cardioprotetor durante a reperfusão do miocárdio. Os efeitos desta substância no músculo esquelético isquêmico não são conhecidos.

Objetivo: Demonstrar os efeitos da bradicinina administrada após 2 horas de isquemia total seguidas de 4 horas de reperfusão em músculo esquelético de ratos com base nos efeitos sobre enzimas musculares (aspartato aminotransferase - AST, lactato desidrogenase - LDH, e creatinina fosfoquinase - CPK), membrana celular, recrutamento de leucócitos e apoptose.

Materiais e Métodos: Foram estudados 18 ratos da linhagem *Wistar* distribuídos em 3 grupos com 06 animais e submetidos a 2 horas de isquemia total pelo método do torniquete do membro pélvico e 4 horas de reperfusão. Durante o período de reperfusão o grupo *Controle* recebeu solução salina, o grupo *Bradicinina* recebeu solução de bradicinina na dose de 1mg/Kg e o grupo *HOE* recebeu solução de icatibant (HOE 140), um antagonista do receptor B2, na dose de 125 µg/kg. Coletou-se 1,5ml de sangue da veia cava inferior antes do início da isquemia, ao final do período de isquemia e após a reperfusão para dosagem das enzimas AST, LDH e CPK. Colheuse também, após a reperfusão, biópsia do músculo gastrocnêmio (membro pélvico esquerdo) para dosagem tissular de malondialdeído (MDA), mieloperoxidase (MPO) e para avaliação imunohistoquímica da apoptose (TUNEL).

Resultados: Houve aumento significativo da AST após a reperfusão apenas no grupo *Bradicinina*. O valor da LDH no grupo *Bradicinina* foi maior em relação aos demais antes da isquemia, após a isquemia e após a reperfusão. Observou-se que nos três grupos ocorreu diminuição significativa de LDH após a reperfusão. Ocorreu aumento significativo dos valores da CPK após a reperfusão nos três grupos. Não houve diferença dos valores de CPK entre os grupos antes da isquemia. Os valores de CPK no grupo *Bradicinina* foram maiores quando comparados aos grupos *Controle* e *HOE* após a isquemia e após a reperfusão. O MDA elevou-se significativamente após a reperfusão no grupo *Bradicinina* em relação aos grupos *Controle* e *HOE*. Após a reperfusão, a MPO, elevou-se significativamente no grupo *Bradicinina* em relação ao grupo *Controle*. O número de nucleos apoptóticos foi semelhante entre os grupos.

Conclusão: A bradicinina (1mg/Kg) aplicada continuamente, intra-arterial, durante 4 horas de reperfusão agrava a lesão de isquemia e reperfusão em musculatura esquelética de ratos submetidos a 2 horas de isquemia total, com base na elevação de enzima muscular (CPK), no aumento de indicador de lesão de membrana celular (MDA) e no maior recrutamento neutrofílico (MPO).

CONCORDÂNCIA ENTRE PRESSÕES RESPIRATÓRIAS ESTÁTICAS MÁXIMAS PREDITAS E VALORES ENCONTRADOS EM PACIENTES ELETIVOS DE CIRURGIA CARDÍACA. AVALIAÇÃO ENTRE DUAS FÓRMULAS

Ricardo Kenji Nawa

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Barbosa Evora

Dissertação de Mestrado apresentada em 23/11/2011

Introdução: A cirurgia cardíaca (CC) determina alterações sistêmicas que demandam cuidados específicos no pós-operatório, dentre elas as alterações pulmonares. A consciência da importância da disfunção da musculatura respiratória na contribuição da insuficiência respiratória motivou o desenvolvimento de diversos estudos conduzidos em indivíduos saudáveis, a fim de se avaliar a força muscular de forma indireta por meio de valores de pressão inspiratória máxima (PIMÁX) e pressão expiratória máxima (PEMÁX). Assim, dentre as diversas equações disponíveis na literatura, duas são amplamente utilizadas. Este estudo se justifica com o intuito de verificar a concordância existente entre os valores de pressões respiratórias estáticas máximas previstas propostas pelas equações de Black & Hyatt e Neder et al., com valores observados em pacientes eletivos submetidos à cirurgia cardíaca.

Materiais e Métodos: Os dados foram coletados da ficha de avaliação utilizada pelo Serviço de Fisioterapia Cárdiorrespiratória da Divisão de Cirurgia Torácica e Cardiovascular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, durante o período compreendido entre Janeiro de 2004 à Dezembro de 2010. Pela análise estatística verificou-se a concordância existente entre os valores observados e os previstos pelas equações de Black & Hyatt e Neder et al., sendo utilizado o coeficiente de concordância de Lin e o gráfico de Bland-Altman. Posteriormente, os dados foram submetidos à regressão linear múltipla e à análise de variância, para proposição de novas fórmulas.

Resultados: Para PIMÁX, observou-se uma fraca concordância de 0,22 e 0,19 e para PEMÁX 0,10 e 0,32, para as fórmulas de Black & Hyatt e Neder et al., respectivamente. A ANOVA tanto para PIMÁX quanto para PEMÁX foram significativas ($p < 0,0001$), permitindo a proposição das seguintes fórmulas: $PIMÁX = 88,82 - (0,51 \times Idade) + (19,86 \times Sexo)$, e para $PEMÁX = 91,36 - (0,30 \times Idade) + (29,92 \times Sexo)$.

Conclusão: As fórmulas de Black e Hyatt e Neder et al. predizem valores de PIMÁX e PEMÁX muito discrepantes, não devendo ser utilizadas para identificar fraqueza muscular em pacientes submetidos à cirurgia cardíaca.

REPRESENTAÇÃO MOTORA AVALIADA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL DE CRIANÇAS SUBMETIDAS À INTERVENÇÃO FISIOTERAPÊUTICA PÓS-HEMISFEROTOMIA

Maira Yuli Yanaguita

Orientador: Prof. Dr. Hélio Rubens Machado

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/11/2011

A hemisferotomia é um procedimento cirúrgico que envolve a desconexão total de um dos hemisférios cerebrais e pode diminuir ou até mesmo extinguir a ocorrência das crises fármaco-resistentes em crianças com epilepsia. Apesar de a extinção das crises ocorrer em até 79% dos pacientes, a maioria apresenta uma hemiparesia residual. Esta apresenta-se com maior grau de acometimento do membro superior, no compartimento distal. Para evitar a imobilidade e suas consequências, como instalação de deformidades articulares, e minimizar os déficits na função do membro superior acometido, exercícios terapêuticos são propostos. Hipotetiza-se que a atuação da fisioterapia direcione a recuperação funcional. Contudo, os efeitos de tais procedimentos na reorganização do sistema nervoso não são conhecidos. Com o objetivo de analisar se a reabilitação pode induzir mudanças na representação cortical motora, os pacientes foram submetidos, logo após hemisferotomia, a protocolo de intervenção fisioterapêutica, com ênfase em membro superior.

Sujeitos e Método: Constituíram o Grupo Pacientes (GP) 04 sujeitos com idades entre 12 e 19 anos e o Grupo Controle (GC) 10 sujeitos com idades entre 06 e 13 anos. Tanto no período pré-cirúrgico quanto após término do protocolo de reabilitação foram realizadas avaliações funcionais cerebrais, através da fMRI, e avaliações físicas, que englobaram: força muscular, amplitudes de movimentos ativos e passivos, tônus muscular e qualidade da função de membros superiores, avaliada por meio das escalas Melbourne Assessment e QUEST. Os resultados obtidos pela avaliação física foram analisados de forma qualitativa. O número de voxels ativados antes da cirurgia foram comparados com o obtido logo após

reabilitação, através de teste t pareado. Foram comparados o número de voxels ativadas entre os hemisférios contralateral e ipsilateral através de testes t.

Resultado: A força muscular do membro superior parético não diminuiu na maioria dos pacientes e se apresentou mais acometida na extensão de punho e extensão de dedos. As amplitudes de movimento ativo e passivo foram menores em extensão de cotovelo, extensão de punho e supinadores. Foi encontrado tônus muscular elevado em bíceps braquial, tríceps braquial, flexores de punho, flexores de dedos e supinadores. Os resultados obtidos pela *Melbourne Assessment* detectaram melhora na qualidade da função de membro superior em dois pacientes, piora e manutenção nos demais, enquanto pela QUEST houve um caso de melhora e manutenção nos demais. Pela realização de tarefa motora com a mão parética foram encontrados, em relação aos valores pré-cirúrgicos, diminuição de ativação cerebral (voxels ativados) contralateral, na maioria dos pacientes, e aumento de ativação em áreas motoras ipsilaterais. O Grupo Controle apresentou diminuição de ativação cerebral após reabilitação, principalmente em BA2, BA6 e BA7.

Conclusão: Pacientes submetidos à hemisferotomia apresentam resultados com a reabilitação que, em comparação com sujeitos saudáveis, são semelhantes no hemisfério contralateral à mão parética e diferentes no hemisfério ipsilateral à mesma.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE CARCINOMA E ADENOMA DO CÓRTEX ADRENAL EM CRIANÇAS. COMPARAÇÃO ENTRE TRÊS CLASSIFICAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS

Victor Pereira Paschoalin

Orientador: Prof. Dr. Silvio Tucci Junior

Tese de Doutorado apresentada em 08/12/2011

Introdução: Os sistemas histopatológicos para o diagnóstico diferencial de tumores benignos e malignos do córtex adrenal são motivos de controvérsia, sobretudo em pacientes pediátricos.

Objetivos: Comparar os sistemas de Weiss et al., Van Slooten et al e de Wieneke et al. em amostra de crianças e adolescentes portadores de adenoma e carcinoma do córtex adrenal.

Casuística e Métodos: Foram incluídos, neste estudo retrospectivo, 57 pacientes menores que 18 anos (mediana = 3 anos), portadores de adenoma ou carcinoma do córtex adrenal, funcionantes ou não, atendidos e tratados cirurgicamente no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, no período de janeiro de 1975 a dezembro de 2010. Os prontuários de todos os pacientes foram revisados, e num estudo cego (dois patologistas desconheciam a evolução dos pacientes), uma nova leitura das lâminas já coradas foi efetuada para classificar os tumores em benignos ou malignos segundo os três sistemas. A comparação dos três sistemas foi feita com base na evolução dos pacientes após seguimento médio de 203,6±111,6 meses e mediano de 204 meses.

Resultados: Desta casuística, 16 pacientes faleceram devido à doença e 41 ficaram livres da neoplasia após cinco ou mais anos de seguimento. A comparação das curvas de sobrevida dos pacientes com tumores "benignos" e "malignos" pelo teste Logrank revelou $p=0,39$ para o sistema de Van Slooten et al., $p=0,05$ para o de Weiss et al. e $p<0,0001$ para o de Wieneke et al.

Conclusão: O sistema de Wieneke et al. é o que apresentou a melhor correlação clinicopatológica na amostra estudada, razão porque sugere-se sua adoção, ou inclusão, na avaliação histopatológica para diagnóstico diferencial entre tumores da córtex adrenal benignos e malignos.

EFEITO DO ÁCIDO ROSMARÍNICO SOBRE A PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS NORMOTENSOS E HIPERTENSOS

Luciana Garros Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Barbosa Evora

Dissertação de Mestrado apresentada em 12/12/2011

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma doença cardiovascular comum que afeta milhões de pessoas no mundo. Existem diversas maneiras de se tratar a HA, como por exemplo, o uso de inibidores da enzima conversora da

angiotensina (iECA). Nos últimos anos, vem sendo demonstrado o efeito inibitório de algumas espécies de plantas sobre a enzima conversora de angiotensina (ECA) e o ácido rosmarínico (AR) é um dos constituintes de destaque dessas espécies, porém seus efeitos são relativamente pouco estudados no sistema cardiovascular. Considerando o exposto, propôs-se o desenvolvimento deste trabalho, cujos objetivos foram verificar se o AR exerce algum efeito sobre a pressão arterial (PA) e se possui alguma atividade inibitória sobre a ECA, além de comparar o efeito deste ácido ao de um inibidor clássico (captopril), em animais normais e hipertensos. Para tanto, foram utilizados ratos *Wistar*, machos, normotensos e hipertensos. A HAS foi induzida cirurgicamente pelo clampeamento renal unilateral. A aferição da pressão arterial sistólica (PAS) foi realizada semanalmente para adaptar os animais à rotina de verificação de PA e para avaliar o desenvolvimento da HAS. Quatro semanas após a cirurgia os animais foram divididos em dois grupos: (1) estudo do efeito direto do AR sobre a PA pela administração de 3 doses crescentes de AR e (2) possível efeito inibitório do AR sobre a ECA e a comparação deste com o captopril. O efeito do AR sobre a atividade da ECA *in vivo* foi estudado por curvas dose-resposta para angiotensinas I (Ang I) e II (Ang II) e bradicinina (BK) simultaneamente à monitorização da PA. A atividade da ECA plasmática *in vivo* e *in vitro* foi mensurada por fluorimetria, utilizando o substrato Hipuril-histidil-leucina. Além disso, após as curvas dose-resposta, foram realizadas dosagens de nitrito (NO₂-) e nitrato (NO₃-) plasmático (NO_x) e análise histológica dos rins. A cirurgia de indução da HAS mostrou-se efetiva, com elevação da PA a partir da primeira semana de cirurgia no grupo hipertenso, enquanto o grupo normotenso permaneceu com a pressão praticamente inalterada. A análise histológica do rim esquerdo (clampeado) de ratos hipertensos, quando comparado ao não clampeado (ratos normotensos), demonstrou que não houve alterações morfológicas entre os grupos. Quanto ao efeito direto do AR sobre a PAS, esta se apresentou reduzida de maneira dose-dependente, principalmente no grupo hipertenso. A partir das curvas dose-resposta para Ang I verificou-se que o AR promoveu menor variação da PAS (DPAS), podendo talvez caracterizar a inibição da ECA *in vivo*, apenas no grupo hipertenso. O grupo dos animais pré-tratados com captopril também apresentou menor DPAS após administração de doses crescentes de Ang I, porém esta redução ocorreu tanto no grupo hipertenso quanto normotenso. O estudo de curvas doses-resposta para BK demonstrou que tanto o AR, quanto o captopril promoveram redução da PAS, porém apenas no grupo captopril esse efeito mostrou-se significativo. Após a curva dose-resposta para Ang II, observou-se uma redução na DPAS no grupo hipertenso AR, enquanto o tratamento com captopril promoveu maior DPAS induzida pela administração de Ang II. Pela análise da atividade da ECA plasmática *in vivo* não se observou redução nos animais pré-tratados com AR, ocorrendo redução apenas nos grupos pré-tratados com captopril. Pela análise da atividade da ECA plasmática *in vitro* também não se observou redução nos animais pré-tratados com AR em relação ao controle. A análise das dosagens de NO_x plasmático demonstrou que não houve diferença significativa entre os grupos. A partir dos resultados obtidos no presente estudo, concluiu-se que o AR mostrou-se promissor quanto à redução da PA nos animais hipertensos, demonstrando ser seletivo, uma vez que, ao contrário do captopril, não promoveu redução da PA no grupo normotenso. A redução da PA obtida a partir de curva dose-resposta para Ang I sugere uma possível atividade inibitória e/ou moduladora do AR sobre a ECA *in vivo*. Provavelmente, além do possível efeito sobre a ECA, o AR pode estar envolvido com a atividade vasodilatadora endotelial, pela ativação das vias de NO, EDHF e PGI₂ e com a atividade antioxidante. No entanto mais estudos devem ser realizados para confirmação de tais possibilidades.

EFEITOS DE PRESSÕES DE PERFUSÃO ELEVADAS E DO FLUXO PULSÁTIL EM VEIAS SAFENAS HUMANAS: ESTUDO *in vitro* COMPARANDO PACIENTES DIABÉTICOS E NÃO DIABÉTICOS

Marina Junqueira Ferreira Rosique

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Barbosa Evora

Tese de Doutorado apresentada em 16/12/2011

Introdução: Na circulação arterial, o enxerto venoso é submetido a alterações hemodinâmicas, maior pressão e fluxo pulsátil, com alterações morfológicas e funcionais que podem contribuir para sua falência precoce. Enxertos de veias safenas de pacientes diabéticos apresentam redução na vasodilatação dependente do endotélio. Em estudo prévio realizado neste laboratório, segmentos de veia safena magna humana (VSH) perfundidos com fluxo não pulsátil e pressões crescentes por três horas mostraram alterações morfológicas tanto maiores quanto maior a pressão de perfusão. O presente estudo dá continuidade a esta linha de pesquisa, acrescentando a perfusão com fluxo pulsátil de segmentos de VSH e a comparação entre veias de pacientes diabéticos e não diabéticos.

Objetivos: Determinar o efeito da perfusão de segmentos de VSH com pressões elevadas e fluxo pulsátil, durante três horas, quanto a possíveis alterações morfológicas; alterações na expressão imuno-histoquímica das isoformas da óxido nítrico sintase; alterações na dosagem tecidual de nitrito/nitrato; e alterações nos produtos do estresse oxidativo.

Materiais e métodos: Trinta e seis (n=36) segmentos de VSH foram obtidos de pacientes submetidos a cirurgia de revascularização do miocárdio. Os segmentos foram perfundidos *in vitro* em um sistema experimental com solução de Krebs oxigenada por três horas, com fluxo pulsátil de 100 ml/min e pressões de 250x200 mmHg ou 300x250 mmHg. Doze segmentos foram utilizados como controle, sem realização de perfusão (pressão zero mmHg e fluxo zero ml/min). Foram definidos seis grupos (n=6): três grupos de pacientes diabéticos e três grupos de pacientes não diabéticos. Após a perfusão, os segmentos venosos foram submetidos a: 1) análise morfológica da parede venosa, com microscopia óptica, com quantificação de alterações, cálculo da área do lúmen e da porcentagem do perímetro luminal coberta por endotélio; 2) análise da expressão imuno-histoquímica das isoformas da óxido nítrico sintase; 3) análise da expressão imuno-histoquímica do CD34; 4) dosagem tecidual de nitrito/nitrato; 5) análise dos produtos do estresse oxidativo, por meio da expressão imuno-histoquímica da nitrotirosina e da dosagem tecidual de malondialdeído (MDA).

Resultados: 1) A microscopia óptica mostrou áreas de desnudamento endotelial associadas a sua descamação e presença de fendas na luz em todos os segmentos submetidos a pressão de perfusão 300x250 mmHg nos grupos de pacientes diabéticos e não diabéticos. Algumas veias submetidas a pressão de perfusão 250x200mmHg também apresentaram estas alterações, que não foram observadas nos segmentos dos grupos controle. A área do lúmen não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A porcentagem do perímetro luminal coberta por endotélio diminuiu conforme se aumentaram as pressões de perfusão, sendo a diferença significativa comparando os grupos com pressão de perfusão de 300x250 mmHg diabéticos e não diabéticos com os grupos controle. 2) Observou-se diminuição estatisticamente significativa na expressão imuno-histoquímica de eNOS nas três túnicas das veias de pacientes diabéticos submetidas a pressões de perfusão de 250x200 mmHg e 300x250 mmHg em relação aos grupos controle diabético e não diabético. Esta diminuição significativa não foi observada nos grupos não diabéticos. Observou-se expressão imuno-histoquímica das isoformas iNOS e nNOS da óxido nítrico sintase em todas as túnicas das veias, não havendo diferença significativa entre os grupos. 3) A expressão imuno-histoquímica do CD34 foi observada nas três túnicas com predomínio no endotélio, com diferença estatisticamente significativa entre o grupo com pressão de perfusão de 300x250 mmHg não diabético e o grupo controle não diabético. 4) Os níveis teciduais de nitrito/nitrato não apresentaram diferença significativa entre os grupos. 5) Não houve expressão imuno-histoquímica de nitrotirosina na parede venosa e a dosagem tecidual de MDA não apresentou diferença significativa entre os grupos.

Conclusão: Os segmentos de veia safena humana submetidos a perfusão com fluxo pulsátil e pressões elevadas por três horas apresentaram alterações morfológicas, diminuição na expressão de eNOS em todas as túnicas das veias de pacientes diabéticos, com redução em sua capacidade de liberar óxido nítrico. Houve maior expressão do CD34 no endotélio em veias de pacientes não diabéticos submetidos a pressões elevadas.

Clínica Médica

PERFIL NUTRICIONAL E ESTRESSE OXIDATIVO DE JOGADORES DE FUTEBOL

Francine Milani

Orientador: Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão junior

Dissertação de Mestrado apresentada em 10/10/2011

O exercício físico aumenta o consumo de oxigênio e, conseqüentemente, de espécies reativas de oxigênio (EROs), podendo esta produção ser superior ao sistema de defesa antioxidante endógeno, causando o chamado estresse oxidativo. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o estado nutricional e estresse oxidativo de jogadores de futebol jovens. A amostra foi composta de 20 atletas de futebol adolescentes, em período competitivo, com média de 16 anos de idade, IMC de 21,9 kg/m² e 2,6 anos de experiência futebolística. Estes foram submetidos a um jogo-treino de 60 minutos contínuos de duração, e avaliados em três momentos: Pré (antes do jogo), Pós I (30 minutos após o término) e Pós II (24 horas após). Foi avaliado o estado nutricional a partir de antropometria (equações preditivas e bioimpedância elétrica-BIA) e exames

bioquímicos para perfil lipídico e dano muscular (creatina quinase-CK e creatinina). A ingestão alimentar foi determinada por meio de registro alimentar de 3 dias antecedentes e não consecutivos à partida avaliada. O estresse oxidativo foi avaliado através das técnicas de dano oxidativo (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico-TBARS e proteínas carboniladas-PC) e antioxidantes não-enzimáticos (glutathiona reduzida-GSH, vitaminas E, C e A). O percentual de gordura corporal foi muito semelhante em todos os métodos avaliados, sendo 11,5%; 10,9% e 11,4%, respectivamente para equações preditivas e BIA. Os atletas apresentaram uma ingestão energética média de 37,6 kcal/kg, estando dentro dos valores de recomendação, porém com uma distribuição de macronutrientes inadequada, apresentando uma dieta hiperprotéica (1,62g/kg), hiperlipídica (1,12g/kg) e normo a hipoglicídica (5,28g/kg). Nenhum jogador atingiu a recomendação de vitaminas E e A, e 65% atingiu para vitamina C, porém não havendo homogeneidade no grupo. O perfil lipídico apresentou-se dentro do recomendado e não sofreu alterações com o estresse físico da partida, entretanto CK e creatinina aumentaram significativamente no Pós I (34,4% e 25,4%, respectivamente), demonstrando degradação muscular, porém voltaram aos valores basais no Pós II. As vitaminas E, C e A aumentaram significativamente no Pós I (14%, 8,6% e 26,3%, respectivamente), sendo que a E e a A mantiveram-se elevadas no Pós II. O recrutamento da defesa antioxidante não-enzimática, principalmente às custas das vitaminas dietéticas antioxidantes, impediu a ocorrência da peroxidação lipídica, visto que os valores de TBARS não apresentaram alterações significativas em nenhum momento. Em contrapartida, tal defesa dietética e, principalmente a endógena, representada pela GSH (cujo valor diminuiu 38,6% no Pós II), não foram suficientes para combater a oxidação protéica, que apesar do aumento discreto das PC no Pós II (10%), foi matematicamente significativo. Portanto, é importante uma adequada nutrição a fim de melhorar o sistema de defesa antioxidante e, conseqüentemente, a resposta metabólica, evitando assim o estresse oxidativo induzido pelo exercício.

AVALIAÇÃO DE FATORES DE RISCO, COM ÊNFASE NA PRESSÃO ARTERIAL, NA SÍNDROME DA FRAGILIDADE EM IDOSOS

Rachel Gabriel Bastos Barbosa

Orientadora: Profa. Dra. Nereida Kilza da Costa Lima

Tese de Doutorado apresentada em 11/10/2011

O propósito do estudo foi avaliar os fatores de risco cardiovascular na Síndrome da Fragilidade, com ênfase na pressão arterial (PA). Este foi um estudo transversal com os seguintes critérios de exclusão: idade inferior a sessenta anos, acamados, fazendo uso de cadeira de rodas, déficits sensoriais graves, fase terminal de doença, com doença de Parkinson grave, dificuldade de fala, depressão grave, diagnóstico de demência ou grave déficit cognitivo. Todos os 77 pacientes, sendo 23 frágeis, 23 não-frágeis e 31 pré-frágeis, foram submetidos à avaliação médica, com aplicação de um questionário para se confirmar a Síndrome da Fragilidade, ao Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) para exclusão de declínio cognitivo, além de medidas antropométricas, medidas da PA no consultório, exame de Monitorização Ambulatorial da Pressão Arterial (MAPA) e de Monitorização Residencial da Pressão Arterial (MRPA). Os grupos frágil e não-frágil foram submetidos à coleta de sangue com jejum de 12 horas. Para a análise estatística foi utilizado o teste exato de Fisher, ANOVA, teste de *Levene*, modelo de regressão linear com efeitos mistos e coeficiente de correlação de Spearman. A idade média foi de 74,5(±7,5) anos, prevalência do gênero feminino (88,3%), raça branca (60,0%), estado civil casado (37,7%), escolaridade de 3,7(±3,1) anos, recebendo entre 1 e 3 salários mínimos (72,7%). A prevalência de hipertensão arterial foi de 56,5% entre não-frágeis, 61,3% entre pré-frágeis e 73,9% entre os frágeis, porém sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,41$). Na avaliação cognitiva, observou-se que a pontuação do MEEM foi menor entre os frágeis do que no não-frágeis ($p=0,02$) e pré-frágeis ($p<0,01$). Não foram encontradas diferenças quanto à PA obtida em consultório e na MRPA. Avaliando a PA sistólica (PAS) e da PA diastólica (PAD) da MAPA, observou-se maior PAS no grupo dos frágeis em relação aos não-frágeis nas 24 horas, na vigília e no sono ($p=0,03$). Não houve associação entre os fatores de risco cardiovascular e a PAS medida no consultório, porém houve maior PAD entre os voluntários não-frágeis com maior circunferência abdominal (CA) e cintura. Quando comparadas as médias da MAPA de 24 horas com alguns fatores de risco, observou-se que houve associação positiva, apenas nos não-frágeis, entre a circunferência da cintura e a PAS, e a CA e a PAD. Os grupos estudados não diferiram quanto ao peso e ao IMC, entretanto os frágeis apresentavam CA maior ($p=0,04$). Houve excelente correlação entre a CA e o IMC nos três grupos estudados, portanto, os métodos parecem ser adequados na avaliação dos indivíduos. Comparando-se o nível de HDL entre frágeis e não-frágeis, observou-se que este foi menor nos primeiros ($p=0,01$). Houve também maior nível sérico de homocisteína ($p=0,02$) e menor de ácido fólico nos frágeis ($p=0,04$). Estudando

do o perfil e os fatores de risco relacionados à PA em idosos frágeis, não-frágeis e pré-frágeis, concluiu-se que houve maior PAS obtida pela MAPA nos idosos com a Síndrome da Fragilidade, maior CA, menor HDL e maior nível de homocisteína, mesmo considerando que a perda de peso não intencional era um critério de fragilidade, caracterizando maior risco cardiovascular associado à Síndrome da Fragilidade.

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DE DIABETES MELLITUS, OBESIDADE E HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA NA POPULAÇÃO DE 30 A 69 ANOS DE LUANDA-ANGOLA/ÁFRICA

Antônio Dias Assunção Evaristo Neto

Orientador: Prof. Dr. Milton Cesar Foss

Tese de Doutorado apresentada em 13/10/2011

Com o objetivo de estudar a prevalência de diabetes mellitus, obesidade e hipertensão arterial sistêmica numa amostra da população da cidade de Luanda-Angola/África, foi realizado um estudo transversal usando o método de amostragem por conglomerados. O trabalho de campo foi desenvolvido entre Março de 2009 e Abril de 2011. Foram selecionados aleatoriamente 709 indivíduos de uma área representativa da cidade de Luanda, sendo 409 (58%) do sexo feminino. O índice de resposta do grupo inicialmente selecionado foi de 71%. O inquérito foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa foi aplicado o questionário I que se destinava à coleta de informações clínicas, medição de características antropométricas e determinação da glicemia após jejum de, pelo menos, oito horas. Foi utilizado o método de determinação da glicemia capilar com glicosímetro portátil. O resultado era considerado positivo se a glicemia capilar fosse ≥ 100 mg/dl (ponto de corte) e negativo se a glicemia capilar fosse < 100 mg/dl. Os indivíduos com diagnóstico prévio de diabetes e aqueles com glicemia capilar ≥ 200 mg/dl eram classificados como diabéticos e prescindiam da segunda etapa. Todos os indivíduos com resultado positivo (glicemia capilar ≥ 100 mg/dl, mas < 200 mg/dl), eram convocados para a segunda etapa do inquérito (questionário II), que incluía a determinação da glicemia capilar 2 h após ingestão de uma solução de 75 g de glicose em 300 ml de água. Se a glicemia capilar pós sobrecarga de glicose fosse < 140 mg/dl, o indivíduo era considerado normal (tolerância à glicose normal), se ≥ 140 mg/dl e < 200 mg/dl era classificado como indivíduo com tolerância diminuída à glicose e se ≥ 200 mg/dl como indivíduo diabético. Cada sexto indivíduo com teste negativo também era convocado para a segunda etapa. A prevalência de diabetes na amostra estudada foi de 7,1%, sendo que 12,9% apresentaram tolerância diminuída à glicose. De um total de 50 diabéticos, em 32 deles (64%) o método de diagnóstico foi através da glicemia em jejum e nos restantes 18 (36%) através do teste de tolerância oral à glicose. Vinte e três destes diabéticos (46%) eram previamente conhecidos. A frequência de diabetes aumentou com a idade, sendo que entre as mulheres houve um predomínio significativo da frequência na faixa 60 a 69 anos. Em ambos os sexos, a frequência das alterações da homeostase glicêmica aumentou com a idade. A prevalência de obesidade, sobrepeso e obesidade abdominal foi de 18,8%, 9,3% e 47,1%, respectivamente. Sobrepeso e obesidade estão presentes na maioria do grupo de diabéticos (62%) e dos indivíduos com tolerância diminuída à glicose (61,9%), assim como, a obesidade abdominal também está presente na maioria dos diabéticos (78%) e dos indivíduos com tolerância diminuída à glicose (84,8%). A prevalência de hipertensão arterial foi de 21,2%. A frequência relativa de HAS foi maior nos diabéticos (48%) do que nos indivíduos com tolerância diminuída à glicose (25%) e do que nos indivíduos sem alterações da homeostase glicêmica (18%).

AÇÕES DO ÓLEO DE PEIXE E TRIGLICERÍDEOS DE CADEIA MÉDIA NA ESTEATOSE HEPÁTICA E ESTRESSE OXIDATIVO INDUZIDOS PELA DIETA HIPERLIPÍDICA EM RATOS

Bianca Bellizzi de Almeida

Orientador: Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Junior

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/10/2011

Introdução: A doença hepática gordurosa não alcoólica é caracterizada pelo acúmulo hepático de lipídeos, principalmente na forma de triglicerídeos. Devido à atividade inflamatória progressiva pode evoluir para uma forma mais grave, a esteatohepatite não alcoólica. Os ácidos graxos poli-insaturados ômega-3 são associados a efeitos metabólicos positivos para redução da esteatose hepática, no entanto, são mais susceptíveis a peroxidação lipídica. Os triglicerídeos de

cadeia média (TCMs) promovem a prevenção do bloqueio da β -oxidação de ácidos graxos e redução da peroxidação lipídica, no entanto os efeitos na redução da esteatose ainda são controversos.

Objetivo: O objetivo do estudo foi avaliar as implicações da dieta hiperlipídica (HL+) com óleo de peixe ou com óleo de TCM no desenvolvimento da esteatose hepática, no perfil de ácidos graxos hepáticos e no estresse oxidativo em ratos.

Metodologia: Cinquenta ratos machos da linhagem *Wistar* foram divididos em 5 grupos. Os animais receberam água e comida a vontade durante 45 dias. A adaptação a dieta HL+ foi realizada nos primeiros 15 dias. A composição da dieta do grupo que recebeu somente a gordura animal (HL+GA) era de 50% de gordura animal, e a dieta dos grupos HL+OS, HL+TCM e HL+OP era composta por 35% de gordura animal e 15% de óleo de soja, óleo de TCM e óleo de peixe, respectivamente.

Resultados: Todos os grupos que receberam as dietas hiperlipídicas apresentaram maior acúmulo de gordura total e de triglicerídeos hepáticos e somente os grupos HL+GA e HL+TCM apresentaram maior acúmulo de colesterol total hepático em relação ao controle. O grupo HL+TCM apresentou maior acúmulo percentual de gordura e um exacerbado acúmulo de triglicerídeos hepáticos em relação aos grupos alimentados com as dietas HL+. A redução do colesterol total sérico foi observada nos grupos HL+TCM e HL+OP, comparados ao controle. A maior incorporação hepática dos ácidos graxos EPA e DHA no grupo HL+OP contribuiu para o aumento do Índice de Peroxibilidade dos ácidos graxos e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico livres e totais e para a depleção da vitamina E no fígado. A maior razão Δ AGS/ Δ AGPI hepática observada no grupo HL+TCM contribuiu para a preservação dos antioxidantes hepáticos. A alanina aminotransferase, um marcador de dano hepático, apresentou-se aumentada em todos os grupos que receberam as dietas HL+.

Conclusões: A dieta hiperlipídica foi eficiente na indução do acúmulo de gordura hepática. O uso do óleo de TCM foi associado a uma maior concentração de lipídeos e preservação dos antioxidantes hepáticos. A dieta hiperlipídica com óleo de peixe foi associada ao aumento significativo na peroxidação lipídica, apesar do menor acúmulo de colesterol e triglicerídeos hepáticos.

ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS E SUBGENÓTIPOS DO VÍRUS DA HEPATITE B (HBV) E DAS MUTAÇÕES NAS REGIÕES PRÉ-CORE E PROMOTORA BASAL DO CORE EM PACIENTES ATENDIDOS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Silvana Florêncio Chachá

Orientadora: Profa. Dra. Ana de Lourdes Candolo Martinelli

Tese de Doutorado apresentada em 14/10/2011

A infecção crônica pelo vírus da hepatite B (HBV) é comum no Brasil e no mundo. Existem variações singulares no que diz respeito à evolução da doença, de acordo com a região geográfica estudada. Fatores inerentes ao hospedeiro e fatores vitais parecem influenciar o curso da infecção e a progressão para cirrose hepática e carcinoma hepatocelular (CHC). A variabilidade genética do HBV tem ocupado papel central no estudo dos fatores virais capazes de influenciar o curso da infecção.

Os objetivos deste trabalho são: determinar os genótipos e subgenótipos do HBV presente nos pacientes incluídos; analisar a presença de mutações na região do promotor basal do core (BCP) e pré-core do HBV; avaliar a associação entre os diferentes genótipos encontrados com a presença das mutações BCP e pré-core; avaliar a associação entre a infecção pelos diferentes genótipos e a presença de mutações BCP e pré-core com a evolução da infecção crônica e com a gravidade da doença hepática. Foram incluídos 193 pacientes portadores da infecção crônica pelo HBV. Foram realizadas avaliações: clínica, por meio de entrevista estruturada; laboratorial; histológica; virológica, por meio da determinação da carga viral por PCR em tempo real. A determinação dos genótipos e subgenótipos do HBV, foi feita por meio de reações de sequenciamento da região S/polimerase do genoma do HBV e posterior análise filogenética. A pesquisa das mutações pré-core e do promotor do core foi realizada por meio do sequenciamento automático desta região do genoma, e posterior análise visual do alinhamento das sequências de nucleotídeos. Mutações BCP e pré-core foram encontradas respectivamente em 42,8% e 59% dos pacientes incluídos. A dupla mutação A1762T/G1764A esteve presente em 12,1%, a tripla mutação T1753C(G/A)/A1762T/G1764A em 15,4%, a mutação G1862T em 14%, a mutação G1896A em 15% e a dupla mutação G1896A/G1899A em 14,5% dos pacientes. Foi possível determinar o genótipo do HBV de 166 pacientes. Foram encontrados os subgenótipos A1, A2, D1, D2, D3, D4, F2a e F4, nas seguintes proporções: 29%, 6%, 4%, 10%, 44%, 2%,

4% e 1%. A mutação G1862T esteve associada ao subgenótipo A1 do HBV, as mutações G1896A e G1896A/G1899A estiveram associadas ao genótipo D. A presença das mutações pré-core esteve associada às formas HBeAg negativas da infecção crônica pelo HBV. As mutações da região BCP estiveram associadas às fases ativas da doença crônica pelo HBV (hepatite crônica HBeAg positivo e hepatite crônica HBeAg negativo). Não se encontrou associação entre a infecção pelos diferentes genótipos do HBV e a evolução da infecção. Da mesma forma, não se observou associação entre a infecção pelos diferentes genótipos do HBV com a presença de cirrose hepática ou de CHC.

Conclusão: os genótipos A, D e F foram encontrados. O subgenótipo D3 foi o mais frequente, seguido pelo subgenótipo A1. A presença do genótipo D3, mutante pré-core associou-se às formas HBeAg negativas da infecção pelo HBV. A dupla mutação A1762T/G1764A esteve associada à atividade da doença hepática crônica.

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DE *Pseudomonas aeruginosa* IMIPENEM - SENSÍVEIS E IMIPENEM - RESISTENTES ISOLADOS EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO

Denissani Aparecida dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Roberto Martinez

Tese de Doutorado apresentada em 25/10/2011

As infecções nosocomiais por *Pseudomonas aeruginosa* ocorrem frequentemente em pacientes fragilizados e são difíceis de controlar pela não sensibilidade da bactéria a várias classes de antimicrobianos e pelo rápido desenvolvimento de resistência a novos fármacos. O propósito deste estudo foi comparar a epidemiologia hospitalar de pacientes infectados por *P. aeruginosa* imipenem-resistente (IPM-R) e imipenem-sensíveis (IPM-S) e investigar características fenotípicas das bactérias particularmente a sensibilidade a antimicrobianos alternativos, antissépticos e substâncias não-antibacterianas, avaliando também o eventual sinergismo dessas drogas em testes *in vitro*. *P. aeruginosa* sensível a imipenem (IPM-S) e a outros antimicrobianos (n=76) e imipenem multidroga-resistente (IPM-R) (n=76), foram isolados do sangue (N=46) e da urina (N=106) de pacientes da Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, entre 2005 e 2008. A produção de metalo β -lactamase, Amp C, e ESBL foi avaliada por testes fenotípicos de triagem. A sensibilidade dos isolados à fosfomicina e a polimixina B foi realizada com métodos de disco-difusão e ou Etest. Determinou-se a concentração inibitória mínima (CIM) para antimicrobianos, antissépticos e drogas não-antibacterianas por microdiluição em caldo. A eficácia *in vitro* de duas drogas ou três drogas combinadas foi avaliada pelo método checkerboard para quatro isolados selecionados de *P. aeruginosa*, dois IPM-S e dois IPM-R. A produção de enzimas de resistência bacteriana só ocorreu em isolados IPM-R. A polimixina B atuou contra todos os isolados de *P. aeruginosa*, detectando-se resistência intermediária em alguns deles. Apenas 52% de isolados IPM-S e 35% de IPM-R apresentaram susceptibilidade à fosfomicina. Polivinil-pirrolidona-iodo e clorexidina apresentaram CIM semelhantes para IPM-S e IPM-R. Drogas não antibacterianas, como fluoxetina, sertralina, resveratrol, quinidina, cloroquina, propranolol, propafenona, alendronato, N-acetilcisteína, atuaram *in vitro* contra *P. aeruginosa* somente em elevadas concentrações. Ribavirina apresentou CIM mais baixa, quer para IPM-S como para IPM-R. A avaliação da eficácia de 72 combinações de antimicrobianos e de outras drogas sobre dois isolados IPM-S, revelou sinergismo em respectivamente 14% e 37%; os mesmos testes foram feitos em dois isolados IPM-R mostrando sinergismo em respectivamente 30% e 25%. Associações de β -lactâmicos ou ciprofloxacina com tobramicina e fosfomicina tiveram maior índice de sinergismo, que também ocorreu quando a segunda droga da associação foi gentamicina, rifampicina e ribavirina. A adição de uma terceira droga geralmente aumentou o sinergismo dos isolados contra um dos isolados IPM-R. Concluímos que polimixina B pode ser sugerida para monoterapia de infecções por *P. aeruginosa* IPM-R, enquanto fosfomicina deve ser testada para cada isolado. Não houve diferença da CIM de antissépticos e de drogas não antibacterianas para *P. aeruginosa* IPM-S e IPM-R, sugerindo diferente mecanismo de resistência dos antimicrobianos convencionais. Combinações de antimicrobianos com potencial ação contra *P. aeruginosa* e outros antimicrobianos apresentaram significativa taxa de sinergismo, algumas das quais com redução do CIM suficientes para sugerir sua utilização na terapêutica clínica. Combinações de antimicrobianos com ribavirina mostraram sinergismo contra *P. aeruginosa*. A associação de três drogas também propiciou redução de CIM das drogas isoladas em nível satisfatório para uso *in vivo*.

Farmacologia

PAPEL DA FRACTALCINA NA GÊNESE DA HIPERNOCICEPÇÃO INFLAMATÓRIA: ELO ENTRE A SENSIBILIZAÇÃO DOS NEURÔNIOS NOCICEPTIVOS PERIFÉRICOS E A ATIVAÇÃO DAS CÉLULAS SATÉLITES

Guilherme Rabelo de Souza

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Henrique Ferreira

Tese de Doutorado apresentada em 21/10/2011

Ativação das células satélites presente no gânglio da raiz dorsal (GRD) parece desempenhar um importante papel na nocicepção. Neste trabalho, testamos a hipótese de que a fractalcina é o elo entre a inflamação periférica e a ativação das células satélites e está envolvida na cascata de eventos responsáveis pela gênese da hipernocicepção inflamatória. Inicialmente, observamos que a injeção intraplantar de carragenina induziu uma redução no limiar nociceptivo mecânico (hipernocicepção) e um aumento significativo na expressão da proteína e RNAm de GFAP. Estes eventos foram inibidos pela administração do anticorpo anti-fractalcina no GRD (i.gl.). A hipernocicepção induzida por TNF- α e IL-1- β e PGE₂ também foi reduzida pelo tratamento com anticorpo anti-fractalcina (i.gl.). Adicionalmente, a administração direta de fractalcina no DRG (L5) de ratos produziu hipernocicepção mecânica de maneira dose dependente e este efeito foi bloqueado pelo tratamento com um anticorpo contra CX3CL1 e CX3CR1. Sobre o mecanismo pelo qual a fractalcina (i.gl.) medeia a nocicepção inflamatória, observou-se que o efeito hipernociceptivo da fractalcina foi bloqueado pelo tratamento com infliximab, IL1-ra e indometacina. *In vitro*, a incubação das SGC isoladas com fractalcina induziram a produção / liberação de TNF- α , IL-1 β e PGE₂. Em geral, estes resultados sugerem que durante a inflamação periférica, fractalcina é liberada no DRG e contribui para a gênese da hipernocicepção inflamatória por um mecanismo dependente da ativação de SGC. O efeito da fractalcina também é dependente da produção de TNF α , IL-1 β e prostanóides que, provavelmente, são responsável pela manutenção da sensibilização do nociceptor e para a gênese da dor inflamatória. Estes resultados indicam que a inibição do efeito da fractalcina/CX3CR1 com consequente ativação das SGC pode ser um alvo real para controle da dor inflamatória.

EFEITOS FUNCIONAIS DA METALOPROTEINASE DA MATRIZ 2 (MMP-2) EM AORTA DE COELHOS NEW ZEALAND *in vitro*

Alejandro Ferraz do Prado

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Fernanda Gerlach

Dissertação de Mestrado apresentada em 07/12/2011

Nos últimos anos, muitos trabalhos têm chamado a atenção para a importância da Metaloproteinase da Matriz 2 (MMP-2) sob o sistema cardiovascular. Alguns estudos demonstram que a MMP-2 é capaz de clivar peptídeos em produtos que favorecem a vasoconstrição e que ainda podem aumentar o estresse oxidativo e levar à disfunção endotelial. No presente trabalho, estudamos o efeito da injeção intraluminal de MMP-2 (1,2 μ g/mL) em aorta torácica isolada de coelhos *New Zealand* sobre atividade gelatinolítica *in situ*, na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e também em ensaio de reatividade vascular. A adição intraluminal de MMP-2 aumentou a atividade gelatinolítica *in situ* em relação ao efeito da adição somente do veículo (19,19 \pm 0,93 U, n=5 *versus* 10,75 \pm 0,45 U, n=5) e a formação de espécies reativas de oxigênio (20,12 \pm 1,59 U, n=5 *versus* 11,15 \pm 1,32 U, n=5) no músculo liso vascular (P<0,05). Esses efeitos foram inibidos quando a MMP-2 foi injetada juntamente com os inibidores de metaloproteinases fenantrolina e doxiciclina. Mas não foram inibidos pelo PMSF, inibidor de serina-proteases. Em ensaio de reatividade vascular, a MMP-2 aumentou a contração vascular da fenilefrina em anéis de aorta torácica sem endotélio quando comparado à adição do veículo (1833,50 \pm 146,45 g/g, n=7 *versus* 1466,40 \pm 109,95 g/g, n=5) (P<0,05), efeito que não observado em anéis com endotélio intacto. No ensaio de relaxamento vascular induzido por acetilcolina, a adição de MMP-2 não teve efeitos em relação ao veículo (P>0,05). Os nossos resultados nos permitem concluir que o aumento intraluminal de MMP-2 na aorta torácica é prejudicial levando ao aumento da atividade gelatinolítica, a formação de espécies reativas de oxigênio no músculo liso vascular e aumenta a contração vascular induzida pela fenilefrina em anéis sem endotélio.

O SISTEMA ENDOCANABINÓIDE PRESENTE NO CÓRTEX PRÉ-FRONTAL MEDIAL MODULA A ATIVIDADE BARORREFLEXA VIA RECEPTORES CB1

Nilson Carlos Ferreira-Junior

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Resstel Barbosa Moraes

Dissertação de Mestrado apresentada em 09/12/2011

Mecanismos reflexos neurais, como o barorreflexo, estão envolvidos na regulação da atividade do sistema cardiovascular. Resultados anteriores do nosso grupo mostram que sinapses glutamatérgicas na porção ventral do córtex pré-frontal medial (CPFMv) modulam a atividade barorreflexa. Além disso, a neurotransmissão glutamatérgica presente no CPFMv pode ser modulada por endocanabinóides, particularmente a anandamida, por meio da ativação pré-sináptica de receptores CB1. Dessa maneira, foi investigado o possível envolvimento do sistema endocanabinóide presente no CPFMv com a modulação da atividade do barorreflexo. No presente trabalho demonstramos que a microinjeção bilateral no CPFMv do antagonista de receptores CB1, AM251 (100 ou 300 pmol / 200 nL), aumentou a atividade do barorreflexo em ratos não anestesiados. Além disso, o inibidor da recaptção de endocanabinóides, AM404 (100 pmol / 200 nL), como também a inibição da enzima amido hidrolase de ácido graxo (FAAH) que degrada a anandamida, com o URB597 (100 pmol / 200 nL), aumentaram os níveis endógenos de endocanabinóides, o que resultou em redução na atividade barorreflexa. Finalmente, a administração prévia do antagonista CB1, AM251, em uma dose inefetiva (10 pmol / 200 nL), foi capaz de bloquear os efeitos tanto do AM404 como também do URB597, mostrando que a alteração da atividade barorreflexa se devia a ação dos endocanabinóides sobre receptores CB1.

Dessa maneira, esses resultados mostram que os endocanabinóides por meio da ativação de receptores CB1 presentes no CPFMv modulam a atividade barorreflexa, possivelmente por modular a liberação de glutamato na área.

Fisiologia

EFEITOS DA ANGIOTENSINA (1-7) SOBRE A ATIVIDADE ELÉTRICA DE NEURÔNIOS MAGNOCELULARES DO NÚCLEO SUPRAÓPTICO DE RATOS

Ricardo Martins Merino

Orientador: Prof. Dr. Wamberto Antonio Varanda

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/10/2011

Um dos fatores mais importantes em termos de controle homeostático do organismo e o equilíbrio hidrossalino, que esta relacionado a manutenção do volume e osmolalidade dos fluidos corpóreos. Este controle se da, principalmente, por meio do controle da ingestão e excreção de água e sódio. O sistema renina-angiotensina (SRA) e um sistema hormonal extremamente importante no controle destes fenômenos. Por muito tempo a angiotensina II foi considerada o único peptídeo ativo do SRA. No entanto, com a descoberta de que outros peptídeos deste sistema, antes considerados inativos, também eram capazes de desencadear respostas fisiológicas relevantes, esta idéia mudou. A angiotensina-(1-7) (Ang-(1-7)) e um destes peptídeos que hoje possuem função fisiológica descrita. A Ang-(1-7) age, de modo geral, contrabalanceando os efeitos hipertensivos da angiotensina II. Um dos principais alvos do sistema renina-angiotensina e o núcleo supra-óptica, no qual são encontrados os chamados neurônios magnocelulares. Estes neurônios são responsáveis pela síntese e secreção dos nonapeptídeos vasopressina e ocitocina, muito importantes no controle do balanço hidrossalino. No presente trabalho, objetivou-se (1) testar se o protocolo eletrofisiológico descrito na literatura, supostamente capaz de discriminar os diferentes fenotipos de neurônios magnocelulares, produz resultados condizentes com o fenotipo molecular da célula, determinado pela quantificação de mRNA de vasopressina e ocitocina pela técnica de transcrição reversa de RNA total seguida pela reação em cadeia da polimerase em tempo real em célula unica (RT-qPCR), e (2) estudar quais efeitos teria a Ang-(1-7) sobre a atividade elétrica dos neurônios magnocelulares de ratos. Para tal, foi utilizada a técnica de patch-clamp em fatias de cérebros de ratos *Wistar* machos com idade entre 25 e 34 dias de vida. Em modo current-clamp foram analisados os efeitos da Ang-(1-7) sobre a frequência de potenciais de ação e sobre o potencial de repouso dos neurônios, e em modo voltage-clamp os efeitos sobre frequência, amplitude, área e parâmetros cinéticos

(rise time, decay time e half-width) de correntes pós-sinápticas espontâneas excitatórias e inibitórias. Os resultados aqui apresentados mostram que: (1) os protocolos elétricos não são capazes de determinar o fenotipo molecular dos neurônios, (2) a Ang-(1-7) não exibe qualquer efeito sobre potencial de repouso ou frequência de potenciais de ação, e (3) a Ang-(1-7) afeta presinápticamente os neurônios magnocelulares reduzindo a frequência das correntes inibitórias e excitatórias. Foi verificado ainda que este efeito é sensível ao bloqueador de canais para sódio dependentes de voltagem tetrodotoxina e é independente da ativação dos receptores Mas para Ang-(1-7). Não foi detectado qualquer efeito da Ang-(1-7) sobre os demais parâmetros cinéticos estudados. Dessa forma, os resultados aqui apresentados sugerem que, de fato, a Ang-(1-7) atua modulando a atividade elétrica de neurônios magnocelulares do núcleo supra-óptico.

EFEITO DA MICROINJEÇÃO DE AGONISTAS E ANTAGONISTAS OPIOIDÉRGICOS E GABAÉRGICOS NO NÚCLEO DORSAL DA RAFE E AVALIAÇÃO DE SUAS CONEXÕES COM A SUBSTÂNCIA CINZENTA PERIAQUEDUTAL SOBRE A MODULAÇÃO DA IMOBILIDADE TÔNICA E NOCICEPÇÃO EM COBAIAS

Mateus Dalbem Ferreira

Orientadora: Profa. Dra. Leda Menescal de Oliveira

Tese de Doutorado apresentada em 25/10/2011

A imobilidade tônica (IT) é uma resposta defensiva inata, caracterizada por um estado de profunda inatividade física e relativa falta de resposta a estímulos ambientais. A IT é considerada o último recurso utilizado pela presa, no confronto presa/predador, visando sua sobrevivência. Os neurotransmissores liberados pelos neurônios do núcleo dorsal da rafe (NDR) estão envolvidos em diversas funções fisiológicas, além de modular algumas respostas comportamentais defensivas, incluindo a IT. Devido à participação destes nos diversos processos cerebrais, acredita-se que sua liberação possa depender de alguns neuromoduladores, como os opióides e o GABA. Assim, o presente trabalho teve como objetivos avaliar a influência serotonérgica, opioidérgica e GABAérgica, bem como suas interações, no NDR, sobre a modulação das respostas comportamental de IT e nociceptiva em cobaias. Além disso, estudar a conexão funcional e anatômica do núcleo dorsal da rafe com a substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd) e a formação hipocampal dorsal (FHD), sobre as essas respostas.

Os resultados do presente trabalho demonstraram que a microinjeção de morfina (1,1 nmol), bicuculina (0,5 nmol) e alfa-metil-5-HT (1,6 nmol) no NDR aumentou a duração dos episódios de IT e diminuiu o índice de vocalização, o que indica antinocicepção. O aumento da IT e antinocicepção produzidos pela morfina e alfa-metil-5-HT, em grupos distintos de animais, foram bloqueados pela microinjeção prévia (10 minutos) de naloxone (0,7 nmol) no mesmo sítio. Ao contrário, o tratamento com muscimol (0,5 nmol) diminuiu a duração da resposta comportamental de IT, e a administração de uma dose inefetiva de muscimol (0,26 nmol) no NDR, por sua vez, preveniu o efeito antinociceptivo e o aumento da IT provocada pela morfina. Os experimentos realizados com o objetivo de avaliar a possível conexão entre o NDR e a SCPd mostraram que o aumento da duração da IT e antinocicepção observados após a microinjeção do alfa-metil-5-HT (1,6 nmol) no NDR foram bloqueados pela microinjeção prévia (10 minutos) de lidocaína 2% na SCPd, em grupos distintos de animais. A microinjeção de atropina (0,7 nmol) na formação hipocampal dorsal (FHD) bloqueou o efeito de diminuição da IT após a administração de 8-OH-DPAT (0,3 nmol) no NDR. Estes dados funcionais foram reforçados pelos resultados do estudo neuroanatômico, o qual demonstrou a presença de projeções do NDR para a SCP dorsal e também para a área septal medial, de onde partem as projeções colinérgicas para a FHD.

Nossos resultados sugerem que a ativação dos receptores opióides e 5-HT₂ do NDR possuem uma ação facilitatória na modulação das respostas de IT e um efeito antinociceptivo, enquanto que, a neurotransmissão GABAérgica atua inibindo estas repostas. Além disso, a ativação dos receptores 5-HT₂ pode promover a liberação de endorfinas/enkefalinas de interneurônios do NDR, que, por sua vez, inibiriam interneurônios GABAérgicos presentes nesta estrutura, liberando assim, os neurônios eferentes possivelmente serotonérgicos deste mesmo núcleo, resultando portanto, em antinocicepção e aumento da duração da resposta de IT. As alterações observadas indicam que o NDR modula tanto respostas comportamentais quanto nociceptiva, e a presença de diferentes tipos celulares e neurotransmissores nesta estrutura pode ser um indicativo do controle bi-direcional destas respostas. Podemos sugerir ainda que a substância cinzenta periaquedutal dorsal (SCPd) e a formação hipocampal dorsal (FHD) possuem um papel importante no estabelecimento da resposta comportamental de IT após a estimulação do NDR e, possivelmente modulando também a nocicepção.

O AUMENTO DA REGULAÇÃO PARASSIMPÁTICA PELA PIRIDOSTIGMINA MELHORA O DESEMPENHO CARDIOCIRCULATÓRIO E O REMODELAMENTO DO VENTRÍCULO ESQUERDO NA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Renata Maria Lataro

Orientador: Prof. Dr. Hélio Cesar Salgado

Tese de Doutorado apresentada em 25/10/2011

A insuficiência cardíaca (IC) apresenta um desbalanço autonômico caracterizado por aumento da atividade simpática e redução do tônus vagal cardíaco. A inibição da atividade simpática por β bloqueadores tem sido utilizada como um meio eficaz de reduzir a mortalidade de pacientes com IC. No entanto, evidências experimentais sugerem que o aumento da função parassimpática cardíaca pode ser uma alternativa terapêutica para a prevenção da progressão da IC. A potencialização da neurotransmissão parassimpática pode ser induzida por meio da inibição da ação da acetilcolinesterase. Assim, este estudo objetivou avaliar, em ratos com IC, os efeitos da inibição crônica da acetilcolinesterase pela piridostigmina sobre: 1) o balanço autonômico cardíaco, avaliado pela administração de atropina e propranolol; 2) o controle barorreflexo da frequência cardíaca; 3) a variabilidade do intervalo de pulso (IP) e pressão arterial sistólica (PAS), avaliada no domínio do tempo e da frequência, 4) o remodelamento cardíaco [hipertrofia, acúmulo de colágeno e expressão de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) no miocárdio sobrevivente ao infarto]; 5) a função cardíaca, por meio da curva pressão-volume do ventrículo esquerdo (VE), 6) a atividade da acetilcolinesterase plasmática. A IC foi induzida pelo infarto agudo do miocárdio. Os animais foram acompanhados por 4 semanas entre a indução do infarto, ou cirurgia fictícia (grupo controle), e a coleta dos dados. Neste período, parte dos animais recebeu piridostigmina diluída na água de beber (0.14 mg/ml), sendo divididos em 4 grupos: controle; controle + piridostigmina; IC; IC + piridostigmina. A piridostigmina produziu os seguintes efeitos nos animais com IC: 1) preveniu a taquicardia (Controle:335 \pm 5; Controle+P:344 \pm 9; IC:388 \pm 11; IC+P:347 \pm 4 bpm), aumentou o tono vagal (Controle: 92 \pm 13; Controle+P:79 \pm 8; IC:40 \pm 8; IC+P:107 \pm 9 bpm) e reduziu o tono simpático cardíaco (Controle: -19 \pm 4; Controle+P:-17 \pm 3; IC:-47 \pm 9; IC+P:-23 \pm 5 bpm), sem alterar a frequência intrínseca de marcapasso (Controle:377 \pm 5; Controle+P:385 \pm 12; IC:392 \pm 6; IC+P:389 \pm 9 bpm) ou a pressão arterial média (Controle:103 \pm 2; Controle+P:107 \pm 2; IC:103 \pm 3; IC+P:97 \pm 4 mmHg); 2) aumentou a sensibilidade barorreflexa na taquicardia (Controle: -2.96 \pm 0.3; Controle+P: -2.33 \pm 0.3; IC: -1.16 \pm 0.2; IC+P:-3.74 \pm 0.5 bpm/mmHg), mas não a alterou na bradicardia (Controle: -2.03 \pm 0.2; Controle+P: -1.89 \pm 0.24; IC: -1.48 \pm 0.13; IC+P: -1.88 \pm 0.26 bpm/mmHg); 3) não alterou a modulação autonômica cardiovascular, avaliada pela análise da variabilidade do IP e PAS; 4) reduziu o diâmetro dos miócitos (Controle:13.2 \pm 0.2; Controle+P:11.6 \pm 0.4; IC:19.9 \pm 0.6; IC+P:17.0 \pm 0.5 mm), o acúmulo de colágeno (Controle:0.38 \pm 0.06; Controle+P:0.51 \pm 0.05; IC:1.15 \pm 0.11; IC+P:0.83 \pm 0.07%), e aumentou a expressão do VEGF no miocárdio sobrevivente ao infarto (Controle:0.59 \pm 0.06; Controle+P:0.96 \pm 0.13; IC:1.03 \pm 0.07; IC+P:1.58 \pm 0.15); 5) aumentou a fração de ejeção (Controle:40 \pm 4; Controle+P:37 \pm 4; IC:15 \pm 2; IC+P:28 \pm 4%) e contratilidade do VE (Controle:10111 \pm 523; Controle+P:9550 \pm 435; IC:5114 \pm 355; IC+P:6437 \pm 249 mmHg/s) enquanto reduziu o índice de resistência periférica total (Controle:1.7 \pm 0.2; Controle+P:1.8 \pm 0.2; IC:3.7 \pm 0.6; IC+P:2.28 \pm 0.2 mmHg/ml/min); 6) reduziu a atividade da acetilcolinesterase plasmática em 42%. Em conclusão, a administração crônica de piridostigmina em ratos com IC preveniu o desbalanço autonômico e o remodelamento cardíaco, melhorando o desempenho do VE. Entretanto, nos animais controles, o tratamento crônico com piridostigmina não alterou a atividade da acetilcolinesterase plasmática e, portanto, não induziu alterações na modulação autonômica cardíaca, remodelamento cardíaco ou função cardíaca.

MODULAÇÃO DE MICRORNAS NA EXPRESSÃO DE GENES ENVOLVIDOS NA PROLIFERAÇÃO E CICLO CELULAR EM CORTICOTROFINOMAS HUMANOS E EM LINHAGEM TUMORAL CORTICOTRÓFICA DE CAMUNDONGOS

Renata Costa Camargo

Orientadora: Profa. Dra. Margaret de Castro

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/11/2011

Introdução: Expressão reduzida de miR-143 e -145, que respectivamente regulam *MAPK7* e *CCN1*, proteínas envolvidas em proliferação, diferenciação e progressão do ciclo celular tem sido descrita em corticotrofinomas.

Objetivo: Avaliar a modulação dos miR-143 e -145 na expressão de *MAPK7*, *CCNLI* e *IGFBP7* em corticotrofinomas e em linhagem tumoral corticotrófica AtT-20.

Material e Métodos: A expressão de *MAPK7*, *CCNLI* e *IGFBP7* foi avaliada por PCR em tempo real (qPCR) em 25 corticotrofinomas e 6 hipófises normais, e em cultura primária de células adenohipofisárias e em cultura de células de linhagem tumoral corticotrófica AtT-20 de camundongos. O estudo funcional de interação miR-mRNA foi realizado através de transfecção dos precursores dos miR-143 e -145 em linhagem tumoral AtT-20 (siPORT, Applied Biosystems). Análise estatística foi realizada pelo teste de Mann-Whitney e dados apresentados em $X \pm DP$.

Resultados: Não houve expressão diferencial entre o tecido hipofisário normal e tumoral para os genes *MAPK7* ($0,94 \pm 0,36$ vs $1,16 \pm 1,30$), *CCNLI* ($0,90 \pm 0,29$ vs $0,64 \pm 0,51$) e *IGFBP7* ($1,23 \pm 0,61$ vs $1,8 \pm 1,68$). Observamos hiperexpressão de *MAPK7* ($3,61 \pm 1,84$ vs $0,93 \pm 0,17$, $p=0,002$) e *CCNLI* ($2,66 \pm 0,7$ vs $0,99 \pm 0,08$, $p=0,002$) na linhagem tumoral AtT-20, comparada com a cultura primária de adenohipófise, independentemente das passagens da linhagem tumoral em cultura. *IGFBP7* não apresentou expressão na linhagem AtT-20, mesmo após transfecção. A transfecção dos precursores de miR foi confirmada pela hiperexpressão de miR-143 ($1,25 \pm 0,79$ vs 1552 ± 730 ; $p < 0,0001$) e miR-145 ($1,43 \pm 1,42$ vs 4567 ± 1235 ; $p < 0,0001$). Não houve expressão diferencial do gene *MAPK7/ERK5* nas células AtT-20 transfectadas com miR-143 ($1,04 \pm 0,2$ vs $1,07 \pm 0,2$) ou miR145 ($1,04 \pm 0,2$ vs $1,13 \pm 0,2$) e para o gene *CCNLI* nas células transfectadas ou não com miR-143 ($1,05 \pm 0,3$ vs $1,05 \pm 0,3$). Entretanto, houve maior expressão de *CCNLI* nas células transfectadas com miR-145 ($1,05 \pm 0,3$ vs $1,17 \pm 0,2$; $p=0,003$).

Conclusão: A diferença na expressão entre corticotrofinomas e cultura de célula tumoral AtT-20 pode ser devido à imortalização da linhagem tumoral. A interação do miR-143 com o gene *MAPK7* não parece ocorrer por degradação de mRNA, mas por inibição da tradução. A linhagem tumoral AtT-20 não expressa *IGFBP7* e miR-143 e miR-145 parecem não controlar a expressão desse gene. miR-145 parece aumentar a expressão de *CCNLI*, o que desregularia o ciclo celular, contribuindo para tumorigênese corticotrófica.

ESTUDO DAS ALTERAÇÕES DE FUNÇÃO E ESTRUTURA RENAL PROVOCADAS EM RATOS PELA EXPOSIÇÃO AO LOSARTAN DURANTE O PERÍODO DE LACTAÇÃO: EFEITO DO TEMPOL

Evelyn Cristina Santana Marin

Orientadora: Profa. Dra. Terezila Machado Coimbra
Tese de Doutorado apresentada em 09/12/2011

Ratos expostos a antagonistas da angiotensina II durante a lactação apresentam distúrbios progressivos da estrutura e função renal. Esse estudo avalia a participação do estresse oxidativo na gênese das alterações renais induzidas em ratos pela exposição ao losartan durante o período de lactação. Ratos *Wistar* machos foram divididos em quatro grupos: 1 - controle, filhotes de mães que receberam solução de sacarose à 2 %; 2 - controle-tempol, filhotes de mães que receberam o antioxidante tempol ($0,34$ g/L), mimetizador da peróxido dismutase, diluído em sacarose à 2 %; 3 - losartan, filhotes de mães que receberam losartan (100 mg/kg/dia) diluído em sacarose à 2 %; 4 - losartan-tempol, filhotes de mães que receberam losartan (100 mg/kg/dia) e tempol ($0,34$ g/L) diluídos em sacarose à 2 %. O losartan e/ou o tempol foram administrados em substituição a água no bebedouro. O tratamento com losartan foi realizado durante a lactação, enquanto que o tempol foi adicionado durante a lactação ou no período dos 25 a 60 dias de idade dos filhotes. Amostras de sangue e urina das proles foram coletadas aos 21 e 60 dias de idade para avaliação da função renal e os rins removidos para estudos histológicos, imuno-histoquímicos, morfométricos, microscopia eletrônica, *western blot*, apoptose e de estresse oxidativo. Os ratos expostos ao losartan durante a lactação apresentaram alterações de função e estrutura renal que persistiram na vida adulta. Essas alterações foram caracterizadas por aumento do volume urinário, da fração de excreção de sódio e potássio, queda da osmolalidade urinária, proteinúria, aumento da área intersticial relativa do córtex renal, atrofia dos túbulos renais, fibrose, inflamação intersticial e estavam associadas à presença de estresse oxidativo. O tratamento com o tempol durante a lactação ou na fase tardia (25 aos 60 dias de idade) reduziu o estresse oxidativo. A administração do tempol na lactação atenuou o aumento da fração de excreção de potássio, apoptose bem como a resposta inflamatória no córtex renal induzidos pelo losartan. O tratamento com o tempol na fase tardia embora tenha atenuado o aumento da fração de excreção de sódio e potássio não interferiu com a resposta inflamatória e nem na evolução das alterações de estrutura renal provocadas pelo losartan. Concluindo, o estresse oxidativo está envolvido na lesão renal da prole exposta ao losartan durante a lactação. O bloqueio do estresse oxidativo pelo tempol diminuiu as alterações renais quando o tratamento foi iniciado precocemente na lactação.

MECANISMOS GLUTAMATÉRGICOS E PURINÉRGICOS ENVOLVIDOS NO ACOPLAMENTO DAS ATIVIDADES DOS NEURÔNIOS PRÉ-SIMPÁTICOS E RESPIRATÓRIOS NA REGIÃO VENTROLATERAL DO BULBO DE RATOS

Davi José de Almeida Moraes

Orientador: Prof. Dr. Benedito H. Machado

Tese de Doutorado apresentada em 22/12/2011

Resultados obtidos em animais não anestesiados sugeriram a participação do L-glutamato e do ATP na região rostral ventrolateral do bulbo/Complexo Bötzing (RVLM/BötC) na neurotransmissão/neuromodulação dos componentes pressor e respiratório à ativação do quimiorreflexo (Moraes e cols, 2011). Estudos anteriores do nosso laboratório sugerem a participação na região rostral ventrolateral do bulbo/Complexo Bötzing/Complexo pré-Bötzing (RVLM/BötC/pré-BötC), e da neurotransmissão glutamatérgica e purinérgica na gênese das alterações simpática e respiratórias decorrentes da exposição à hipóxia crônica intermitente (HCI) (Zoccal e cols, 2011). No presente trabalho estudamos a participação do L-glutamato e ATP no RVLM/BötC/pré-BötC na geração das atividades expiratória e inspiratória em condições basais e induzidas pela ativação do quimiorreflexo, na modulação respiratória da atividade simpática (acoplamento simpático e respiratório), bem como nas alterações simpática e respiratórias promovidas pela HCI em ratos. Para tanto, utilizamos ratos *Wistar* jovens (P19-P21) submetidos à HCI (6% de O₂ por 40 seg, a cada 9 minutos, 8 horas por dia) por 10 dias, e ratos controle mantidos em condições de normóxia (20,8% de O₂). Os resultados obtidos em preparações *in situ* (preparação coração-tronco cerebral isolados) mostraram um papel determinante para o L-glutamato no RVLM/BötC/pré-BötC na geração das atividades expiratória e inspiratória basal e induzidas pela ativação do quimiorreflexo, bem como na modulação respiratória da atividade simpática. Os resultados também mostraram que o ATP no RVLM/BötC desempenha um papel importante na modulação do componente expiratório (especialmente pós-inspiratório) basal e induzido pela ativação do quimiorreflexo. Os animais submetidos à HCI apresentaram níveis elevados da atividade simpática basal (avaliado por meio dos nervos simpático torácico e lombar) e em resposta à ativação do quimiorreflexo, durante a fase final da expiração. Essas alterações na atividade simpática se correlacionaram com um aumento na atividade do nervo e do músculo abdominal e do nervo hipoglosso durante a mesma fase respiratória, indicando que os mecanismos neurais envolvidos com a modulação respiratória da atividade simpática após a HCI estão alterados. Nesse modelo experimental verificamos que cinco tipos de neurônios respiratórios (inspiratórios decrescentes, inspiratórios em rampa, pré-inspiratórios, pósinspiratórios e os expiratórios crescentes) e um tipo de neurônio pré-simpática (modulação pósinspiratória) no RVLM/BötC/pré-BötC apresentaram alterações nas suas frequências de potenciais de ação em condições basais. Além disso, verificamos que o antagonismo dos receptores ionotrópicos glutamatérgicos no RVLM/BötC revertem as alterações simpática e respiratórias observadas nos animais HCI, enquanto que no RVLM/pré-BötC o antagonismo dos receptores purinérgicos no RVLM/pré-BötC promoveu alterações ainda maiores. Os resultados do presente estudo indicam também a participação dos neurônios do núcleo retrotrapezóide e das suas conexões com os neurônios expiratórios do BötC e os neurônios pré-simpáticos do RVLM na gênese das alterações das atividades simpática e respiratórias observadas nos animais submetidos à HCI.

Genética

OS GENES CODIFICADORES DE GLUTATIONA S-TRANSFERASE NA ABELHA *Apis mellifera*: EXPRESSÃO, REGULAÇÃO E FUNÇÃO DURANTE E APÓS A METAMORFOSE

Guaracini Aparecida Loterio

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Maria Gentile Bitondi

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/10/2011

Em insetos, as enzimas glutathione S-transferases (GSTs) são conhecidas pela capacidade de degradar inseticidas, pesticidas e outros compostos químicos, naturais ou não naturais, estranhos ao organismo, podendo também promover o transporte intracelular de hormônios, metabólitos, e atuar na proteção celular contra o estresse oxidativo. Além disto, a

função de uma GST tem sido associada ao processo de sequestro, pelo corpo gorduroso, de um tipo de proteína (hexamerinas) estocada na hemolinfa larval para ser utilizada como fonte de aminoácidos durante a metamorfose. Os objetivos deste trabalho consistiram em caracterizar a estrutura, a expressão e aspectos da função dos genes codificadores de GSTs em abelhas operárias *Apis mellifera*, além de investigar a possível função de um destes genes, *hp191(GSTS1)*, na dinâmica de sequestro de hexamerinas durante a metamorfose. A metodologia utilizada abrangeu técnicas de biologia molecular, como RT-PCR semiquantitativa e em tempo real, sequenciamento de nucleotídeos, *western blot*, silenciamento gênico. Resumidamente os resultados mostraram (1) diferenças estruturais (número e organização de íntrons e éxons) entre os dez genes GSTs de *A. mellifera*, (2) aumento da atividade destes genes relacionado ao envelhecimento e intensa atividade de forrageamento, (3) níveis de expressão dependente do tipo de dieta alimentar, (4) perfil de expressão de *hp191(GSTS1)*, assim como sua resposta aos hormônios morfogenéticos (hormônio juvenil e 20-hidroxiecdisona), consistentes com função na metamorfose, (4) diminuição dos níveis de hexamerina HEX 70a na hemolinfa em consequência do silenciamento de *hp191(GSTS1)* mediado por RNAi. Em conjunto, estes dados informam sobre estrutura, expressão e função dos genes GSTs de *A. mellifera* com particular foco na potencial participação de *hp191(GSTS1)* na metamorfose.

ESTUDO DOS DANOS OXIDATIVOS ESPONTÂNEOS NO DNA DE PACIENTES COM LESÕES MALIGNAS E BENIGNAS DE MAMA

Fernanda Paula de Carcalho

Orientadora: Profa. Dra. Catarina Satie Takahashi

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/11/2011

O estresse oxidativo é um dos principais responsáveis pela produção de danos espontâneos no DNA, os quais podem levar à origem de diversas neoplasias, inclusive câncer de mama (CM). Além disso, dentre os diversos fatores de risco já estabelecidos para a ocorrência do CM em mulheres, como idade, hormônios, dieta e fatores genéticos, alguns tipos de lesões benignas mamárias também aparecem como importantes elementos predisponentes. Dessa forma, a pesquisa de genes envolvidos com a produção ou reparo de danos oxidativos, bem como o estudo de elementos bioquímicos relacionados à proteção antioxidante em pacientes com lesões malignas e benignas de mama são fundamentais para o entendimento do mecanismo geral que conduz ao estresse oxidativo no CM. Os objetivos deste estudo foram determinar a frequência dos polimorfismos Ser326Cys *hOGG1* e Arg38Trp *AHCY* pela técnica de PCR-RFLP; avaliar os níveis sanguíneos de folato, vitamina B12 e glutatona peroxidase (GSH-Px); examinar o grau de lesões oxidativas espontâneas no DNA pelo Teste do Micronúcleo (MN), Índice de Divisão Nuclear (IDN) e Ensaio Cometa em linfócitos; e por fim, verificar se os polimorfismos e os elementos bioquímicos estudados exercem influência sobre tais danos oxidativos. Foram coletadas amostras de sangue periférico de 55 voluntárias sadias, 10 pacientes com adenose esclerosante (AE) e 54 pacientes com carcinoma ductal invasivo (CDI) não tratadas. Os polimorfismos foram analisados em todas as amostras. As análises bioquímica e citogenética foram realizadas numa sub-amostra composta por 21 mulheres sadias, 10 pacientes com AE e 14 pacientes com CDI. No Ensaio Cometa foi aplicada a endonuclease OGG1 para detecção de danos oxidativos. Não foi observada relação entre os alelos Ser326Cys *hOGG1* e Arg38Trp *AHCY* e o risco de CM. O número de indivíduos portadores do alelo Arg38Trp *AHCY* foi insuficiente para as demais análises. Não houve deficiência ou excesso de folato e vitamina B12 entre as voluntárias. Pacientes com CDI apresentaram níveis de GSH-Px e frequência de MNs significativamente maiores do que mulheres sadias. Não houve associação entre o grau de danos espontâneos no DNA e risco de CM. O alelo Ser326Cys *hOGG1* não interfere na produção de lesões espontâneas no DNA. O folato e a vitamina B12, em níveis normais, podem provocar instabilidade genômica em pacientes com AE.

INFLUÊNCIA DO GENE PACC NA REGULAÇÃO DE MANOSILTRANSFERASES NO DERMATÓFITO *Trichopiton rubrum* EM FUNÇÃO DE VARIAÇÕES NUTRICIONAIS E DO pH AMBIENTE

Niege Silva Mendes

Orientador: Prof. Dr. Antonio Rossi Filho

Dissertação de Mestrado apresentada em 1º/12/2011

A regulação da expressão gênica é essencial para os fungos se adaptarem às adversidades ambientais, como alterações no pH extracelular, escassez de nutrientes, força iônica e oscilações de temperatura. A resposta adaptativa ao

pH ambiente é bem caracterizada em fungos modelo como *Aspergillus nidulans*, e envolve a via de transdução de sinal constituída pelos produtos dos genes *pal* e *pacC*. No dermatófito *Trichophyton rubrum*, o gene *pacC* foi inativado, e a linhagem mutante apresentou uma diminuição na atividade das queratinases, indicando que, de alguma forma, este gene está envolvido na regulação da atividade queratinolítica deste dermatófito, e consequentemente na sua virulência e patogenicidade. Além disto, a glicosilação protéica é uma importante forma de regulação pós traducional, estruturando e estabilizando glicoproteínas que podem ser da via secretória, da parede ou da membrana celular. O processo de glicosilação protéica sofre influência do pH extracelular e da fonte nutricional. Foi ainda relatado que este tipo de regulação pós traducional também sofre influência dos genes *palB* e *pacC*, indicando que estes genes tenham um papel na glicosilação de enzimas secretadas. O objetivo deste trabalho foi analisar a influência do pH e da fonte nutricional na expressão de genes que codificam enzimas de N- e O-manosilação, e sua possível modulação pela proteína *PacC* no dermatófito *T. rubrum*. Para tanto, foi analisado, por PCR em tempo real, o perfil transcricional destes genes nas linhagens H6 (controle) e *pacC-1*, utilizando-se como fonte de carbono glicose, glicose e glicina ou queratina em vários tempos de cultivo, em pH 5,0 ou 8,0. A análise da expressão gênica revelou que quando a linhagem controle é cultivada em queratina em pH 5,0 ocorre um aumento da expressão da O-manosiltransferase, comparado com o cultivo em glicina com glicose e glicose. Porém, nestas mesmas condições o gene da N-manosiltransferase da linhagem mutante apresenta maiores níveis de expressão que os da linhagem controle. Em pH 8,0 pode-se notar grande semelhança entre os perfis de expressão apresentados por estes dois genes. Os resultados obtidos indicam que o gene *pacC* tem um papel importante no sensoriamento de nutrientes em meio ácido, modulando a expressão destas transferases, nas condições avaliadas. Estas enzimas podem ativar proteínas que atuam na hidrólise da queratina, ou mesmo formar glicoproteínas de parede celular que são essenciais na adesão do fungo à célula do hospedeiro, sugerindo um papel das manosiltransferases no processo infeccioso.

CONTROLE PÓS-TRANSCRICIONAL EM TIMÓCITOS E LINFÓCITOS T CD3+ PERIFÉRICOS DE CAMUNDONGOS NOD DURANTE A EMERGÊNCIA DO DIABETES MELLITUS DO TIPO 1

Thaís Arouca Fornari

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Aleixo da Silva Passos Junior
Tese de Doutorado apresentada em 02/12/2011

O presente trabalho refere-se ao estudo do papel dos microRNAs no controle pós-transcricional das células T de camundongos *Non Obese Diabetic* (NOD) modelo que reproduz o diabetes mellitus do tipo 1 (DM-1). Durante o desenvolvimento do trabalho, procurou-se esclarecer a hipótese de que os microRNAs controlam os níveis de determinados RNAs mensageiros (mRNAs) das células T durante a indução ou perda de tolerância imunológica. Portanto, a expressão alterada dos microRNAs estaria contribuindo com o processo da autoimunidade. Sendo assim, o objetivo do estudo foi identificar os perfis de expressão e as redes de interação entre um conjunto de microRNAs e seus respectivos mRNAs alvos nos timócitos e nos linfócitos T CD3+ periféricos durante o desenvolvimento do diabetes mellitus do tipo 1 (DM-1) em camundongos NOD. Para avaliar a expressão de genes codificadores de mRNAs, sendo estes possíveis alvos de microRNAs, utilizou-se a tecnologia de *microarrays*. O uso de programas de análise e para a construção das redes foi imprescindível. Acredita-se que fenômenos complexos como a regulação pós-transcricional de células T e seu envolvimento no processo de tolerância imunológica, bem como o surgimento de doenças autoimunes, podem ser melhor compreendidos por meio da genômica funcional. Os resultados encontrados evidenciam uma expressão diferenciada de mRNAs e microRNAs em timócitos e linfócitos T CD3+ periféricos durante o desenvolvimento do diabetes mellitus do tipo 1 (DM-1). As diferenças nos perfis transcricionais encontradas envolvem expressão de genes (mRNAs) relacionados diretamente ao sistema imune, a diferenciação e ativação de linfócitos T e a apoptose, bem como a outros processos relacionados a resposta imune. Além disso, as redes de interação microRNA-mRNA encontradas no presente trabalho evidenciam interações já conhecidas e apresentam novas interações, mostrando a participação de um grupo de microRNAs que estão atuando no controle pós-transcricional do diabetes do tipo 1 em camundongos NOD, contribuindo com a melhor compreensão do controle genético-molecular das doenças autoimunes, principalmente do diabetes do tipo 1.

Ginecologia e Obstetrícia

EFEITO DA SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS EM MÚLTIPLOS MARCADORES ULTRASONOGRÁFICOS E LABORATORIAIS DE RISCO METABÓLICO E DOENÇA CARDIOVASCULAR EM MULHERES OBESAS SEM OUTRAS CONDIÇÕES DE SAÚDE QUE INTERFEREM COM CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE DE CONTRACEPTIVO ORAL COMBINADO: UM ESTUDO CASO CONTROLE

Lucimara Facio Nobre Zueff

Orientador: Prof. Dr. Rui Alberto Ferriani

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/10/2011

Objetivo: Avaliamos se a presença da síndrome dos ovários policísticos (SOP) altera múltiplos marcadores ultrasonográficos e laboratoriais de risco metabólico e doença cardiovascular em mulheres obesas sem outras condições que interferem com o critério de elegibilidade do contraceptivo oral combinado (COC).

Métodos: Estudo caso-controle avaliando 90 mulheres obesas ($\geq 30,0 \text{ Kg/m}^2$ e $< 40 \text{ Kg/m}^2$), com idade entre 18 e 40 anos, sem outras condições de saúde que interferem com os critérios de elegibilidade de COC: 45 com SOP e 45 controles, pareadas por idade. Índice de massa corporal; circunferência da cintura e do quadril; pressão arterial sanguínea; insulina e glicemia de jejum; quantitativo insulin sensitivity check index (QUICKI); HDL, LDL e colesterol total; triglicérides; testosterona; globulina carreadora de hormônios sexuais (SHBG); índice de androgênio livre (FAI); índice de rigidez da carótida e espessura íntimamédia (EIM); dilatação mediada por fluxo da artéria braquial (DMF) e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) foram avaliados.

Resultados: Em mulheres obesas com SOP, observamos uma maior frequência de DHGNA quando comparada a obesas sem SOP (73,4% vs. 46,6%, $p < 0,01$). Embora não significativo, observamos uma tendência a aumento da insulina ($10,06 \pm 6,66 \mu\text{UI/mL}$ vs. $7,45 \pm 5,88 \mu\text{UI/mL}$, $p = 0,05$), diminuição do QUICKI ($0,36 \pm 0,06$ vs. $0,39 \pm 0,07$, $p = 0,05$) e diminuição da DMF ($7,00 \pm 3,87\%$ vs. $8,41 \pm 3,79\%$, $p = 0,08$). Nenhuma outra diferença significativa foi observada.

Conclusões: DHGNA é frequente em mulheres obesas sem outras condições que interferem com o critério de elegibilidade do COC, especialmente naquelas com SOP. Isto deveria ser considerado na escolha da melhor opção contraceptiva.

AVALIAÇÃO DO EFEITO DA MASSOTERAPIA NO ALÍVIO DA DOR EM NULÍPARAS DURANTE A FASE ATIVA DO TRABALHO DE PARTO

Rubneide Barreto Silva Gallo

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Maria Quintana

Dissertação de Mestrado apresentada em 31/10/2011

A dor do trabalho de parto traz repercussões físicas e/ou emocionais e é imperativo que ações de saúde propiciem condições não somente seguras, mas voltadas aos aspectos de humanização do parto, disponibilizando opções para controle da dor desta fase. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da massoterapia no alívio da dor durante a fase ativa do trabalho de parto. Trata-se de um ensaio clínico randomizado e controlado, composto por 46 primigestas, divididas em grupo controle (GC) que recebeu acompanhamento profissional, mas seguindo a rotina assistencial da maternidade e grupo massagem (GM) que recebeu massagem na região lombossacral durante as contrações uterinas por 30 minutos no período de 4-5 cm da dilatação cervical. Os instrumentos para avaliação utilizados foram escala de categoria numérica (ECN), escala visual analógica (EVA), diagrama de localização da dor e o questionário de McGill (forma reduzida). No pós-parto imediato foi aplicado um instrumento de opinião das parturientes em relação a satisfação com o estudo. Os resultados encontrados foram uma redução significativa da dor GM com média de $5,5 \pm 1,8$ em comparação com GC média de $7,8 \pm 1,4$ ($p < 0,01$), observados pela ECN e pela EVA a média de intensidade de dor foi $51,7 \text{ mm} \pm 19,9 \text{ mm}$ para o GM e $72,1 \text{ mm} \pm 15,4$ para o GC ($p < 0,01$). A maioria das parturientes 65% do GC e 57% do GM apontaram dor supra-púbica e lombar ($p = 0,76$). As palavras que mais caracterizaram a dor do trabalho de parto foram cólica, dolorida, que rasga, cansativa e exaustiva. Em relação à opinião das mulheres sobre o estudo, 70% do GM e 39% do GC relataram que a intervenção tanto promoveu alívio de dor como alívio do estresse e ansiedade; Todas as parturientes acharam importante a presença do fisioterapeuta e classificaram a terapia recebida como ótima 70% GC e 65% GM ($p = 0,99$). Desta forma conclui-se que a massagem reduz a intensidade da dor do trabalho de parto, podendo favorecer a uma experiência de parto positiva e satisfatória.

INFLUÊNCIA DO PUERPÉRIO SOBRE A ELIMINAÇÃO DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO EM MULHERES PORTADORAS OU NÃO DO HIV: UM ESTUDO DE COORTE

Emilia Moreira Jalil

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Maria Quintan

Tese de Doutorado apresentada em 04/11/2011

Sabe-se que a infecção pelo HPV é necessária para a carcinogênese cervical, porém não suficiente. A persistência deste vírus é um dos fatores mais significativos para o desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas e do câncer cervical. Poucos estudos avaliaram a influência do puerpério sobre a infecção pelo HPV, principalmente em mulheres portadoras do HIV. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do puerpério na eliminação do HPV entre mulheres portadoras ou não do HIV. Trata-se de estudo de coorte, realizado entre janeiro de 2007 a janeiro de 2010, no qual todas as gestantes foram submetidas à detecção do HPV por meio da técnica de PCR. Foram selecionadas as pacientes que apresentavam teste positivo para o HPV e coletadas amostras cérvicovaginais das mesmas durante a gravidez e no puerpério. Análise estatística foi realizada utilizando regressão simples e logística, considerando como significativo nível estatístico de 0,05. Foram arroladas 151 pacientes positivas para o HPV, das quais 54 eram portadoras do HIV e 97 eram negativas para este vírus. A idade média das mulheres foi $28,6 \pm 6,1$ anos e $23,2 \pm 6,4$ anos ($p < 0,05$) para as gestantes infectadas e não infectadas pelo HIV, respectivamente. Das 151 gestantes acompanhadas, observou-se eliminação do HPV em 71 (47,0%). Não houve diferença entre as idades médias e as idades gestacionais das mulheres que negativaram e as que persistiram com a infecção pelo HPV (respectivamente, $25,8 \pm 7,5$ anos x $24,4 \pm 6,0$ anos; $p = 0,2$ e $17,3 \pm 6,8$ semanas x $17,0 \pm 7,7$ semanas; $p = 0,87$). Não houve diferença na taxa de negatificação para o HPV de acordo com o *status* para o HIV (48,1% versus 46,4%; $p = 0,87$), entretanto mulheres infectadas pelo HIV apresentaram tempo médio para clearance viral significativamente maior do que as não infectadas (respectivamente, $7,0 \pm 3,8$ meses versus $5,9 \pm 3,0$ meses; $p < 0,05$). Na análise multivariada, gestantes que não referiram o hábito de fumar tiveram chance duas vezes maior de eliminar o HPV (RR 2,2; IC95% 1,1 - 5,0; $p < 0,05$). O tipo de parto não interferiu no clearance do HPV. O clearance do HPV ocorreu em 84,5% das mulheres no período puerperal (60/71), comparado a 15,5% durante a gestação (11/71), com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), inclusive para as mulheres portadoras do HIV. O puerpério representa momento de significativa redução da infecção pelo HPV, tanto em mulheres portadoras do HIV, quanto em não portadoras. O tipo de parto parece não interferir na eliminação do HPV no puerpério.

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DOS GENES CCR1, TAGLN E PTEN EM TECIDO ENDOMETRIAL DE MULHERES COM E SEM ENDOMETRIOSE

Gabriela dos Santos Hidalgo

Orientador: Prof. Dr. Rui Alberto Ferriani

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/11/2011

A endometriose é uma doença complexa e multifatorial, com vários mecanismos envolvidos no implante e manutenção do tecido ectópico: disfunção do sistema imunológico, mecanismos de adesão, invasão, proliferação e diferenciação celular, alterações de apoptose e angiogênese, entre outros. Assim, estudo de genes relacionados com tais processos como o CCR1 (processo inflamatório), TAGLN (marcador para início de transformação) e PTEN (supressor tumoral), é de suma importância para entender a desregulação celular dos implantes endometrióticos. O objetivo desse trabalho foi analisar a expressão gênica do CCR1, TAGLN e PTEN, em 30 amostras de endométrio controle de mulheres sem endometriose, sendo 15 na fase proliferativa e 15 na fase secretora do ciclo menstrual, e 40 amostras de endométrio eutópico de mulheres com endometriose, sendo 20 na fase proliferativa e 20 na fase secretora.

Analizamos ainda os níveis de expressão do gene TAGLN em 40 lesões ectópicas de pacientes com endometriose, sendo 10 lesões peritoneais na fase proliferativa, 10 lesões peritoneais na fase secretora do ciclo menstrual, 10 endometriomas na fase proliferativa e 10 endometriomas na fase secretora do ciclo menstrual. Estudamos a expressão gênica dos três genes mencionados por PCR em Tempo Real. Não houve diferença na expressão gênica entre os endométrios eutópicos de mulheres com e sem endometriose, assim como entre os endométrios nas diferentes fases do ciclo menstrual. Houve aumento da expressão do gene TAGLN nas lesões endometrióticas comparado com a expressão do endométrio eutópico das mesmas pacientes. Assim, é possível que deregulação gênica das lesões endometrióticas possam contribuir para sua implantação e manutenção no ambiente peritoneal.

EFEITO DA ELETROESTIMULAÇÃO NERVOSA TRANSCUTÂNEA NO ALÍVIO DA DOR EM NULÍPARAS, NA FASE ATIVA DO TRABALHO DE PARTO

Licia Santos Santana

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Cristina Marcolin
Dissertação de Mestrado apresentada em 18/11/2011

A eletroestimulação nervosa transcutânea (ENT) é um recurso que consiste em administrar impulsos ou estímulos elétricos de frequência variável, assimétricos ou simétricos de correntes bifásicas através de eletrodos superficiais aplicados sobre a região dolorosa. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da ENT no alívio da dor na fase ativa da dilatação, no trabalho de parto, e constatar o grau de satisfação das parturientes em relação à experiência vivida durante o estudo. Trata-se de um ensaio clínico randomizado e controlado com 46 parturientes, divididas em grupo controle (GC) e grupo de intervenção (GI). Todas as pacientes eram primigestas, com dilatação cervical de 4 cm, em trabalho de parto espontâneo, com contrações regulares para essa fase, sem uso de drogas ocitócicas ao longo do trabalho de parto, de baixo risco gestacional, com membranas ovulares íntegras e feto único. A aplicação da ENT foi feita pela pesquisadora responsável, fixando dois pares de eletrodos nas regiões paravertebrais, um nas raízes nervosas de T10 a L1 e outro par entre S2 e S4. Os parâmetros utilizados na ENT foram: frequência de 100 Hz, largura de pulso de 100 us, intensidade de acordo com a sensibilidade da paciente e duração da aplicação de 30 minutos contínuos. A avaliação da dor foi realizada imediatamente, antes e após a terapêutica, com a escala categórica numérica (ECN), a escala visual analógica (EVA), o diagrama corporal da localização e Questionário McGill na forma reduzida. No puerpério, além dessas avaliações, o grau de satisfação da paciente com relação à intervenção e a presença de um profissional de saúde durante a fase ativa do trabalho de parto foram pesquisados. Os resultados mostraram que houve diferenças estatísticas significantes entre os dois grupos estudados, com relação à intensidade da dor, após a aplicação da ENT, com apenas 34% das pacientes do GI mantendo a classificação da dor como 7 ou mais, em contraste com 83% das pacientes do GC. Por outro lado, não houve diferenças estatísticas em relação à localização da dor, após a aplicação da ENT. As parturientes do GI ficaram mais satisfeitas com a experiência vivida e com o suporte contínuo recebido, durante o período estudado. Os resultados maternos e perinatais foram semelhantes nos dois grupos estudados. Os resultados encontrados demonstram que a aplicação da ENT, no início da fase ativa do trabalho de parto, alivia a dor das parturientes. Além disso, a presença de suporte contínuo exerce efeito positivo sobre as pacientes submetidas a essa intervenção.

AValiação DA DILATAÇÃO MEDIADA POR FLUXO DA ARTÉRIA BRAQUIAL E DA CONCENTRAÇÃO DE NITRITO EM SANGUE TOTAL MATERNO DURANTE O TERCEIRO TRIMESTRE GESTACIONAL E O PUERPÉRIO

Andre Hadyme Miyague

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli
Dissertação de Mestrado apresentada em 12/12/2011

A queda da resistência vascular periférica durante a gestação normal parece estar relacionada a fatores endotélio-dependentes, principalmente pela secreção endotelial aumentada de óxido nítrico (NO). Foram comparados dois métodos de avaliação da função endotelial, a dilatação mediada por fluxo da artéria braquial (DMF) e a quantificação de nitrito em sangue total, durante dois períodos fisiologicamente distintos: o terceiro trimestre gestacional (3T) e o puerpério (PU). Foi realizado um estudo prospectivo observacional no qual 28 gestantes foram avaliadas durante o terceiro trimestre gestacional e puerpério. Durante esses períodos foi analisada a DMF e coletado sangue venoso para a quantificação do nitrito em sangue total.

Na avaliação da DMF verificamos uma redução não significativa entre o terceiro trimestre e o puerpério ($10,39\% \pm 5,57$ e $8,42\% \pm 4,21$ respectivamente; $p: 0,11$). Com relação à quantificação do nitrito em sangue total demonstramos uma redução não significativa entre os períodos estudados ($257,41 \pm 122,95$ nMol/l para o 3T e $237,16 \pm 90,01$ nMol/l para o PU; $p: 0,28$). A correlação entre DMF e nitrito também não foi significativa em ambos os períodos estudados, sendo negativa de fraca intensidade no 3T ($r: -0,13$; $p: 0,50$) e positiva, no entanto também de fraca intensidade no PU ($r: 0,14$; $p: 0,47$). A redução dos valores da DMF e do nitrito em sangue total, apesar de não significativa, demonstra correlação com o estado hipoestrogênico da mulher durante o puerpério. Esse é primeiro estudo a analisar os valores do nitrito em sangue total materno durante a transição gestação-puerpério; é também o primeiro a correlacionar a DMF com a quantificação de nitrito durante a gestação e o puerpério. Contudo mais estudos são necessários para a melhor compreensão do comportamento desses marcadores da função endotelial durante a gestação.

EFEITO PROLIFERATIVO DOS MODULADORES SELETIVOS DO RECEPTOR DE ESTROGÊNIO E DO COMPLEXO ESTROGÊNICO TECIDO SELETIVO EM CÉLULAS ENDOMETRIAIS

Jaime Kulak Junior

Orientador: Prof. Dr. Rui Alberto Ferriani

Tese de Doutorado apresentada em 13/12/2011

Moduladores seletivos do receptor de estrogênio (SERMs) apresentam efeitos estrogênicos e anti estrogênicos. SERMs melhoram a densidade mineral óssea com pouco ou nenhum efeito no tecido endometrial e mamário. A combinação de um SERM com um componente estrogênico formando o complexo estrogênico tecido seletivo (TSEC) tem demonstrado efeito tecidual agonista e antagonista. Os TSECs aliviam sintomas vasomotores e não induzem proliferação endometrial. A endometriose é uma doença estrogênio-dependente.

O SERM bazedoxifeno (BZA) antagoniza a estimulação endometrial induzida pelo estrogênio sem anular os efeitos estrogênicos no osso ou no sistema nervoso central. Estas propriedades o tornam um candidato ao tratamento da endometriose. Nós estudamos cultura de células Ishikawa tratadas por 24h com E2, raloxifeno (RAL), RAL+E2, tamoxifeno (TAM), TAM+E2, lasofoxifeno (LAS), LAS+E2, BZA ou BZA+E2 na concentração de 0,1µM. Endometriose experimental foi criada em camundongos CD-1 com 8 semanas. 10 animais receberam injeções intraperitoneais de BZA (3mg/kg/d) por 8 semanas, e 10 receberam veículo.

Camundongos foram sacrificados e o tamanho dos implantes foi avaliado. PCR em tempo real (PCRTR) e análise imuno-histoquímica foram utilizados para determinar a expressão gênica endometrial. Em células Ishikawa, um aumento na expressão do RNAm do HOXA10, leukemia inhibitory factor (LIF) e receptor de progesterona (RP) foi observado nas células tratadas com E2 quando comparados aos controles. Aumento da expressão do HOXA10 em resposta ao E2 foi atenuada quando um TSEC foi usado: BZA+E2 > RAL+E2 > LAS+E2 > TAM+E2. Todos os TSECs preveniram significativamente o aumento da expressão do LIF induzida pelo estrogênio, exceto TAM+E2. Um aumento de 3-15 vezes na expressão do RP foi visto em células tratadas com TSECs em comparação com SERM isolado: RAL+E2 vs RAL (p=0,005); TAM+E2 vs TAM (p=0,0002); LAS+E2 vs LAS (p=0,0008); BZA+E2 vs BZA (p<0,00001). E2 foi capaz de diminuir a expressão do EMX2 (p=0,05). Todos os TSECs aumentaram significativamente a expressão do EMX2 em comparação com E2. No modelo animal, o tamanho médio dos implantes após o tratamento foi de 60mm² no grupo controle e 21 mm² no grupo BZA (p0,03). Expressão do RNAm do PCNA, receptor de estrogênio á (REá) e LIF diminuiu significativamente no endométrio do grupo tratado enquanto que da Caspase 3 aumentou. A expressão do RP e do HOXA10 não foi alterada pelo tratamento. Concluímos que, em células Ishikawa, TSECs atenuam a proliferação celular endometrial pela modulação seletiva de genes responsivos ao E2, mantendo os efeitos antiproliferativos mediados pelo RP e EMX2. O efeito diferencial dos TSECs na expressão gênica de células endometriais sugerem mecanismos alternativos na prevenção da hiperplasia endometrial. A diminuição da expressão do PCNA, ERá e LIF demonstrou que a regressão da endometriose provavelmente envolve diminuição da proliferação celular mediada pelo E2. BZA pode ser eficaz no tratamento da endometriose, devido ao seu melhor efeito antagonístico em resposta ao E2, a nível endometrial, em comparação com outros SERMs.

A VITRIFICAÇÃO DE OÓCITOS BOVINOS PREJUDICA SUA CAPACIDADE REPRODUTIVA, INDEPENDENTE DO ESTADIO DE MATURAÇÃO

Daiane Lopes Bulgarelli

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina Japur de Sá Rosa e Silva

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/12/2011

Até o momento a literatura não determinou qual o melhor estadio de maturação (imaturo ou maduro) para que o oócito mantenha sua competência para o desenvolvimento reprodutivo após a criopreservação. O objetivo deste estudo foi determinar em qual estadio meiótico (imaturo -VG (vesícula germinativa) ou maduro- MII (metáfase II)) o oócito é menos susceptível ao dano na criopreservação, utilizando modelo experimental bovino. Foram utilizados ovários de vacas abatidas em matadouro, após a aspiração dos folículos, os oócitos imaturos (VG) foram selecionados para a maturação *in vitro* e vitrificação, e foram divididos em três grupos: 1) oócitos maturados *in vitro* e não submetidos à vitrificação (CONTROLE); 2) oócitos vitrificados imaturos (VG), descongelados e submetidos à maturação *in vitro* (CRIO-MIV); 3) oócitos maturados *in vitro* (MII), vitrificados e descongelados (MIV-CRIO). Os oócitos foram avaliados quanto a: a) maturação

nuclear pela técnica de orceína acética; b) integridade da zona pelúcida (ZP) através de microscopia de polarização; c) viabilidade oocitária pela técnica de DEAD-LIVE; d) desenvolvimento embrionário (taxa de clivagem, produção e eclosão de blastocistos) através da fertilização *in vitro* (FIV) e ativação partenogenética (AT). Não houve diferença na capacidade de maturação nuclear entre os oócitos frescos e descongelados no grupo CRIO-MIV ($p=0,23$). Em relação à zona pelúcida a totalidade dos oócitos (100%) nos três grupos apresentou leitura de zona pelúcida positiva, não havendo correlação com evolução embrionária posterior. Na análise de viabilidade celular pelo DEAD-LIVE verificou-se que houve redução da viabilidade do grupo MIV-CRIO (27%) quando comparado com controle (84%) ($p<0,0001$). Na análise do potencial de desenvolvimento embrionário o grupo controle apresentou melhores taxas de clivagem após FIV (80%) e AT (58%), do que os grupos CRIO-MIV (28%; $p<0,0001$; 28%; $p=0,0002$, respectivamente) e MIV-CRIO (26%; $p<0,0001$; 22%, $p<0,0001$, respectivamente). As taxas de formação de blastocisto e eclosão após FIV nos grupos CRIO-MIV, MIV-CRIO e após AT no grupo MIV-CRIO foram nulas. Houve a produção e eclosão de apenas um blastocisto no grupo CRIO-MIV após AT. No modelo experimental utilizado, o procedimento de vitrificação comprometeu parcialmente a viabilidade dos oócitos medida pela técnica de DEAD-LIVE e completamente o desenvolvimento embrionário subsequente, independente do estágio de maturação meiótica (VG ou MII) durante a criopreservação. No entanto, oócitos vitrificados em estágio de VG e submetidos à MIV foram meioticamente competentes e progrediram até o estágio de MII, sugerindo que o dano não compromete a capacidade de maturação nuclear do oócito. Este estudo não conseguiu determinar qual o melhor estágio meiótico oocitário para criopreservação, já que os dois estágios meióticos (VG e MII) se mostraram igualmente prejudicados pela criopreservação em relação à capacidade reprodutiva.

PADRONIZAÇÃO DE UMA TÉCNICA PARA MEDIDA DA ESPESSURA E VOLUME ENDOMETRIAL POR ULTRASSONOGRAFIA TRIDIMENSIONAL: UM ESTUDO DE CONFIABILIDADE E CONCORDÂNCIA INTRA- E INTER-OBSERVADOR

Stael Porto Leite

Orientador: Prof. Dr. Wellington de Paula Martins

Dissertação de Mestrado apresentada em 15/12/2011

Introdução: A avaliação endometrial à ultrassonografia, em geral, tem sua aplicação clínica em larga escala dentro do ciclo reprodutivo feminino, porém, (até onde se sabe), sem uma forma padronizada para a realização dessas medidas.

Objetivo: O objetivo deste estudo foi avaliar se a padronização do exame ultrassonográfico tridimensional (US-3D) do útero ao modo multiplanar - "standardization of the multiplanar view" - (SMV) melhora a confiabilidade intra e interobservador e a concordância em relação às medidas endometriais.

Casística e Métodos: Foram realizados exames ultrassonográficos, ao modo bidimensional (US-2D) e tridimensional (US-3D) em 30 mulheres submetidas a tratamento em reprodução assistida. Dois observadores mediram a espessura endometrial utilizando US-2D e US-3D. O volume endometrial foi avaliado por meio do sistema computadorizado VOCAL™ em planos longitudinal (A) e coronal (C) utilizando o exame multiplanar de forma não padronizada - "unmodified multiplanar view" (UMV) e aquele sob a forma padronizada - "standardized multiplanar view" (SMV). O coeficiente de correlação intraclasses (CCI) foi empregado para avaliar a confiabilidade entre as medidas. A concordância foi avaliada calculando-se a média das diferenças e dos "limites de concordância de Bland-Altman (LoA)". O grau de facilidade em delimitar e contornar a interface endométrio-miométrio ao plano A ou C foi determinado de forma subjetiva.

Resultados: A medida do volume endometrial utilizando o SMV ao plano A mostrou-se mais confiável (IC intra e interobservador 0,979 e 0,975) do que a medida da espessura endometrial utilizando US-2D (CCI = 0,742 e 0,702) ou US-3D (CCI = 0,890 e 0,784). Os limites de concordância interobservadores e confiabilidade intraobservador para medidas do volume endometrial foram maiores ao método padronizado (SMV) utilizando o plano A, do que aquele não padronizado (VUM), tanto ao plano A quanto ao plano C. Chama a atenção os intervalos de confiança serem ainda mais estreitos ao plano A. Não houve diferença significativa com relação à confiabilidade ou concordância entre as medidas realizadas, tanto ao plano A quanto ao plano C, utilizando-se o método padronizado (SMV). No entanto, os observadores concordaram que o delineamento da interface endométrio-miométrio a partir do plano A foi mais fácil (50,0% para o primeiro observador e 46,7% para o segundo observador), ou comparáveis aos planos A e C (50% para o primeiro observador e 53,3% para o segundo observador), mas nunca ao plano A mais difícil do que ao plano C.

Conclusões: As medidas do volume endometrial são mais confiáveis do que as da espessura endometrial, sendo melhor realizadas quando utilizado o método padronizado (SMV) ao plano A.

REPRODUTIBILIDADE INTRA E INTEROBSERVADOR DA BIOMETRIA, PESO FETAL ESTIMADO PELA ULTRASSONOGRRAFIA BIDIMENSIONAL E TRIDIMENSIONAL E, DOS ÍNDICES VASCULARES POWER DOPPLER TRIDIMENSIONAIS DA PLACENTA EM MULHERES GESTANTES DE 25 A 38 SEMANAS

Jailson Costa Lima

Orientador: Prof. Dr. Francisco Mauad Filho
Tese de Doutorado apresentada em 19/12/2011

Objetivo comparar a confiabilidade e concordância intra e interobservador do diâmetro biparietal (DBP), circunferência abdominal (CA), comprimento do fêmur (CF) e peso fetal estimado (PFE), obtidos por ultrassonografia bidimensional (US2D) e tridimensional (US3D).

Avaliar e comparar a confiabilidade intra e interobservador dos índices vasculares Power Doppler tridimensionais (3DPD) usando amostras esféricas únicas da placenta. Métodos Foram realizadas 3 avaliações (duas pelo primeiro observador intercaladas pela avaliação do segundo observador) de forma cega para determinar DBP, CA, CF por US2D e US3D, sendo o PFE determinado da fórmula de Hadlock em gestantes com feto único e idade gestacional entre 25 e 38 semanas. A confiabilidade foi avaliada pelo coeficiente de correlação intraclass; a concordância foi avaliada pelo método de Bland-Altman, proporções de diferenças abaixo de pontos de corte determinados de forma arbitrária foram: DBP e CF ($\leq 0,15$ cm), CA ($\leq 1,5$ cm) e PFE (≤ 200 g e $\leq 10\%$), e comparação da diferença média. Foi considerado como diferença significativa $p < 0,05$. Para a análise da confiabilidade dos índices 3DPD da placenta, um observador adquiriu dois blocos 3DPD da placenta, intercalados pela aquisição do segundo observador. Os blocos 3DPD foram, então, analisados de forma independente, utilizando quatro diferentes métodos de amostragem esférica única: amostras aleatórias da placa basal a corial (aleatóriaBC) ou com 2 cm³ de volume (aleatória2cm³); amostras da região subjetivamente com mais sinais Doppler colorido da basal à placa corial (MVBC) ou com 2 cm³ de volume (MV2cm³).

Resultados: Foram avaliadas 102 gestantes de feto único com idade gestacional entre 25 semanas e 38 semanas e 3 dias, com média = 30,19 semanas.

Os valores de ICC para as medidas realizadas por US3D foram mais altos que os valores observados para US2D, sendo a principal diferença no CF, com ICC para US2D, intra e interobservador, 0,989 e 0,987 e, para US3D, 0,996 e 0,996, respectivamente. Na avaliação da concordância, a US3D associou-se a limites de concordância mais estreitos e proporções significativamente maior de diferenças abaixo dos pontos arbitrários em todas as diferenças interobservadores, bem como nas diferenças intra-observador para o CF e CA. Quanto aos índices 3DPD da placenta, foram avaliadas 95 gestantes de feto único com idade gestacional entre 25 semanas e 38 semanas e 3 dias, com média = 30,08 semanas. Quanto à posição da placenta, observamos 44 anteriores (46,3%), 28 posteriores (29,5%), e 23 laterais ou fúndicas (24,2%); observaram-se menores valores de ICC para as placentas laterais e fúndicas, em comparação às de localização anterior e posterior. A maior confiabilidade observada foi para as amostras esféricas da placa basal a corial no segmento mais vascularizado das placentas anteriores (intra- ICC= 0,68 e inter- ICC= 0,36) e posteriores (intra- ICC= 0,63 e inter- ICC= 0,46).

Conclusão: a confiabilidade e concordância das medidas fetais e PFE foi melhor pela US3D comparado com a US2D. A maior diferença foi observada para o FL. Os índices vasculares 3DPD por amostra esférica única da placenta em gestantes depois de 24 semanas apresentaram fraca a moderada confiabilidade intra e interobservador.

FATORES MOTIVACIONAIS DA MULHER PORTADORA DE LEIOMIOMA UTERINO PARA A REALIZAÇÃO DA HISTERECTOMIA

Luiz Gustavo Oliveira Brito

Orientador: Prof. Dr. Francisco José Candido dos Reis
Tese de Doutorado apresentada em 19/12/2011

A histerectomia é uma das cirurgias ginecológicas mais realizadas no Brasil. Uma das causas mais associadas à sua realização é o leiomioma uterino, tumor benigno ginecológico mais frequente entre as mulheres. Vários fatores (pessoais, socioculturais e externos) parecem influenciar a mulher portadora dessa doença durante o seu processo de escolha do tratamento. A partir do exposto, objetivamos conhecer os fatores motivacionais da mulher portadora de leiomioma uterino que influenciam na decisão por realizar a histerectomia. Desenvolvemos um estudo qualitativo com entrevistas em grupos focais. As entrevistas foram coordenadas por um moderador/entrevistador e audiogravadas por um relator/observador no Ambulatório de Uroginecologia, Cirurgia Ginecológica e Reconstructiva Pélvica do HCFMRP-USP.

Após escuta rigorosa e transcrição das falas, as entrevistas foram analisadas com auxílio de um processador qualitativo (Atlas TI v 6.2). A técnica empregada foi a análise de conteúdo. Houve um agrupamento dos códigos em subcategorias, e estas foram reunidas em torno de temas, ocorrendo a sua interrelação. O referencial teórico empregado foi a Teoria das Atividades. Como resultados, evidenciamos que a mulher com leiomioma uterino opta (ou não) por operar (histerectomia) não somente por influência do médico assistente, mas principalmente por fatores motivacionais. Estes foram considerados artefatos de mediação: o (des)conhecimento sobre a evolução da doença, a influência (positiva ou negativa) da família e/ou terceiros, as crenças pessoais e o quadro clínico. Essa ação da escolha do tratamento situa-se em um cenário formado de regras protocolares de assistência, encontra-se em uma comunidade de profissionais que, juntos, dividem o trabalho para que o processo assistencial ocorra de forma adequada. O desejo de cirurgia associou-se à crença do leiomioma uterino como uma doença com um grande risco de evolução para câncer. A experiência positiva de familiares e/ou terceiros sobre a histerectomia, o apoio do parceiro, a associação do útero com a fecundidade (crenças pessoais) e a piora da qualidade de vida devido ao quadro clínico foram fatores motivacionais influenciadores na decisão pela histerectomia. Porém, a exceção ocorreu naquelas que apresentaram crenças sobre uma alteração sexual e física após a cirurgia. Concluímos que a mulher portadora de leiomioma uterino deve receber do profissional de saúde que a assiste, informações para um conhecimento adequado sobre a evolução clínica do leiomioma e sobre todos os tipos de tratamento a que pode ser submetida, seus benefícios e riscos, para que assim possa participar com o médico da decisão sobre realizar ou não um procedimento cirúrgico para essa neoplasia, contribuindo para uma melhor gestão da qualidade do atendimento.

Imunologia Básica e Aplicada

CARACTERIZAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA E PROSPECÇÃO DE BIOMARCADORES INDUZIDOS PELA ASSOCIAÇÃO ENTRE O BIOFÁRMACO DNAHSP65 E AS DROGAS CONVENCIONAIS NO TRATAMENTO DA TUBERCULOSE EXPERIMENTAL

Rodrigo Ferracine Rodrigues

Orientador: Prof. Dr. Celio Lopes Silva

Tese de Doutorado apresentada em 26/10/2011

A tuberculose, doença causada pelo bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, é uma das doenças mais antigas de que temos notícias e ainda mata cerca de 2 milhões de pessoas anualmente. Embora haja tratamento eficaz disponível, sua duração longa, efeitos colaterais, dificuldades de acesso e taxas altas de abandono da terapia cooperam para a disseminação da doença e surgimento de cepas resistentes. A única vacina disponível para prevenção da doença em humanos, a BCG, tem eficácia variável de 0 a 80% ao redor do mundo. Embora grandes investimentos tenham sido feitos nas últimas décadas, nenhuma nova alternativa para a prevenção ou tratamento da tuberculose está disponível para uso. Um dos obstáculos desse processo é a falta de marcadores robustos e confiáveis para avaliar a eficácia dos novos produtos desenvolvidos. Dessa forma, utilizamos um modelo experimental murino para avaliar, por meio de uma abordagem de biologia de sistemas, o tratamento da tuberculose através da associação de isoniazida e rifampicina ao biofármaco DNAhsp65. Nossos objetivos foram avaliar a eficácia da terapia, caracterizar a expressão gênica induzida por ela no hospedeiro e buscar uma bioassinatura de expressão gênica que refletisse o sucesso terapêutico. A associação terapêutica foi capaz de reduzir o número de unidades formadoras de colônia abaixo do limite de detecção da técnica e a alterar, de modo exclusivo, a expressão de 867 genes em relação aos animais dos grupos controles. A análise funcional desses conjuntos de genes revelou que a associação terapêutica foi capaz de regular a resposta imunológica, induzindo um perfil de resposta imunológica Th1, reverter a indução de citocinas do padrão Th2 e melhorar a qualidade do reparo do tecido pulmonar. Experimentos adicionais confirmaram estas predições, mostrando que a associação terapêutica foi capaz de reduzir a produção de mediadores pró-inflamatórios, induzir a produção de IFN- γ em detrimento da produção de IL-4, reduzir o infiltrado celular inflamatório, incluindo linfócitos T CD4+ e TCD8+, macrófagos, células dendríticas e reduzir a deposição de fibras colágenas no pulmão e a produção da citocina TGF- β , relacionada ao processo da fibrose. Numa segunda etapa, empregamos análises estatísticas supervisionadas e obtivemos um conjunto de 13 genes com poder classificatório capaz de distinguir os grupos experimentais. Uma vez que nossa terapia foi eficiente, esse conjunto de genes, após validação em um conjunto de amostras independentes, poderia ser utilizado como uma bioassinatura da terapia da tuberculose. Em conjunto, a partir da análise funcional de dados expressão gênica em larga escala integrada a

ensaios imunológicos e histopatológicos, nosso estudo mostra de modo inédito os efeitos sinérgicos da associação terapêutica entre o biofármaco DNAhsp65 e as drogas isoniazida e rifampicina. O sucesso dessa metodologia permitiu que, através do desenvolvimento de uma ferramenta bioinformática, definíssemos um pequeno conjunto de genes que possui potencial para ser utilizado como uma bioassinatura do tratamento da tuberculose. Assim, além de demonstrar a potencialidade do uso do biofármaco DNAhsp65 no tratamento da tuberculose, com esse trabalho nosso grupo estabeleceu um modelo de estudo que pode ser empregado para a investigação de novas alternativas para a prevenção e tratamento de doenças.

ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA POR *MICROARRAYS* DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS DE CAMUNDONGOS COM DIABETES AUTOIMUNE

Ana Elisa Teófilo Saturi de Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Kelen Cristina Ribeiro Malmegrim de Farias

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/11/2011

O *Diabetes mellitus* do tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune (DAI) mediada por células T e caracterizada pela destruição seletiva de células β pancreáticas produtoras de insulina. A linhagem de camundongos NOD (*Non-Obese Diabetic mice*) tem sido usada para estudar a patogênese do diabetes autoimune experimental, que se assemelha clinicamente ao DM1 em humanos. As células estromais mesenquimais (MSCs) têm sido apontadas como uma importante fonte para a terapia celular de DAIs em virtude do seu fácil isolamento, expansão *in vitro* e propriedades imunossupressora, imunorreguladora e regenerativa. As MSCs apresentam capacidade de regular a função de várias populações celulares do sistema imune. Trabalhos recentes demonstraram que as MSCs localizam-se sistemicamente na parede de todos os vasos sanguíneos do organismo. Portanto, com base nessas evidências, tem sido sugerido que essas células tenham um importante papel fisiológico na regulação de respostas imunes e, conseqüentemente, na manutenção da tolerância imunológica periférica. Desta forma, nossa hipótese é que alterações na expressão gênica das MSCs de camundongos NOD poderiam contribuir para a patogênese do DM1. Assim, o objetivo desse presente projeto foi avaliar o perfil de expressão gênica em larga escala de MSCs de camundongos NOD diabéticos e controles. Para isso, MSCs de camundongos NOD diabéticos e camundongos controles (BALB/c, C57BL/6 e NOD não diabéticos) foram isoladas por separação imunomagnética (seleção negativa usando anticorpos anti-CD45, anti-CD11b, anti-CD146 e anti-Ter119) de células da cultura primária de medula óssea. O RNA foi extraído pela metodologia do *Trizol*, purificado e utilizado para a análise da expressão gênica por *microarrays* de oligonucleotídeos da plataforma *Agilent Technologies*. As análises de bioinformática da expressão gênica foram realizadas utilizando os *softwares Bioconductor R* e *Ingenuity Pathway Analysis*. Análises de agrupamento gênico hierárquico demonstraram que existem diferenças significativas entre os perfis de expressão gênica global das MSCs de camundongos NOD diabéticos e dos camundongos controles. Foram encontrados vários genes diferencialmente expressos nas MSCs dos camundongos NOD diabéticos em relação às MSCs e dos camundongos controles, dentre eles muitos são relacionados com resposta imunológica e inflamatória, doenças imunológicas e inflamatórias, doenças endócrinas, doenças metabólicas e desenvolvimento/função do sistema endócrino. Com base nesses resultados, podemos sugerir que as alterações encontradas na expressão desses genes possam interferir no desencadeamento, desenvolvimento e/ou patogênese do diabetes autoimune experimental.

CARACTERIZAÇÃO DE CÉLULAS T *gamma-delta* E *natural killer* NA IMUNOTERAPIA DA TUBERCULOSE EXPERIMENTAL COM A VACINA GÊNICA DNAHSP65

Luana Silva Soares

Orientador: Prof. Dr. Celio Lopes Silva

Dissertação de Mestrado apresentada em 12/12/2011

Em 1993, a Organização Mundial da Saúde declarou a tuberculose (TB) como uma emergência global devido à sua relevância epidemiológica e a necessidade de seu controle. Atualmente, a TB ainda é considerada um problema de saúde pública e requer o desenvolvimento de vacinas e terapias que sejam mais eficazes na sua prevenção e tratamento. Nesse sentido, o Laboratório de Vacinas Gênicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto estuda há mais de dez anos a eficácia da vacina gênica DNAhsp65 na profilaxia e terapia da TB. Com o intuito de complementar o conhecimento

existente sobre os mecanismos imunes desencadeados pela vacina DNAhsp65, assim como sua associação às drogas convencionais utilizadas no tratamento da TB, objetivou-se neste trabalho a caracterização de células *natural killer* (NK), T *natural killer* (NKT), e T $\gamma\delta$ na imunoterapia da tuberculose experimental com a vacina DNAhsp65, no tratamento com as drogas rifampicina (RIF) e isoniazida (INH), e na associação DNAhsp65-drogas. Inicialmente, camundongos BALB/c foram infectados com *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) cepa H37Rv no dia 0 e nos dias 1, 7, 15, 30 e 70 após a infecção, foi promovida a eutanásia dos animais infectados ou não (controle) para análise das células T não convencionais no pulmão por citometria de fluxo. No dia 30 após a infecção, os animais infectados receberam os diferentes tratamentos: vacina DNAhsp65, vetor pVAX1, drogas RIF e INH, ou as drogas em associação à vacina. Dez dias após o fim dos tratamentos, foi promovida a eutanásia dos animais para análise das populações celulares no pulmão e linfonodo por citometria de fluxo, imunohistoquímica e PCR em tempo real. Os animais somente infectados com Mtb apresentaram aumento significativo no número das células NK (CD3⁻CD49b⁺), NKT (CD3⁺CD49b⁺) e T $\gamma\delta$ (CD3⁺ $\gamma\delta$ ⁺) logo na primeira semana após a infecção, e esta diferença em relação aos animais controle permaneceu em até 70 dias após a infecção. Entre as células NK presentes no pulmão, observou-se predominância da subpopulação CD11b^{high}CD27^{low} em todos os animais. Nos animais infectados, verificou-se aumento significativo das subpopulações de NK: CD11b^{high}CD27^{high} e CD11^{low}CD27^{high}, nos dias 7 e 15 e somente no dia 15 após a infecção, respectivamente. Entre a população de células T $\gamma\delta$ presentes no pulmão, houve predomínio do fenótipo CD27⁻ em animais controles e infectados nos diferentes tempos experimentais. Quanto aos animais infectados com Mtb e tratados com DNAhsp65, verificou-se aumento significativo de células T $\gamma\delta$ produtoras de IFN- γ e IL-17 no pulmão, e apesar de não ter sido observada diferença na frequência de células NK e NKT neste grupo, as células NK apresentavam maior expressão da molécula FasL relacionada à morte celular induzida por apoptose. Nos grupos drogas e DNAhsp65-drogas observou-se aumento da frequência de células T $\gamma\delta$ no pulmão, assim como aumento de células NK produtoras de IL-10 e que expressavam o marcador de ativação CD69. Os resultados deste trabalho mostram mais uma vez a eficácia da vacina DNAhsp65 e da associação DNAhsp65-drogas no tratamento de animais infectados com Mtb e sugerem que células T não convencionais como as células NK, NKT e T $\gamma\delta$ podem participar na modulação da resposta imune na TB. Estes achados devem ser levados em consideração no desenho de novas estratégias terapêuticas e também profiláticas para a TB.

USO DE CÉLULAS DENDRÍTICAS TRANSFECTADAS COM RNA TOTAL DE *Paracoccidioides brasiliensis* NA TERAPIA E PROFILAXIA CONTRA PARACOCCIDIOIDOMICOSE EXPERIMENTAL

Renata Ariza Marques Rossetti

Orientadora: Prof. Dra. Arlete Aparecida Coelho-Castelo

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/12/2011

A paracoccidioomicose (PCM) é uma doença infecciosa crônica, causada pelo fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis* e que afeta principalmente os pulmões. Essa micose sistêmica é autóctone da América Latina, onde o Brasil se destaca com o maior número de casos. Atualmente não há imunoprofilaxia nem imunoterapia para a PCM, estratégias que poderiam ser eficazes na redução do tempo de tratamento da PCM e diminuição dos casos de recidivas. Diante desse quadro, este trabalho teve como objetivo avaliar uma nova estratégia terapêutica e profilática contra PCM, no modelo experimental murino, utilizando células dendríticas diferenciadas de células da medula óssea e transfectadas, por eletroporação ou por contato, com o RNA total de *P. brasiliensis*. Quando camundongos BALB/c infectados por 30 dias com oram injetados endovenosamente com células dendríticas transfectadas, não observamos diminuição da carga fúngica. Esses resultados levaram-nos a verificar a imunogenicidade desses tratamentos, através da quantificação de expressão de citocinas e fatores de transcrição. Quando comparamos os animais injetados com células dendríticas transfectadas com aqueles que receberam células dendríticas controles da transfecção (sem RNA do fungo), observamos uma diminuição do número de células T regulatórias em camundongos injetados com células transfectadas por contato, enquanto houve aumento de IL-10 e do fator de transcrição GATA-3, ambos relacionados ao padrão Th2, em animais injetados com células transfectadas por eletroporação. Na profilaxia, nenhum dos grupos injetados com preparações de células dendríticas transfectadas foram capazes de levar a uma diminuição da carga fúngica no pulmão dos animais quando comparado ao grupo injetado com salina. Entretanto, quando a profilaxia foi realizada com células dendríticas controle, observa-se uma tendência de aumento de UFC no pulmão dos animais. Embora os animais injetados com células transfectadas não apresentem uma diminuição da carga fúngica no pulmão, a área de lesão dos animais que foram imunizados com células dendríticas transfectadas por contato foi significativamente menor, sugerindo um papel dessas células dendríticas no controle da inflamação observada na PCM experimental.

POLIMORFISMO INSERÇÃO/DELEÇÃO DE 14 PARES DE BASES DA REGIÃO 3' NÃO TRADUZIDA DO GENE HLA-G E EXPRESSÃO DA RESPECTIVA MOLÉCULA EM TECIDOS AFETADOS DE PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS

Pedro Brandão dos Santos Pedrosa

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Antônio Donadi

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/12/2011

A patogenia da tripanossomíase americana está fundamentalmente ligada à desregulação imunológica. No entanto, existem poucos resultados publicados, por vezes contraditórios, acerca dos mecanismos de regulação da resposta imunológica na doença. Ainda, faltam estudos acerca da genética dos componentes regulatórios do sistema imunológico. Considerando que a molécula HLA-G tenha papel imunoregulatório e, que não há estudos publicados sobre a atuação dessa molécula na doença de Chagas, foi avaliada a expressão tecidual de HLA-G em tecidos tipicamente acometidos na doença, incluindo coração, esôfago e cólon, e ainda, foram analisadas as relações de associação com o desenvolvimento da doença de um sítio polimórfico observado na região 3' não traduzida do gene HLA-G, associado com o controle de expressão de transcritos de HLA-G. Foi realizada a análise da associação entre os genótipos para o polimorfismo de inserção/deleção de 14pb do gene HLA-G e a ocorrência das diversas formas clínicas da tripanossomíase americana, sendo, entretanto, encontradas limitadas diferenças de distribuição entre os grupos analisados. As associações específicas entre genótipos e formas clínicas foram limitadas (associação do genótipo DI à forma mista com risco relativo de 3, proteção do genótipo DI contra a forma digestiva, com RR de 0,6, associação de DD com risco relativo de 1,7 para o desenvolvimento da forma cardíaca em detrimento da forma indeterminada, e associação do genótipo DD com o desenvolvimento da forma digestiva em detrimento da indeterminada de 1,808). A comparação da expressão de HLA-G em tecidos de pacientes chagásicos e tecidos de pacientes sem a infecção mostrou expressões quantitativamente similares dessa molécula nesses grupos, como nos subgrupos por forma clínica. Qualitativamente, há a diferença de perda de expressão de HLA-G, de maneira focal ou até global, em cardiomiócitos de amostras representativas de miocardite chagásica. Nesses processos inflamatórios, houve marcação para a molécula HLA-G também em plasmócitos e em outras células mononucleares. No cólon é encontrada marcação neuronal em amostra de paciente chagásico. No esôfago, a marcação de HLA-G é semelhante àquela observada em tecidos de indivíduos sem doença de Chagas. Os dados sobre expressão de HLA-G em cardiomiócitos de forma geral e neurônios em paciente chagásicos são inéditos e têm consequências para o paradigma de análise da tripanossomíase americana.

Neurologia

REABILITAÇÃO NEUROPSICOLÓGICA EM PACIENTES COM EPILEPSIA SUBMETIDOS À LOBECTOMIA TEMPORAL MESIAL DOMINANTE: ASPECTOS DA COGNIÇÃO E NEUROIMAGEM

Camila de Vasconcelos Leite Geraldi

Orientador: Prof. Dr. Américo Ceiki Sakamoto

Dissertação de Mestrado apresentada em 13/10/2011

A Lobectomia Temporal Anterior e Mesial Dominante é uma alternativa terapêutica para aqueles pacientes com epilepsia que não se beneficiaram do tratamento medicamentoso. Do ponto de vista neuropsicológico, estes pacientes podem apresentar prejuízos no processamento de memória declarativa, sejam elas de caráter verbal e/ou não-verbal, além de outras esferas da cognição, como funções executivas. Normalmente, associam-se às queixas de memória, dificuldade de adaptação psicossocial e, conseqüentemente, piora na qualidade de vida. A reabilitação neuropsicológica tem demonstrado efeitos positivos como forma de tratamento para pacientes com lesões cerebrais de etiologias diversas. O presente estudo investigou os efeitos da reabilitação neuropsicológica no desempenho cognitivo e em áreas cerebrais por ela induzidas em 18 pacientes submetidos à Lobectomia Temporal Antero-mesial dominante. Os pacientes foram avaliados quanto a autopercepção de suas dificuldades de memória; a intensidade e frequência com que usam estratégias no cotidiano para minimizar as dificuldades de memória; a nomeação por confronto visual e a aprendizagem verbal e foram

submetidos à Ressonância Magnética Funcional (RMf). 9 destes pacientes (Grupo R) foram submetidos a 8 sessões semanais de reabilitação neuropsicológica, quando foi novamente realizado toda a investigação anterior e outro exame de RMf; após três meses do final da reabilitação, este grupo foi novamente submetido à RMf. No caso do grupo C (grupo como restante dos pacientes), foi esperado apenas o intervalo de dois meses, quando foi repetida a RMf e a investigação através dos testes e questionários. Os resultados obtidas nos questionários e nos testes neuropsicológicos padronizados e os resultados das RMf s permitiram as seguintes comparações: comparação destas medidas dentro de cada grupo, no início da intervenção e após o período de dois meses (no grupo C) ou de três meses (no Grupo R). No Grupo R, foi ainda realizada a comparação dos 3 exames de RMf: inicial (I), pós 1 mês de reabilitação (P1) e pós 3 meses de reabilitação (P2). E, por último, também foi realizada a comparação entre os grupos. Concluiu-se com estes dados que a reabilitação neuropsicológica produz efeito significativo na percepção do indivíduo em relação ao seu desempenho nas atividades da vida diária que necessitam de memória; modifica a forma e intensidade do uso de estratégias compensatórias para a memória; promove melhoria no desempenho do indivíduo em suas atividades cotidianas; pode incentivar a ativação de áreas cerebrais eloquentes para a linguagem e motivação e pode incentivar o uso de áreas cerebrais contra-laterais para o processamento cognitivo.

REPRESENTAÇÃO CORTICAL DA RECEPÇÃO E ELABORAÇÃO DA LÍNGUA BRASILEIRA DE SINAIS POR MEIO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL

Michele Nave Valadão

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos dos Santos
Tese de Doutorado apresentada em 13/10/2011

As línguas de sinais são línguas naturais que compartilham as propriedades das línguas orais. Vários estudos demonstram ativação cortical em áreas clássicas da linguagem no hemisfério esquerdo no processamento das línguas de sinais. Mais recentemente, o processamento da língua de sinais tem sido descrito também em áreas homólogas no hemisfério direito.

Este estudo buscou analisar as áreas corticais ativadas em surdos sinalizadores, ouvintes não sinalizadores e surdos sinalizadores e oralizados por meio de tarefas que envolveram tanto a recepção quanto a elaboração da linguagem por meio de língua de sinais. Foram realizados quarenta e oito (48) exames de fMRI utilizando aparelho de 1.5T (Siemens, Magnéton Vision, Erlangen, Germany), instalado no HCRP-USP. Foi utilizada sequência EPI para aquisição BOLD e imagem de alta resolução de todo encéfalo para coregistro.

Os mapas estatísticos foram obtidos com o método GLM (Modelo Linear Geral), utilizando o programa Brain Voyager™. Encontramos ativações em áreas do córtex frontal inferior do hemisfério cerebral direito e regiões do córtex temporal e parietal inferior bilateralmente em sujeitos surdos sinalizadores quando comparados aos ouvintes para tarefa envolvendo recepção em língua de sinais. Quando analisamos áreas seletivas aos ouvintes para esta tarefa, observamos ativação no córtex frontolateral esquerdo. Para tarefas envolvendo elaboração em sinais, os surdos sinalizadores apresentaram ativações no hemisfério cerebral esquerdo para regiões do giro pré-central, giro supramarginal e lóbulo parietal inferior, enquanto para o giro temporal médio e superior, giro frontal inferior e giro do cíngulo foram bilaterais. Para esta tarefa os ouvintes não tiveram ativações significativas. Para os surdos sinalizadores e oralizados, a tarefa de Elaboração oral eliciou discretas ativações enquanto a tarefa de Elaboração em sinais gerou ativações envolvendo regiões frontais, temporais, parietais, pré-centrais e occipitais. Estes achados sugerem que as línguas de sinais são processadas bilateralmente em regiões cerebrais homólogas as engajadas nos campos receptivos e expressivos das línguas orais.

AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO COGNITIVO DE PACIENTES COM NEUROCISTICERCOSE

Carolina Trebi Penatti

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui
Dissertação de Mestrado apresentada em 24/10/2011

Introdução: Neurocisticercose (NCC) é a doença parasitária do sistema nervoso central (SNC) mais frequente no mundo, afetando mais de 50 milhões de pessoas. No entanto, alguns de seus achados clínicos, tais como comprometimento cognitivo, é um aspecto pouco estudado na literatura e ainda permanece mal caracterizado.

Objetivos: Avaliar o desempenho cognitivo de pacientes portadores de NCC e comparar o desempenho deste grupo em testes de avaliação cognitiva com o desempenho de indivíduos saudáveis (GC) e de indivíduos com epilepsia criptogênica (GE). O estudo objetivou também relacionar os achados com o tipo morfológico, número, localização dos cisticercos e fase de desenvolvimento do parasita. Métodos: 32 pacientes (média de idade = $45,2 \pm 10,2$ anos) com diagnóstico de NCC, com ou sem tratamento específico e em ambas as fases de desenvolvimento do parasita (formas ativa e inativa) foram submetidos a uma avaliação cognitiva, constituída de dez testes (memória, habilidades visuoespaciais, cálculo, abstração, praxias e gnosis e o Mini Exame do Estado Mental - MEEM), sendo comparados a 32 GC e 24 GE emparelhados por idade, gênero e nível educacional.

Resultados: Pacientes com NCC apresentam prejuízo cognitivo, em comparação aos controles saudáveis em tarefas de memória visual, memória lógica imediata e recente. Pacientes com NCC e aqueles do GC apresentaram um desempenho cognitivo superior, em comparação ao GE; nos testes que envolveram a atenção e a memória operacional e na praxia reflexiva. Não houve diferença estatisticamente significativa no desempenho cognitivo nos três grupos estudados nos testes cognitivos que avaliaram a praxia construcional e ideomotora, cálculo e capacidade de abstração e julgamento. Não foi encontrada correlação entre alterações nos testes cognitivos dos pacientes com NCC e número de lesões e a fase de desenvolvimento do parasita. Em relação ao tipo morfológico, foi observado que os indivíduos que apresentavam a forma racemosa obtiveram um desempenho inferior no teste do Mini Exame do estado mental (MEEM), quando comparados aos que apresentavam a forma cística simples. Em relação à localização dos cisticercos, pode-se notar que os indivíduos com lesões de localização parenquimatosa demonstraram escores inferiores no teste de Faces Famosas e no teste de memória lógica recente, quando comparados àqueles com lesões ventriculares e no espaço subaracnóide.

Conclusões: O declínio cognitivo foi uma manifestação clínica muito frequente em nossa amostra de pacientes com NCC. Estes dados podem fornecer um conhecimento mais abrangente das manifestações clínicas presentes na NCC.

PREVALÊNCIA DE CEFALÉIA RELACIONADA COM ALGUNS HÁBITOS DE VIDA EM ESCOLARES DO ENSINO FUNDAMENTAL E MÉDIO DE RIBEIRÃO PRETO

Luiz Eduardo Vieira Grassi

Orientador: Prof. Dr. Jose Geraldo Speciali

Dissertação de Mestrado apresentada em 24/10/2011

As cefaleias acometem grande parte da população mundial. Este sintoma afeta a qualidade de vida e a produtividade de quem as têm. Crianças e adolescentes com cefaleia também são alvos destas perdas.

Objetivos: Estimar a prevalência de cefaleia em uma amostra representativa de alunos dos ensinos fundamental e médio da rede pública. Verificar a relação entre: 1) cefaleias e variáveis físicas (gênero, cor da pele referida, índice massa corporal -IMC e doenças crônicas referidas); 2) cefaleias e alguns hábitos de vida (ingestão de álcool, prática de exercícios físicos regulares, horas diárias de sono noturno, horas semanais gastas em TV, internet e videogame, 3) cefaleia e uso de aparelhos, como os ortodônticos e óculos, e 4) cefaleia e rendimento escolar avaliado por meio das notas referidas.

Métodos: Após sorteio de uma escola da rede estadual de ensino de cada região da cidade de Ribeirão Preto (norte, sul, leste, oeste e centro), foram sorteadas as salas de aula, uma de cada ano/série dos cursos fundamental II e médio. Foi aplicado um questionário em 415 alunos com idade mediana de 15 anos, que concordaram em participar do estudo e cujos pais ou responsáveis assinaram o Termo de Livre Consentimento e Esclarecimento. Foram utilizados os testes para análises estatísticas: 1) Teste exato de Fischer através do comando

PROC FREQ do Software SAS® 9; 2) Anova através do comando PROC GLM do Software SAS® 9; 3) Regressão logística para cálculo do ODDS RATIO, através do comando PROC LOGIST do Software SAS® 9. Para todos foram admitidos 95% de intervalo de confiança (95% CI).

Resultados e Conclusões: a prevalência de cefaleias nessa população é de 72,8%, sendo que nas meninas é de 79% e nos meninos 62,5%. Observamos correlação positiva entre: 1) gênero e cefaleia, meninas tem um risco estimado 2,3 vezes maior que os meninos; 2) ingestão de álcool e cefaleia, visto que os que ingerem bebidas alcoólicas têm probabilidade 2,1 vezes maior de terem cefaleia; e 3) uso de aparelho ortodôntico e cefaleia ($p < 0,02$). Não houve correlação significativa entre cefaleia e as demais variáveis selecionadas por este estudo (cor da pele referida, doença crônica referida, IMC, uso de óculos, prática de exercícios físicos regulares, horas de sono, horas semanais gastas em TV, internet e videogame e notas escolares).

DISTÚRBIOS DA FUNÇÃO RESPIRATÓRIA EM PACIENTES ORTADORES DA DUPLICAÇÃO PMP22 - DOENÇA DE CHARCOT-MARIE-TOOTH TIPO 1A

Monica de Carvalho Alcântara

Orientador: Prof. Dr. Wilson Marques Junior

Dissertação de Mestrado apresentada em 24/10/2011

A doença de Charcot-Marie-Tooth tipo 1A (CMT1A) é uma afecção de caráter autossômico-dominante, caracterizada por um acometimento primário do sistema nervoso periférico, cujas manifestações principais são alterações sensitivomotoras e deformidades articulares. Trata-se de uma neuropatia desmielinizante, simétrica, que frequentemente vem acompanhada de perda axonal. Manifestações clínicas excepcionais podem ocorrer, prejudicando a qualidade de vida dos pacientes e limitando suas atividades de vida diária. Disfunção respiratória já foi relatada em alguns casos, podendo resultar em sintomas durante o sono ou vigília.

No presente estudo, dezesseis pacientes provenientes de oito famílias, com o diagnóstico genético da duplicação PMP22 (CMT1A), foram submetidos a avaliação neurológica, neurofisiológica, testes de função pulmonar e musculatura respiratória, ultrassonografia e polissonografia. Dez indivíduos eram do sexo feminino (62%) e seis do sexo masculino (38%). A maior parte dos pacientes deambulava sem apoio (73%), três foram submetidos a cirurgias ortopédicas (20%) e um estava restrito à cadeira de rodas. As medidas de pressão respiratória estavam alteradas na maioria dos pacientes (pressões inspiratórias reduzidas em cinco e pressões expiratórias reduzidas em doze), entretanto, apenas um deles apresentou disfunção respiratória restritiva na espirometria. Quatorze pacientes (87%) apresentaram disfunção respiratória durante o sono, caracterizada na maior parte das vezes como apnéias obstrutivas. Houve correlação significativa entre o grau de comprometimento neurológico e o índice de apnéia/hipopnéia (IAH) registrado na polissonografia, assim como com as medidas de pressão respiratória. As medidas de pressão respiratória também apresentaram correlação negativa significativa com o IAH. O potencial de ação muscular composto (PAMC) do nervo frênico encontrava-se reduzido em 14 pacientes e não foi detectado nos demais. Registrou-se espessamento dos nervos frênicos e das raízes cervicais pela ultrassonografia em todos os pacientes.

FREQUÊNCIA MUTACIONAL DO GENE GJB1 (CX32) NA POPULAÇÃO BRASILEIRA DA DOENÇA DE CHARCOT-MARIE-TOOTH

Fulviana Silva Nishiyama

Orientador: Prof. Dr. Wilson Marques Junior

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/10/2011

A doença de Charcot-Marie-Tooth (CMT) é uma desordem hereditária do sistema nervoso periférico, caracterizada por fraqueza dos membros inferiores, atrofia muscular e perda sensitiva, sendo que as principais alterações clínicas são fraqueza e atrofia progressiva de músculos distais, iniciando nas extremidades inferiores e estendendo até as superiores, com deformidades nos pés (pé cavo), caracterizando marcha com passo arrastado e sucessivas quedas, perda sensitiva distal, diminuição ou ausência dos reflexos tendinosos, além de diminuição da força e destreza das extremidades superiores. CMTX é uma doença autossômica dominante ligada ao cromossomo X a qual corresponde aproximadamente 10% das famílias com CMT, sendo a segunda causa mais frequente da doença, após a duplicação 17p11.2-p12. Neste estudo analisamos 66 pacientes com CMT, negativos para duplicação 17p, em que foram identificadas seis mutações, embora três destas não foram descritas. Desta maneira confirmou uma frequência de mutações em torno de 9% no gene da Cx32. Portanto, nesta pesquisa do gene da Cx32 com CMT demonstrou que a população brasileira teve um comportamento mutacional semelhante ao das demais populações estudadas.

EVIDÊNCIAS NEUROFARMACOLÓGICAS DA INTERAÇÃO ENTRE VIAS OPIOIDES E GABAÉRGICAS NA DIVISÃO LATERAL DA SUBSTÂNCIA NEGRA SOBRE A ELABORAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE DEFESA ORGANIZADO PELO COLÍCULO INFERIOR

Ricardo de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra

Tese de Doutorado apresentada em 17/11/2011

A interação entre vias neurais mediadas por polipeptídeos opioides endógenos e as projeções GABAérgicas têm sido proposta como uma das possibilidades de modulação do comportamento que tem sido relacionado ao medo inato e

ao pânico. O objetivo deste trabalho foi investigar os aspectos psicofarmacológicos do sistema inibitório opioide da substância negra, parte lateral (SNpl), e das conexões inibitórias GABAérgicas nigro-tectais, as quais se estendem ao colículo inferior, determinando a influência de dessa via sobre a modulação de respostas defensivas eliciadas por estimulação elétrica e química do teto mesencefálico dorsal, situado mais caudalmente.

Os efeitos da influência opioide na atividade de vias GABAérgicas de projeção nigro-tectal foram estudados através de microinjeções de um agonista opioide clássico, a morfina, e do antagonista não seletivo de receptores opioides, o naloxone, do antagonista seletivo de receptores opioides $\mu 1$, a naloxonazina, e do antagonista seletivo de receptores opioides κ , a norbinaltorfimina, na SNpl, sendo registradas, após as microinjeções das drogas, as respostas comportamentais eliciadas por estimulação elétrica e química do colículo inferior. A ativação de vias opioidérgicas na SNpl com morfina causou efeito pró-aversivo, e sua inativação, com naloxone e norbinaltorfimina, causou efeitos antiaversivos no que se refere aos limiares de congelamento e de fuga induzidos por estimulação elétrica do colículo inferior; a naloxonazina não apresentou efeito estatisticamente significativo. Após a microinjeção do antagonista de receptores GABAérgicos, a bicuculina, no CI, a microinjeção de morfina na SNpl causou efeito pró-aversivo, tendo havido aumento na frequência e no tempo de alerta defensivo, na frequência e no tempo de imobilidade defensiva, na frequência do comportamento de fuga, expresso por meio de corrida e, conseqüentemente, no número de cruzamentos. No entanto, o tratamento da SNpl com naloxona causou diminuição na frequência e tempo de mobilidade defensiva, na frequência de comportamento de fuga expresso por meio de corridas, na frequência de alerta defensivo e de comportamento de fuga expresso por meio de saltos, e a norbinaltorfimina causou uma diminuição na frequência e no tempo de alerta defensivo, na frequência e no tempo de imobilidade defensiva e de corrida, e na frequência de saltos e de cruzamentos. Já o pré-tratamento da SNpl com naloxonazina causou uma diminuição significativa somente no tempo de imobilidade defensiva.

Sendo assim, os presentes achados sugerem que o sistema inibitório opioide na substância negra, parte lateral (SNpl), está influenciando, principalmente através dos receptores opioides do tipo κ , as conexões inibitórias GABAérgicas nigro-tectais, as quais se estendem ao colículo inferior, modulando as respostas defensivas comumente relacionadas ao medo inato, eliciadas por estimulação elétrica e química do mesencéfalo dorsal.

IMAGEM EM RESSONÂNCIA MAGNÉTICA: SEGUIMENTO PROGRESSIVO "in vivo" DAS MUDANÇAS HIPOCAMPAIS EM UM MODELO DE EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL

Graziela Lima Bachiega

Orientador: Prof. Dr. João Pereira Leite

Tese de Doutorado apresentada em 21/11/2011

Introdução: Vários modelos animais de epilepsia límbica crônica foram desenvolvidos em roedores, contudo nenhum reproduz todas as características da epilepsia do lobo temporal mesial (ELTM) humana, principalmente a esclerose hipocampal (EH), que se apresenta na maioria dos casos de forma unilateral. Os objetivos deste estudo foram: 1) Desenvolver um modelo animal de ELTM que consiga reproduzir a EH com predomínio unilateral; 2) Caracterizar os danos estruturais deste modelo utilizando técnicas histológicas e de ressonância magnética (RM) (tempo de relaxação T2, coeficiente de difusão aparente (CDA), volumetria hipocampal, e transferência de magnetização (TM)) em bobina de alta frequência dedicada à máquina de 3T; 3) Correlacionar alterações de imagens de RM com dados histológicos.

Metodologia: Com o objetivo de inibir a ativação epiléptica de um dos hipocampus durante o status epilepticus (SE), foram aplicadas duas injeções de muscimol com intervalo de 10 min. Logo após a aplicação da segunda dose de muscimol, foi aplicada Pilocarpina (Pilo) no hipocampo ipsilateral para indução do SE (grupo Musc-Pilo). Adicionalmente, o grupo Sa-Pilo foi injetado com salina no lugar do muscimol. O grupo Musc recebeu injeções de salina no lugar da injeção de Pilo. O grupo controle recebeu injeções de salina no lugar da Pilo e do muscimol. T2 relaxation time, CDA, volume hipocampal e imagens de TM foram adquiridos 2, 9, 30 e 60 dias após o SE. Danos histológicos foram avaliados com Fluoro Jade C, Neu-n e neo-Timm em animais sacrificados 2, 9, 30 e 60 dias após o SE.

Resultados: Observamos redução do volume hipocampal com o tempo em ambos os hipocampus dos grupos submetidos ao SE, que se correlacionou com dano neuronal. No hipocampo que recebeu muscimol a atrofia iniciou mais tarde (9 dias) que no hipocampo que recebeu salina (2 dias), sugerindo que o muscimol adiou a atrofia no hipocampo que foi injetado. Na fase aguda (2 dias) encontramos um aumento do T2, e redução no CDA e TM, refletindo edema e no caso do T2 este aumento correlacionou-se com degeneração neuronal. Observamos aumento no T2 aos 30 dias e no CDA a partir de 9 dias, refletindo provavelmente gliose no caso do T2, uma vez que não houve correlação com perda e degeneração neuronal. O aumento do CDA na fase crônica correlacionou-se com o dano neuronal e o brotamento das fibras

musgosas (BFM), além de coincidir com o início das crises recorrentes espontâneas (CREs). No grupo Musc-Pilo, os valores de T2 permaneceram semelhantes ao controle até os 30 dias, porém no grupo Sa-Pilo, este aumento do T2 aconteceu aos 2 dias. Esta diferença entre os grupos Sa-Pilo e Musc-Pilo sugerem uma "proteção aguda" do muscimol. O grupo Musc-Pilo apresentou respostas comportamentais semelhantes ao grupo Sa-Pilo. Não encontramos diferença em relação ao dano neuronal e BFM entre os hipocampus do grupo Musc-Pilo.

Conclusão: Nossos resultados sugerem que a aplicação de Pilocarpina intrahipocampal reproduz várias lesões teciduais encontradas na ELTM, que puderam ser acompanhadas por alterações *in vivo* (redução volumétrica, alterações T2, CDA e TM) através da RM e por avaliação histológica. No entanto, a aplicação unilateral de muscimol não conferiu uma lesão claramente assimétrica, como inicialmente esperávamos. Os resultados ainda mostraram que vários dos parâmetros de neuroimagem puderam ser correlacionados com os achados histológicos, indicando que a utilização das técnicas de RM associadas à avaliação histológica podem ser ferramenta útil para o melhor entendimento dos mecanismos plásticos subjacentes ao processo de epileptogênese que ocorrem neste modelo animal de ELT.

Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço

ESTUDO CEFALOMÉTRICO DAS ALTERAÇÕES DOS TECIDOS DUROS E MOLES DO LÁBIO SUPERIOR, LÁBIO INFERIOR E MENTO DECORRENTES DAS CIRURGIAS ORTOGNÁTICAS DE RECUO MANDIBULAR E AVANÇO MAXILAR

Hélcio Tadeu Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Francisco Veríssimo de Mello-Filho

Tese de Doutorado apresentada em 07/10/2011

Introdução: Desde o Renascimento, o homem tem buscado técnicas mais elaboradas de medida do corpo e da face. Albrecht Durer (1417-1518) e Leonardo da Vinci (1452-1519) desenharam rostos humanos nos quais traçaram linhas retas entre diferentes pontos, unindo estruturas anatômicas homólogas e dividindo a cabeça com linhas verticais e horizontais na tentativa de encontrarem medidas e proporções da criação divina. Em 1922, as imagens radiográficas foram normalizadas e o termo cefalometria passou a ser utilizado para avaliar, mensurar e planejar as mudanças dos tecidos alterados. As análises cefalométricas possibilitam o dimensionamento dos problemas dos tecidos duros e moles, revelam a natureza de eventual discrepância esquelética, bem como estabelecem e quantificam o defeito. Apesar de a cefalometria proporcionar adequada avaliação dos tecidos moles, não há concordância quanto à sua capacidade de estabelecer as reais modificações decorrentes das mudanças dos tecidos duros. Assim, a metodologia utilizada para avaliar o perfil varia largamente entre os estudos, e não há consenso sobre como as linhas retas são construídas na análise do contorno dos tecidos moles. Apesar dos vários métodos idealizados para planejar, aferir e prever as modificações dos tecidos moles quando são alterados os tecidos duros, nenhum mostrou confiabilidade. Considerando que não há consenso sobre o quanto os tecidos moles são modificados quando movimentam-se os tecidos duros, vários trabalhos tentam esclarecer e padronizar medidas predictivas.

Objetivos: O objetivo do presente estudo é mensurar, utilizando uma nova metodologia cefalométrica, as alterações dos tecidos moles decorrentes das modificações dos tecidos duros na cirurgia ortognática de avanço maxilar e retrusão mandibular. Casuística e Métodos: Foram estudados 83 pacientes caucasianos, (20 do grupo controle), de ambos os sexos, com idade entre 18 e 50 anos, portadores de deformidades dentoalveolofaciais, atendidos no Ambulatório do Centro Integrado de Estudo das Deformidades da Face (CIEDEF) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), sendo que 35 desses pacientes foram submetidos à cirurgia ortognática de avanço maxilar e 28 de recuo mandibular. As cirurgias foram realizadas utilizando-se a técnica vertical/oblíqua do ramo (Recuo Mandibular) e Le Fort I (Avanço Maxilar).

Resultados: No presente estudo observou-se que a proporção de avanço dos tecidos moles no avanço ósseo da maxila variou de 70 a 86% e no recuo mandibular de 64 a 100%. Por outro lado, quando recuou-se a mandíbula, verificou-se que os tecidos moles da maxila praticamente não sofreram modificações, bem como no avanço da maxila, os tecidos moles da mandíbula não se alteraram. As modificações verticais dos tecidos moles do lábio superior e inferior são insignificantes. Discussão: As alterações dos tecidos moles da região dos lábios, decorrentes de avanço maxilar e recuo mandi-

bular, não apresentam consenso na literatura pesquisada. Achados com variações entre 33% (0,3:1) e 100% (1:1), devido a influências multifatoriais são descritos. As enormes variações podem ser decorrentes de amostra, sexo, idade, raça, técnica cirúrgica, metodologia aplicada, tempo de seguimento, ou mesmo erro. Apesar da variabilidade na mensuração da modificação, todos concordam que as mudanças do lábio superior são menores que as do lábio inferior. Neste estudo, observou-se o mesmo fenômeno, sendo que o avanço horizontal da maxila produziu no lábio superior um ganho médio de apenas 75%. As alterações verticais dos lábios superior e inferior são desprezíveis no avanço da maxila e no recuo mandibular. No recuo mandibular também ocorre variabilidade de achados, entretanto nesta amostra ficou claro que na região próxima do vermelhão, a modificação é idêntica à do movimento ósseo, ou seja, 1:1; e nas regiões mais inferiores do mento, apenas 65% do movimento ósseo. Mas existe variação de respostas de tecido mole da face, em relação ao movimento do tecido ósseo, entre os indivíduos, mesmo quando são empregadas técnicas idênticas para o seu controle.

Conclusão: Com essa nova metodologia aplicada, verificou-se que os tecidos moles do lábio superior acompanham apenas 70 a 80% dos tecidos duros no avanço da maxila no sentido horizontal e é desprezível no sentido vertical. Já no recuo mandibular, os tecidos moles acompanham as modificações dos tecidos duros de maneira mais proporcional, variando entre 64 e 100%.

DESEMPENHO DE CRIANÇAS COM HISTÓRICO DE SUBNUTRIÇÃO EM IDADE PRECOCE EM LINGUAGEM ESCRITA, PROCESSAMENTO FONOLÓGICO E PROCESSAMENTO AUDITIVO

Patrícia Aparecida Zuanetti

Orientadora: Profa. Dra. Marisa Tomoe Hebihara Fukuda
Dissertação de Mestrado apresentada em 20/10/2011

Introdução: A subnutrição quando presente em períodos críticos do crescimento e desenvolvimento encefálico, afeta gravemente a cognição, pois o encéfalo deixa de receber os nutrientes necessários ao seu desenvolvimento. Essas alterações, mesmo com a reabilitação nutricional, são parcialmente irreversíveis. Sabe-se que crianças subnutridas precocemente apresentam dificuldades no desempenho escolar, mas ainda não há estudos a respeito das alterações em habilidades cognitivas necessárias a linguagem escrita.

Objetivo: Investigar diferentes habilidades envolvidas na linguagem escrita em crianças, que foram diagnosticadas com subnutrição antes dos dois primeiros anos de vida. Método: 45 escolares (média de 8,3 anos - 21 meninas e 24 meninos) foram avaliados quanto ao desempenho escolar (TDE), consciência fonológica (CONFIAS), memória fonológica (ITPA e RPSS), limiares audiométricos e processamento auditivo (SSW). Foram formados 3 grupos: G1- crianças com histórico de subnutrição (histórico de subnutrição grave durante os dois primeiros anos de vida), G2a - crianças sem histórico de subnutrição e com dificuldades escolares e G2b - crianças sem histórico de subnutrição e sem dificuldades escolares. Os resultados dos testes em escores de cada grupo foram pareados por idade e instituição de ensino e para inferência estatística, utilizou-se os testes *Kruskal-Wallis*, *Manova* com medidas repetidas, e o de Igualdade de proporções.

Resultados: 80% do G1 apresentaram dificuldades escolares evidenciados pelo TDE com escores inferiores estatisticamente significativos em todas as tarefas, principalmente na escrita. Quanto à memória fonológica, observou-se efeito de grupo (G1, G2a e G2b) com melhor desempenho do G2b em relação aos demais e do G2a em relação ao G1 e efeito de extensão, ou seja, à medida que há aumento de sílabas, os acertos diminuem nos três grupos sendo que o G1 repetiu sequências de apenas duas sílabas, contra três do G2a e quatro do G2b. O G1 apresentou escores significativamente inferiores também na prova de memória de dígitos e de consciência fonológica. Em relação à audição, apesar das crianças do G1 apresentarem audição dentro dos padrões de normalidade, observou-se limiares audiométricos significativamente rebaixados quando comparado aos demais grupos e curva audiométrica em “U” invertido (curva alterada). No processamento auditivo, 100% dos escolares do G1 foram diagnosticados com alterações em importantes habilidades do processamento auditivo, contra 86% no G2a e 40% no G2b. A diferença estatística existiu entre G1/G2b e G2a/G2b. O tipo de alteração do processamento auditivo mais frequente, em todos os grupos, foi o tipo decodificação.

Conclusões: Este estudo sugere que escolares que tiveram subnutrição no período crítico do desenvolvimento cerebral, mesmo após recuperação nutricional, apresentaram alterações cognitivas duradouras e importantes. Essas crianças possuem dificuldades escolares que merecem atenção e, as habilidades cognitivas que são parte da base para a aprendizagem da linguagem escrita (processamento fonológico e auditivo) foram altamente prejudicadas pela subnutrição.

EFEITO DO TREINAMENTO DO CANTO EM LARINGECTOMIZADOS TOTAIS COM PRÓTESE TRAQUEOESOFÁGICA

Fernanda Onofre

Orientadora: Profa. Dra. Lilian Neto Aguiar Ricz
Dissertação de Mestrado apresentada em 21/10/2011

O desenvolvimento efetivo da comunicação do laringectomizado ainda é o maior desafio e a resolução possibilitará a integração do indivíduo na sociedade. O propósito deste estudo foi avaliar o efeito do programa de treinamento do canto na voz traqueoesofágica de laringectomizados totais reabilitados com prótese fonatória. Participaram do estudo cinco laringectomizados totais com prótese traqueoesofágica, sendo dois do gênero feminino e três do gênero masculino, com idade média de 49,8 anos, submetidos à laringectomia total clássica, com fechamento das camadas mucosa, submucosa e muscular para reconstrução da faringe. Para a coleta e registro do material de voz e de fala dos indivíduos foi utilizada uma câmera de vídeo em sala silente, antes e após o treinamento. Para tanto, os indivíduos foram instruídos a efetuar a emissão das vogais "a", "i", "u" e o canto "Parabéns a Você". A avaliação da proficiência de voz e de fala foi realizada por três expertos, utilizando-se como instrumento a escala categórica validada GIRBAS. O parâmetro *pitch* também foi analisado. O treinamento contou com 12 sessões semanais do qual os participantes apreenderam a técnica de respiração e a vocalização das vogais "a", "i", "u" com subida e descida em semitons da escala musical. Para a coleta e o registro do material da voz cantada foi utilizado um teclado Yamaha® PSR E403. A avaliação perceptivo-auditiva antes e após o treino foi realizada por três professores de canto. Os elementos musicais afinação e *legato* da música "Parabéns a Você" foram analisados após o término do programa, porém não treinados. Como resultados, observou-se melhora ou permanência do tipo de voz após o canto no parâmetro geral da escala GIRBAS e, especialmente no parâmetro instabilidade; melhora nos padrões de rugosidade e sopro dos laringectomizados e a astenia manteve-se ausente antes e depois do treino. Em relação à tensão, somente a vogal "i" não mostrou melhora do parâmetro. O *pitch* não modificou na situação pós-treinamento, permanecendo grave. Nos cinco participantes do estudo, a média das vogais /a/, /i/ e /u/ na produção da voz alaríngea cantada da extensão vocal foi de 9,3 semitons, sendo que no gênero masculino foi de 27 semitons, e na amostra do gênero feminino, 17 semitons, correspondentes a duas oitavas e três semitons e uma oitava e cinco semitons, respectivamente. A afinação foi apresentada por todos os participantes e apenas um indivíduo não apresentou *legato* antes e após o canto. Concluiu-se que após o treinamento, o grau geral da disфонia, rugosidade, instabilidade, sopro e tensão melhoraram ou mantiveram-se estáveis para a emissão prolongada das vogais "a", "i" e "u". Não houve modificação do parâmetro do *pitch* no tipo de voz dos laringectomizados totais. Na análise da voz cantada foram classificados como Presente ou Presente Maior a afinação (Af) e o *legato* (L) durante o canto "Parabéns a Você", no momento pós-treino, da maioria dos indivíduos, e houve aumento da extensão vocal em semitons para o grupo dos cinco laringectomizados do treinamento vocal em 12 encontros consecutivos.

USO PROLONGADO DA VOZ TRAQUEOESOFÁGICA EM LARINGECTOMIZADO TOTAL COM PRÓTESE FONATÓRIA

Ariane Damasceno Pelicani

Orientadora: Profa. Dra. Lilian Neto Aguiar Ricz
Dissertação de Mestrado apresentada em 24/10/2011

Com o surgimento da prótese traqueoesofágica, a comunicação do laringectomizado total se tornou mais efetiva e funcional. Mesmo sendo uma voz de qualidade rouca e tensa de grau moderado, é uma comunicação inteligível, independente do tipo de prótese utilizada. Muitos são os trabalhos que visam a compreensão da nova condição anatômica e fisiológica na produção da voz traqueoesofágica, no entanto, não foram encontrados estudos focados na efetividade da comunicação quando submetida a uso prolongado. Sintomas como rouquidão, sopro, dor/ardor ao falar, dificuldades na modulação vocal e esforço fonatório são manifestações frequentes após o uso prolongado da voz na fonação laríngea. O objetivo do presente trabalho é analisar comparativamente a fonação traqueoesofágica antes e após o uso prolongado da voz quanto aos parâmetros acústicos, intensidade vocal, perceptivo-auditivo e auto-avaliação dos sinais e sintomas da fadiga vocal. Participaram do estudo 19 laringectomizados totais, sendo 14 homens e cinco mulheres, com

média de 56,7 anos submetidos à laringectomia total clássica, com fechamento das camadas mucosa, submucosa e muscular para reconstrução da faringe. Todos os participantes foram submetidos a captura da intensidade vocal habitual, mínima e máxima, auto-avaliação dos sinais e sintomas da fadiga vocal e gravação da emissão da vogal /a/ prolongada para posterior extração dos parâmetros acústicos e perceptivo-auditivos. Estes testes foram realizados antes e depois da prova de uso prolongado da voz, que deveria ser realizada por no tempo máximo de uma hora contínua ou até referirem sinais e sintomas que impedissem a continuidade da prova. O tempo médio de execução da prova foi de 33,68 minutos, sendo que 42,11% da amostra realizou a prova acima de 31 minutos. A análise acústica revelou manutenção do tipo de sinal sonoro (tipo II) após a prova, e elevação das medidas de F₁ (p= 0,01), vF₀ (p= 0,04), vAm (p= 0,05) e NHR (p= 0,05). A análise perceptivo-auditiva revelou forte concordância entre os juízes-fonoaudiólogos para a manutenção do tipo de voz (G2I2R2B0A0S1) e grau de severidade após o uso prolongado da voz. Não houve significância estatística para mudanças nos parâmetros *pitch* e *loudness* no pós-prova. Os sinais e sintomas da fadiga vocal e as medidas de intensidade vocal habitual, mínima e máxima também não revelaram alterações significativas após o uso prolongado da voz. Deste modo, conclui-se que o uso prolongado da voz traqueoesofágica não promove alterações significativas quanto a intensidade vocal, parâmetros perceptivo-auditivos e sinais e sintomas da fadiga vocal. Entretanto, a análise acústica apresentou elevação dos parâmetros variantes da frequência aguda, de algumas medidas de perturbação e ruído.

EFEITO DA GOMA DE MASCAR NA AEROFAGIA E ERUCTAÇÃO: AVALIAÇÃO FONOAUDIOLÓGICA, MANOMÉTRICA E IMPEDANCIOMÉTRICA

Ana Cristina Viana da Silva

Orientador: Prof. Dr. Roberto Oliveira Dantas

Tese de Doutorado apresentada em 27/10/2011

A aerofagia é caracterizada pela deglutição de ar, levando à eructação repetitiva. Porém, em pacientes com eructação excessiva não há aumento de ar deglutido; este ar atinge o esôfago, sendo expulso após um segundo (eructação supragástrica). A goma de mascar poderia ser um fator de distração diminuindo tais episódios. A fonoterapia tem sido indicada como tratamento. O exame impedânciomométrico possibilita análise qualitativa e quantitativa do transporte do bolo pelo esôfago e pode ser usado para avaliar eructações. Os objetivos foram: caracterizar a deglutição orofaríngea, o trânsito e as contrações esofágicas em indivíduos com eructação excessiva comparando-os a controles; avaliar o efeito da goma de mascar e dieta na aerofagia e eructação usando manometria e impedância esofágicas. Dezesesseis pacientes e quinze voluntários saudáveis foram submetidos ao procedimento. A avaliação fonoaudiológica observou o sistema motor oral e a deglutição. No exame objetivo foram realizadas inicialmente cinco deglutições de soro fisiológico, observando-se: tempo total de trânsito do bolo, tempo de presença do bolo, tempo de trânsito segmentar e tempo de avanço da cabeça do bolo além da amplitude, área e duração das contrações esofágicas. O uso da goma foi randomizado para analisar seu efeito, em três períodos de vinte minutos: basal, pós-refeição imediato com goma ou sem goma, tardio com goma ou sem goma. A refeição foi 200 ml de iogurte ingerido após o basal. Foram contadas: deglutições de ar, saliva, eructações gástrica, supragástrica e refluxos de líquido; e as contrações primárias, secundárias e os relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior. A estatística utilizou o método de análise de variância. Foi considerado significativo $p < 0,05$. A avaliação fonoaudiológica não demonstrou alterações, somente a presença de eructação em pacientes. O tempo de avanço da cabeça do bolo foi maior nos pacientes (0,69s x 0,13s; 1,62s x 0,35s). O tempo de presença do bolo foi maior em controles (6s x 4,9s). Os pacientes apresentaram mais deglutição de ar em relação aos controles em todos os períodos analisados. A goma diminuiu a deglutição de ar em pacientes (4 x 10) e em controles (1,3 x 4,1) no período imediato e aumentou tais episódios no período tardio em pacientes (15,3 x 4,4) e controles (4,8 x 0,3). A deglutição de saliva foi maior em controles no basal (36,3 x 24). A goma aumentou a deglutição de saliva em pacientes logo após a refeição (33,3 x 19,1) e em controles no período imediato (41,4 x 39,2) e tardio (25,7 x 23). Houve mais episódios de eructação gástrica nos controles no basal (2,8 x 0,9). A goma aumentou a eructação gástrica após refeição em pacientes (3 x 2) e em controles no período imediato (4,8 x 2,9) e tardio (2,6 x 1,3). A eructação supragástrica ocorreu somente em pacientes e houve aumento dos episódios com a goma (11,4 x 1). Não houve diferença entre pacientes e controles quanto às contrações esofágicas. Concluindo, pacientes com eructação excessiva não apresentaram alterações na deglutição orofaríngea; a goma aumentou todas variáveis estudadas e não deveria ser utilizada para diminuição da eructação.

OTOPROTEÇÃO À LESÃO PELO RUÍDO: EFEITOS DA OXIGENOTERAPIA HIPERBÁRICA E CORTICOIDE

Gleice Cristina Colombari

Orientador: Prof. Dr. Miguel Angelo Hyppolito

Dissertação de Mestrado apresentada em 21/11/2011

As investigações sobre os efeitos da oxigenoterapia hiperbárica (OHB) em lesão por ruído são escassas e apontam para diferentes efeitos em função do momento de intervenção. Dentre os trabalhos já descritos foi observado efeito lesivo da OHB quando aplicada imediatamente ao trauma acústico, contudo, efeito positivo foi observado quando aplicada após 2 e 6 horas. Com relação aos tratamentos usados para trauma acústico, alguns estudos descrevem o uso de corticoides como melhor alternativa, mas recentemente estudos apontam para a sua combinação com OHB como a terapêutica com maior benefício nas lesões por ruído. O presente estudo teve como objetivos avaliar o momento da intervenção pela OHB após 2, 4 e 6 horas de repouso auditivo após exposição ao ruído e avaliar a associação terapêutica entre a OHB e corticoterapia (CT). Cobaías albinas foram expostas a um ruído branco na faixa de 4 kHz com intensidade igual a 110dB NPS por 72h e divididas em cinco grupos terapêuticos: OHB com início após 2, 4 e 6h de repouso auditivo após exposição ao ruído, CT isolada e OHB após 6 horas de repouso Associada a CT. O tratamento durou 5 dias, sendo uma sessão terapêutica por dia. Todos os animais tiveram a função auditiva avaliada pelo Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE) e pelas Emissões Otoacústicas Produtos de Distorção (EOAPD) em três momentos: pré-ruído, pós-ruído e pós-tratamento. Após a eutanásia dos animais e preparação dos espécimes cocleares, todas as cócleas foram analisadas através de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Não houve diferença estatística significativa entre os momentos de intervenção pela OHB após 2, 4 e 6 horas, contudo, os dados de MEV demonstraram que uma maior otoproteção ocorreu quando a intervenção foi realizada após um maior repouso auditivo. Apesar da não diferença estatística significativa, os achados anatômicos e funcionais permitiram concluir que a associação terapêutica entre a OHB e a corticoterapia desempenhou um melhor efeito otoprotetor e terapêutico se comparada a essas mesmas terapias isoladas

AVALIAÇÃO DO ESPAÇO AÉREO NASAL INDUZIDO PELA EXPANSÃO RÁPIDA DA MAXILA EM CRIANÇAS RESPIRADORAS BUCAIS POR MEIO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Márcio José Reis

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

Tese de Doutorado apresentada em 15/12/2011

A respiração considerada normal e fisiológica é aquela essencialmente nasal, por ser dessa única forma que se apresenta ao nascimento. Porém, quando na presença de algum fator obstrutivo, pode haver uma mudança gradativa para o padrão respiratório bucal, o que pode desencadear anormalidades no desenvolvimento da face e dos dentes. Assim sendo, se ao diagnóstico ortodôntico de uma criança for evidenciada uma deformidade transversal da maxila com mordida cruzada posterior, a expansão rápida da maxila (ERM) é uma conduta ortodôntica indicada. Há muito, os autores se preocupam com as consequências da ERM sobre a cavidade nasal e o padrão respiratório. No entanto, até os dias atuais o assunto permanece controverso com diferentes opiniões entre a comunidade científica. Analisando as pesquisas existentes, não se encontrou em nenhuma delas uma amostragem de crianças com obstrução nasal em que foram avaliados os espaços vazios ou meatos, que estão localizados por entre os tecidos moles contidos no interior da cavidade nasal e por onde trafega o fluxo de ar.

Objetivo: Analisar possíveis modificações dessas extensões tridimensionais nasais por meio do exame de ressonância magnética (RMN) antes e após a ERM. Casuística e Métodos: A amostra foi composta por 27 crianças com maxila atresia, mordida cruzada posterior uni ou bilateral, na faixa etária de 7 a 10 anos, com diagnóstico de respiração bucal e/ou mista com indicação de ERM. O disjuntor de Haas foi utilizado para a correção dessa má oclusão e o exame de RMN foi realizado antes da instalação do aparelho e após seis meses, assim que o disjuntor foi removido.

Resultados: Não houve aumento volumétrico do espaço aéreo nasal, total, anterior ou posterior após a ERM. O espaço aéreo nasal total, anterior e posterior, em média e em números absolutos e também respeitando uma variabilidade individual, diminuiu depois da intervenção expansionista, mas sem significância estatística.

Conclusão: De acordo com estes resultados, crianças com obstrução nasal submetidas à ERM, em média, não se beneficiaram de aumento do espaço aéreo nasal somente com essa intervenção ortodôntica-ortopédica.

Ortopedia, Traumatologia e Reabilitação

FOTOGRAMETRIA NA IDENTIFICAÇÃO DE ASSIMETRIAS POSTURAIS EM CADETES DA ACADEMIA DA FORÇA AÉREA BRASILEIRA

Rodrigo Velludo de Figueiredo

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Shimano

Dissertação de Mestrado apresentada em 06/10/2011

Atualmente, concomitante ao desenvolvimento tecnológico, tem se acompanhado um aumento substancial da incidência de distúrbios musculoesqueléticos. No entanto, esses distúrbios são de origem multifatorial. Estudos mostram que o alto tempo de exposição à atividade aérea pode resultar em processo algícos e degenerativos. Forças externas sobre os membros superiores afetam assimetricamente os músculos estabilizadores da coluna vertebral, causando alterações posturais.

Objetivo: Identificar se a atividade de treino de vôo pode desencadear alterações posturais em cadetes da Academia da Força Aérea Brasileira (AFA). **Métodos:** Os sujeitos foram avaliados através de registro fotográfico em vista anterior, lateral direita e esquerda tendo como casuística oitenta cadetes da AFA, divididos em quatro grupos, vinte em cada. Os grupos foram divididos de acordo com o nível de escolaridade e tempo de exposição aos trinos de vôo na AFA. As fotos foram transferidas para o programa de Avaliação Postural (SAPO), sendo traçados ângulos relacionados ao alinhamento vertical da cabeça (AVC), alinhamento horizontal da cabeça (AHC), alinhamento horizontal dos acrômios (AHA) e alinhamento horizontal das espinhas ilíacas ântero-superiores (AHE).

Resultados: Os resultados mostraram que, após comparação das médias das assimetrias posturais entre os grupos, não houve diferença estatística significativa em relação aos ângulos: AVC, AHC, AHA e AHE.

Conclusões: Concluímos que os quatro grupos de cadetes, em relação às variáveis estudadas, não apresentaram diferenças estatísticas significativas, podendo atribuir este fato aos critérios exigentes de ingresso dos cadetes na AFA e a eficiência do treinamento físico realizados periodicamente. Foi possível concluir, também, que a atividade de treino de vôo não desencadeou alterações posturais nos cadetes da AFA.

ESTUDO DOS EFEITOS DE DIFERENTES NÍVEIS DE CONDICIONAMENTO FÍSICO SOBRE A MODULAÇÃO AUTONÔMICA CARDÍACA EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS - UMA COMPARAÇÃO ENTRE OS GÊNEROS

Sabrina Graziani Velozo Dutra

Orientador: Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/10/2011

Nós investigamos os efeitos de diferentes níveis de condicionamentos físico sobre a modulação autonômica da variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em voluntários saudáveis de ambos os gêneros. O protocolo experimental empregado para avaliação da VFC foi a análise espectral das séries temporais dos intervalos R-R, obtidos por meio de registro eletrocardiográfico durante o repouso na posição supina (basal) e durante o teste de inclinação (til test). Os resultados mostraram que o nível de condicionamento físico não promoveu alterações nos parâmetros espectrais da VFC na posição supina quando os gêneros eram comparados separadamente. No entanto, quando os gêneros foram comparados por nível de condicionamento físico, houve diferenças. As mulheres apresentaram menores valores da pressão arterial e das oscilações de FL, e maiores valores da oscilações de HF em relação aos respectivos grupos formados por homens, independentemente do nível de condicionamento físico. Ao tilt test, todos os grupos formados por homens apresentaram respostas similares. Por outro lado, quando o tilt test foi aplicado nos grupos de mulheres, observamos que o grupo de alta performance apresentava menores variações nas oscilações de LF e HF. Em conclusão, os resultados sugerem que as respostas cardiovasculares e autonômicas são diferentes entre homens e mulheres, uma vez que os homens apresentaram um balanço modulatório autonômico cardíaco mais favorável às favoráveis. Adicionalmente, o nível de condicionamento físico não interferiu na modulação autonômica observada na posição supina. Por sua vez, no tilt test, as mulheres com melhor performance aeróbia apresentavam menor retirada modulatória parassimpática, quando comparadas com os grupos de baixa e média performance.

AValiação DA EFicácia DA ANALGESIA PREEMPTIVA NA CIRURGIA DE EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES INCLUSOS

Jorge Luiz Jacob Liporaci Junior

Orientador: Prof. Dr. Luis Vicente Garcia

Tese de Doutorado apresentada em 27/10/2011

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficácia da analgesia preemptiva na cirurgia de extração de terceiros molares inclusos. Nesse estudo duplo cego, randomizado e pareado, os pacientes foram submetidos à extração de terceiros molares inferiores bilaterais em dois tempos distintos. Em uma das duas cirurgias, no pré-operatório os pacientes fizeram uso de Cetoprofeno 150mg via oral a cada 12 horas durante dois dias antes e, após a cirurgia, continuaram a medicação por mais três dias. Em outra cirurgia, fizeram uso de um comprimido placebo no pré-operatório a cada 12 horas durante dois dias antes, e após a cirurgia, fizeram uso do Cetoprofeno 150 mg a cada 12 horas por três dias. O analgésico de resgate utilizado foi o Paracetamol 750 mg via oral. A dor pós-operatória foi avaliada por meio de Escala Visual Analógica, Escala Nominal e quantidade de consumo de analgésicos de resgate. Os resultados não mostraram diferença significativa entre o controle e cetoprofeno preemptivo na redução da dor pós-operatória e no consumo de analgésicos de resgate. Conclui-se que neste modelo experimental, a analgesia preemptiva não se mostrou eficaz na redução da dor pós-operatória.

ESTUDO DA MODULAÇÃO AUTÔNOMICA CARDÍACA E DOS PARÂMETROS METABÓLICOS EM MULHERES COM A SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS - EFEITO DA PERCENTAGEM DE GORDURA CORPORAL

Nathália Sigilló Cardoso

Orientador: Prof. Dr. Jugo Celso Dutra de Souza

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/11/2011

Mulheres com a Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) apresentam alta prevalência de obesidade, hiperinsulinemia e resistência à insulina, aumentando o risco de doenças cardiovasculares. Nossa hipótese era que essa síndrome endócrino-metabólica que também parece promover alterações na produção das adipocinas seria responsável por alterações autonômicas relevantes, prejudicando o controle autonômico cardíaco, independentemente das comorbidades, como o aumento do percentual de gordura corporal. Portanto, o objetivo do presente estudo foi quantificar os marcadores metabólicos; insulina e adipocinas (leptina, adiponectina, Il-6 e TNF- α) e caracterizar o comprometimento da modulação autonômica sobre a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) em mulheres com a SOP que apresentavam diferentes porcentagens de gordura corporal. Para tanto, estudamos voluntários com SOP e voluntárias controle, não praticantes de atividade física regular, divididas em três faixas de porcentagens de gordura corporal. Os resultados mostraram que as concentrações de insulina não diferiram nos grupos SS, entretanto todos os grupos com a SOP apresentaram resistência à insulina. Não houve diferenças entre os grupos SS e SOP em relação aos valores da leptina e adiponectina, sendo que seus valores foram crescentes e decrescentes, respectivamente, ao aumento das porcentagens de gordura corporal. Il-6 e TNF- α apresentaram alterações dependentes da síndrome, mas elas foram mais pronunciadas nos grupos com aumento das porcentagens de gordura. Quanto à análise da HRV, a comparação entre os grupos de mulheres SS e SOP mostrou que somente foram observadas diferenças nas oscilações de HF em unidades absolutas. Neste caso, o grupo com SOP (22-27%) apresentou menores oscilações em relação ao grupo SS. Por fim, a comparação entre os diferentes percentuais de gordura corporal dos grupos SS e SOP mostrou resultados semelhantes, caracterizados principalmente pela redução nas oscilações de LF dependente do acúmulo de gordura corporal. Em conclusão, observamos que todas as mulheres com SOP apresentaram resistência à insulina. As alterações nos marcadores foram decorrentes das SOP associada ao aumento do percentual de gordura nas concentrações de Il-6 e TNF- α , e somente da gordura corporal dos níveis de adiponectina e leptina. Nesse sentido, a SOP promove distúrbios metabólicos e autonômicos relevantes, porém o efeito da elevação do percentual de gordura nas mulheres com a síndrome agrava todas as condições encontradas.

ANÁLISE QUANTITATIVA DOS MÚSCULOS PARAVERTEBRAIS LOMBARES POR RESSONÂNCIA EM INDIVÍDUOS COM POSTURA *sway-back*

Adriano Pezolato

Orientador: Prof. Dr. Marcello Henrique Nogueira-Barbosa

Dissertação de Mestrado apresentada em 24/11/2011

Diminuição na atividade de músculos estabilizadores lombares foi identificada em indivíduos com postura *sway-back*. O desuso pode predispor estes músculos a uma atrofia percebida pela redução na área de secção transversa e/ou infiltração gordurosa. O objetivo deste estudo foi avaliar a postura *Sway-back* e a quantidade de infiltração gordurosa nos músculos paravertebrais lombares em indivíduos com e sem dor lombar e sem a postura *sway-back* sintomático, *sway-back* assintomáticos. Participaram do estudo 45 indivíduos sedentários com idade entre 16 e 40 anos. A amostra foi dividida em 3 grupos, *sway-back* sintomático, *sway-back* assintomático e controle. Os indivíduos foram submetidos a uma avaliação fotogramétrica computadorizada para a classificação da postura e posteriormente foram encaminhados a um exame de ressonância magnética da coluna lombar. As áreas de secção transversa total e funcional dos músculos psoas maior, quadrado lombar, eretores espinhais lombares junto com o multifídio lombar e multifídio lombar isoladamente foram mensuradas de L1 e S1. A quantidade de infiltração gordurosa foi determinada pela diferença entre os valores da área de secção transversa total e funcional. Não foi encontrada infiltração gordurosa nos músculos psoas maior e quadrado lombar nos grupos estudados, ao contrário dos eretores espinhais lombares e multifídio lombar, que demonstraram concentrações de gordura entre suas fibras. Uma diminuição na área de secção transversa do músculo psoas maior foi encontrada no grupo sintomático comparada com o controle em todos os níveis com significância estatística para os níveis L4 e L5 no lado direito e margem inferior de L4 no lado esquerdo.

Diminuição significativa na área de secção transversa funcional do músculo multifídio lombar foi encontrada nos níveis L5 e sua margem inferior e S1 ao comparar o grupo sintomático com o controle. Uma maior deposição de gordura foi encontrada nos músculos eretores espinhais lombares e multifídio lombar nos grupos com postura *sway-back*. A dor parece contribuir para a diferença na quantidade de gordura encontrada nos grupos com o mesmo desvio postural, ao passo que a adoção da postura *sway-back* como hábito postural independente da dor lombar parece contribuir para a substituição tecidual com relação ao controle. Os resultados deste estudo mostram que a presença de dor lombar e não a postura parece determinar a diminuição na área de secção transversa dos músculos psoas maior e quadrado lombar e na área de secção transversa funcional dos músculos multifídio lombar em níveis específicos. A postura *sway-back* parece contribuir para o aumento da infiltração gordurosa e predispor os músculos eretores espinhais lombares e multifídio lombar a uma atrofia, não somente pela presença da dor, mas como consequência da postura assumida habitualmente.

AValiação DO DESEMPENHO DOS DIFERENTES MÉTODOS, MEDIDAS SERIADAS E PONTOS DE CORTE DO ÍNDICE DE RESPIRAÇÃO RÁPIDA E SUPERFICIAL EM PACIENTES GRAVES

Elaine Cristina Gonçalves

Orientadora: Profa. Dra. Ada Clarice Gastaldi

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/12/2011

O grande desafio da descontinuação da VM está em identificar corretamente os pacientes aptos a extubação com excesso. O índice de respiração rápida e superficial (ORRS) tem sido o mais utilizado dentro desse processo em pacientes de unidade de terapia intensiva (UTI). O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho do ponto de corte, medidas seriadas e melhor método de obtenção do IRRS em prever o insucesso de extubação para pacientes graves sob VM prolongada com fatores de risco para falha de extubação. Estudo prospectivo, incluindo pacientes com 72h ou mais de ventilação mecânica (VM), prontos para o desmame, de acordo com critérios clínicos. O IRRS foi obtido diariamente, a partir do primeiro dia de desmame, com o paciente recebendo suporte ventilatório e pelo ventilômetro em respiração espontânea. Para os pacientes que passaram pelo processo de desmame com sucesso e foi indicada a extubação, o IRRS foi obtido anteriormente ao teste de respiração espontânea (TER) através do ventilômetro e em seguida colocado em TRE por 30 min. Após 30 min se o paciente não apresentou sinais de intolerância a desconexão da VM, o IRRS foi obtido em respiração espontânea e o paciente foi prontamente extubado. Os resultados foram analisados agrupando os pacientes de acordo com o desfecho do desmame: Grupo traqueostomia (GT); Grupo insucesso de extubação (GI), Grupo sucesso de extubação (GS).

Resultados: 45 pacientes finalizaram o estudo, sendo 15 (33%) do GT, 11 (37%) do GI e 19 (63%) do GS. Fatores como tempo de intubação, tempo para iniciar o desmame e tempo de desmame foram maiores nos grupos GT e GI. Um novo

ponto de corte foi calculado para essa população, com a especificidade de (0,64) e valor preditivo negativo de (0,54), que melhor identificou os pacientes com falha menor quando comparado ao IRR_ESP. As medidas diárias do IRRS apresentaram oscilações no GT, enquanto que nos GS e GI houve uma tendência de melhora. O IRRS_POS_TUBO_T quando comparado ao IRRS_PRE_TUBO_T aumento no GS e GI, com valores menores para o GS. As medidas obtidas em respiração espontânea, com o novo ponto de corte e após 30 minutos de TER identificaram a FE em 90% dos pacientes.

Conclusão: Em pacientes graves, as medidas do IRRS em respiração espontânea, com ponto de corte maior ou menor 75 ciclos/min/L e após o TER melhora a identificação dos pacientes que poderão evoluir com falha de extubação.

ANÁLISE DOS GRADIENTES DE TENSÕES DE DIFERENTES PARAFUSOS DO SISTEMA DE FIXAÇÃO VERTEBRAL UTILIZANDO FOTOELASTICIDADE DE TRANSMISSÃO PLANA

Sarah Fakher Fakhouri

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Shimano

Tese de Doutorado apresentada em 09/12/2011

O tratamento de deformidade, doença degenerativa, traumatismo e tumores da coluna vertebral frequentemente exigem a realização da fixação interna. O parafuso é um elemento de ancoragem dos sistemas de fixação vertebral, em que o desempenho e as propriedades das funções mecânicas destes sistemas estão diretamente relacionado com a qualidade da fixação dos parafusos nas vértebras. A fotoelasticidade é um técnica que, por meio de elementos óticos, permite realizar análise qualitativa e quantitativa da distribuição da tensão. É utilizada em estudos com modelos irregulares e com distribuição de cargas complexas ou ambas. Neste trabalho foi utilizada esta técnica para analisar as tensões internas de modelos fotoelásticos sob influência de parafusos pediculares tipo USS e USS II quando submetidos a esforços de arrancamento. Foram confeccionados seis modelos divididos em seis grupos. O grupo, G1 era composto pelo parafuso tipo USS I com diâmetro externo de 5,0 mm, o grupo, G2, era formado pelo parafuso tipo USS I e com diâmetro externo de 6,0 mm, o grupo, G3, era composto parafuso tipo USS I com diâmetro externo de 7,00 mm, o grupo G4, por parafuso tipo USS II com diâmetro externo de 5,2 mm, o grupo, G5, por parafuso tipo USS II com diâmetro externo de 6,2 mm e o grupo, G6, por parafuso tipo USS II com diâmetro externo de 7,00 mm. A simulação foi feita com cargas de 1,4, 1,8, 2,4 e 3,3 kgf. As ordens de franjas foram avaliadas em torno dos parafusos, utilizando o método de compensação de Tardy. Em todos os modelos analisados foram determinadas as tensões cisalhantes. Os resultados mostraram que, independentemente da carga aplicada, a tensão cisalhante foi maior no parafuso de menor medida de diâmetro externo. Foi observado que os parafusos pediculares tipo USSII requereram maior força de arrancamento que os parafusos tipo USS I. O local de maior tensão foi nos primeiros filetes de rosca, próximo da cabeça dos parafusos. Por meio da análise quantitativa e qualitativa foi possível o desempenho de parafusos de fixação vertebral, em relação ao arrancamento.

A INFLUÊNCIA DA ESCOLIOSE IDIOPÁTICA DO ADOLESCENTE E DO SEU TRATAMENTO CIRÚRGICO SOBRE O EQUILÍBRIO SEMI-ESTÁTICO

Hildemberg Agostinho Rocha de Santiago

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Cristina Carvalho de Abreu

Dissertação de Mestrado apresentada em 15/12/2011

A escoliose idiopática do adolescente (EIA) é uma deformidade da coluna vertebral que acomete indivíduos entre 10 e 19 anos de idade, caracteriza-se por desvios das curvas nos planos frontal e sagital, e rotação intervertebral no plano axial. Devido a sua natureza tridimensional apresenta alterações biomecânicas que geram adaptações em músculos e ligamentos da coluna vertebral, alterando suas funções no controle postural. O tratamento cirúrgico visa corrigir os desvios e manter as curvas no plano sagital, através de artrodeses. Com base nesses conceitos, o objetivo do estudo foi avaliar a influência da escoliose idiopática do adolescente, e da sua correção cirúrgica, sobre o equilíbrio semi-estático. Participaram do estudo 30 adolescentes divididas em dois grupos: Grupo Controle (GC) [n=15], idade média de 15,13 ± 1,59 anos, massa corporal de 51,22 ± 2,5Kg e estatura de 159 ± 3cm, e Grupo Escoliose (GE) [n=15] com média de idade de 15 ± 1,64 anos, massa corporal de 46,1 ± 3,26Kg e estatura de 156 ± 3cm; das quais foi mesurada a oscilação do centro de pressão a partir de uma plataforma de força avaliando as variáveis: desvio ântero-posterior (DAP); desvio médio-lateral (DML); velocidade ântero-posterior (VAP); velocidade médio-lateral (VML) e área (A²). O GC realizou a avaliação do equilíbrio semi-estático em um único momento, enquanto o GE realizou a avaliação do equilíbrio semi-estático no momento pré-operatório (PRÉ) e no 7°, 30°, 60° e 90° dia de pós-operatório (PO). Foi avaliado o grau de correção da curvatura e a

relação entre número de vértebras artrodesadas e a oscilação corporal. O equilíbrio semi-estático foi avaliado nas 4 posições de Romberg (P1 - pés separados, P2 - pés unidos, P3 - série parcial e P4 - série completa) nas condições olhos abertos (AO) e olhos fechado (OF). Os resultados mostram que o GE apresentou uma redução média de 49,8° para a curva torácica e 18,14° para as lombares. O número de vértebras artrodesadas foi de $11,26 \pm 1,7$. O GE apresentou maior oscilação que o GC, com diferença significativa nas quatro variáveis estudadas (DAP, DML, VAP, VML e A²) e em todas as posições/condições. Com base nos resultados verificou-se que o GE oscila mais que o GC tanto no pré-operatório como nos momentos pós-operatório. Na comparação entre as posições, GE oscilou mais no sentido AP em P1 e no sentido ML em P4, também obteve maior valor para a A². Para a VAPP2 foi a mais desafiadora e para VML foi P4. Os dados apontam para uma diminuição gradativa da oscilação com o passar dos dias de PO, porém no 90° dia o GE ainda apresenta valores superiores ao momento PRÉ. Portanto, os resultados mostram que a escoliose afeta o controle postural e que no 90° dia pós-cirúrgico a oscilação postural ainda se apresenta superior ao período pré-operatório, e que pode estar associado a um comprometimento sensorio-motor ou a um problema de integração sensorial pré-existente, também relacionado as alterações biomecânicas decorrentes da cirurgia e seu efeito agudo.

ANÁLISE DAS RESPOSTAS NEUROMUSCULARES E DO EQUILÍBRIO POSTURAL APÓS A APLICAÇÃO DE DIATERMIA POR ONDAS CURTAS NO MEMBRO INFERIOR DE MULHERES SAUDÁVEIS

Marina Guirado Silvério

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Roberto de Jesus Guirro
Dissertação de Mestrado apresentada em 15/12/2011

É conhecido que variações na temperatura dos tecidos corporais podem influenciar as respostas para manutenção do controle motor. Dessa maneira uma vez que os recursos térmicos são amplamente utilizados na prática clínica da fisioterapia, é de interesse, investigar a influência da diatermia por ondas curtas (DOC) nas respostas neuromusculares e do equilíbrio postural em função dos locais de aplicação. Participaram do estudo 21 voluntárias, saudáveis, sem história de lesão sensitiva e/ou osteomioarticular nos membros inferiores. O aquecimento foi realizado pelo aparelho hermo-wave Bio-set, com frequência de 27,12Mhz, de modo contínuo, potência de 180W (60% da potência máxima), com duração de 20 minutos, aplicados na planta do pé, tornozelo e panturrilha, com intervalo mínimo de 48 horas e máximo de 7 dias. O sinal eletromiográfico (frequência mediana e RMS) dos músculos tibial anterior, gastrocnêmio lateral, reto femoral, bíceps femoral e glúteo médio foi captado pelo sistema de aquisição de dados EMG-1000(Lynx) e para captação do deslocamento do centro de pressão foi utilizada uma plataforma de força (AMTI OR 6-7-1000) fornecendo as medidas de velocidade média e deslocamento máximo nos eixos X e Y. A coleta foi realizada, aleatoriamente, com a voluntária em posição bipodal e unipodal, realizada antes (pré), imediatamente após (p0), 15(p15), 25(p25) e 35 (p35) minutos após aplicação do calor. Para análise estatística foi utilizado o modelo de regressão linear com efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos), nível crítico de 5%. Foi observado que o aumento significativo da temperatura da planta do pé, tornozelo e panturrilha alterou a resposta neuromuscular de músculos distantes ao local da aplicação de DOC. Desse modo, a temperatura elevada promoveu aumento da amplitude do sinal eletromiográfico do bíceps e redução do reto femoral, em diferentes períodos após o aquecimentos. Bem como, uma diminuição da frequência mediana de disparo das unidades motoras desses músculos. Além disso, o calor alterou as respostas de DOC na panturrilha no apoio bipodal e planta do pé durante apoio unipodal. O deslocamento ântero-posterior aumentou após aquecimento do tornozelo e panturrilha na posição unipodal e na planta do pé durante apoio bipodal. Além disso, alterações nos parâmetros de velocidade média nos planos frontal e sagital também foram observadas em ambas as posições após DOC no tornozelo. Essas alterações exigem cautela durante prescrição do exercício físico, já que podem comprometer a sua segurança e precisão.

ANÁLISE DA RESPOSTA NEUROMUSCULAR E DO EQUILÍBRIO POSTURAL APÓS A APLICAÇÃO DE CRIOTERAPIA EM DIFERENTES REGIÕES DO MEMBRO INFERIOR

Thiago Batista Muniz

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Roberto de Jesus Guirro
Dissertação de Mestrado apresentada em 16/12/2011

Não estão completamente estabelecidos na literatura os efeitos da crioterapia no controle da oscilação do centro de pressão corporal e da atividade elétrica muscular dos membros inferiores. Além disso, essas variáveis poderiam ser afetadas diferentemente com a aplicação da crioterapia em diferentes regiões dos membros inferiores. Portanto, o objetivo

desse trabalho foi avaliar a oscilação do centro de pressão nos eixos Antero-posterior e médio-lateral, bem como a atividade elétrica de cinco músculos do membro inferior após aplicação de crioterapia na planta do pé, tornozelo e panturrilha. Foram selecionadas 21 voluntárias, saudáveis, sedentárias, sem história de doenças sensitivas e/ou osteomioarticulares nos membros inferiores. O sinal eletromiográfico (root meansquare - RMS - e frequência mediana - FM) dos músculos tibial anterior, gastrocnêmio - porção lateral, reto femural, bicepsfemural e glúteo médio foram coletados pelo sistema de aquisição de dados EMG-1000 (Linux), e o deslocamento do centro de pressão - deslocamento máximo médio-lateral e ântero-posterior e velocidade média médio-lateral e ântero posterior - pela plataforma de força OR 6-7-1000(AMTI), durante a posição bipodal e unipodal. A aplicação do gelo teve duração de 30 minutos, com intervalo mínimo de 48 horas, entre cada aplicação nos diferentes locais: planta do pé, tornozelo e panturrilha. Foi utilizado o delineamento do tipo cross-over, no qual as voluntárias se submeteram às três intervenções. A coleta dos dados foi realizada nos tempos pré, imediatamente após aplicação, 10, 20, e 30 minutos após a mesma. Para a comparação das variáveis estudadas, foi utilizado o modelo de regressão linear com efeitos mistos (efeitos aleatórios e fixos) sendo fixado em todos os cálculos um nível crítico de 5%. Os resultados mostraram que com a aplicação de crioterapia na planta do pé e durante a posição bipodal ocorreu uma redução do RMS e da FM dos músculos glúteo médio e reto femural e um aumento da FM do músculo tibial anterior, bem como um aumento do deslocamento máximo médio-lateral e antero-posterior. A aplicação da crioterapia no tornozelo provocou uma redução da FM do músculo reto femural e um aumento do deslocamento máximo Antero-posterior na posição bipodal. Quando a crioterapia foi aplicada na panturrilha os resultados na posição bipodal mostraram um aumento do RMS do gastrocnêmio lateral, uma redução da FM desse músculo e do reto femural, bem como um aumento do deslocamento máximo médio lateral e Antero-posterior. Desta forma, em todos os locais de aplicação ocorreram um aumento da oscilação do centro de pressão bem como alterações no RMS e FM de alguns dos músculos estudados, sugerindo assim que a redução da temperatura da planta do pé, do tornozelo e da panturrilha provocaria alterações sensoriais indesejáveis para uma boa estabilidade corporal. Portanto, essas alterações devem ser levadas em consideração na prescrição da crioterapia, sendo que a mesma deve ser feita com cautela quando precede atividades físicas.

DOENÇA DE LEGG-CALVÉ-PERTHES: AVALIAÇÃO COM RESSONÂNCIA MAGNÉTICA DO *labrum* E DA CARTILAGEM ACETABULAR EM QUADRIS COM DEFORMIDADES SUGESTIVAS DE IMPACTO FEMOROACETABULAR

Daniel Augusto Carvalho Maranhão

Orientador: Prof. Dr. José Augusto Carvalho Maranhão

Tese de Doutorado apresentada em 20/12/2011

As deformidades secundárias à doença de *Legg-Calvé-Perthes* (DLCP) podem resultar em osteoartrose tardia do quadril, mas lesões relacionadas ao impacto femoroacetabular (IFA) podem ocorrer mais precocemente, como as alterações da cintura cervicocapital ("*offset*") e as anormalidades do *labrum* e da cartilagem acetabulares. O objetivo deste estudo foi avaliar por meio de imagens de ressonância magnética (RM), a frequência e a localização das anormalidades do *labrum* e da cartilagem articular em quadris acometidos pela DLCP e com deformidades residuais. Sessenta e dois quadris em 58 paciente (idade média: 13,37 anos) foram avaliados prospectivamente por meio de RM de alta resolução, sem uso de contraste magnético. Todos os pacientes foram diagnosticados com DLCO (tempo médio de acometimento: 7,18 ANOS) e tinham deformidades residuais sugestivas de IFA nas radiografias. O ângulo alfa na RM foi utilizado para avaliar a esfericidade da cabeça femoral. O *labrum* acetabular foi avaliado de acordo com sistema de classificação modificado (que considera o tipo e a extensão das anormalidades). A cartilagem acetabular foi avaliada quanto à presença de delaminação e defeitos condrais. A localização dos achados foi descrita com base na nomenclatura das horas do relógio. As imagens de RM foram interpretadas independentemente por dois observadores e, para a avaliação do *labrum*, a concordância interobservadores (*kappa*) foi aferida. Uma leitura concensual foi realizada e considerada para análises estatísticas. O ângulo alfa estava aumentado em 71% dos quadris, anormalidades labrais foram identificadas em 77% e alterações da cartilagem articular em 57%. A maioria das anormalidades do *labrum* e da cartilagem acetabular estavam localizadas na região anterolateral, entre 2 e 12h. Houve correlação significativa positiva entre alterações do ângulo alfa, anormalidades do *labrum* e da cartilagem acetabular. Houve substancial concordância interobservadores em relação à classificação proposta para avaliar o *labrum* (coeficiente *Kappa*: 0,76). Com base na avaliação por RM, anormalidades do *labrum* e da cartilagem acetabular foram bastante frequentes em pacientes diagnosticados com DLCP e com deformidades residuais sugestivas de IFA, visualizadas em radiografias simples. Esses achados sugerem que o diagnóstico de impacto femoroacetabular seja necessário para estabelecer o prognóstico e o tratamento na DLCP.

Patologia

INFLUÊNCIA DO IMUNOFENÓTIPO CD44/CD24 NOS FATORES PROGNÓSTICOS DE NEOPLASIAS MALIGNAS DE GLÂNDULAS SALIVARES

Danilo Figueiredo Soave

Orientador: Prof. Dr. Alfredo Ribeiro Silva

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/10/2011

Os Tumores de Glândulas Salivares são neoplasias raras, apresentam grande diversidade histológica e difícil diagnóstico. A incidência das Neoplasias Malignas de Glândulas Salivares (NMGS) varia de 2,5 a 3,0 por 100 000 indivíduos/ano, representam de 3 a 6% dos cânceres de cabeça e pescoço e correspondem a 0,3% de todos os cânceres. Há evidências que células tumorais que expressam CD44 e CD24 apresentem comportamento de células-tronco. O CD44 é o principal sítio de ligação ao ácido hialurônico e o CD24 é um receptor que interage com a P-selectina, colaborando com processo de metástase e progressão tumoral. O presente estudo foi proposto para avaliar a influência da expressão de CD44 e CD24 no prognóstico e sobrevida das NMGS. As lesões foram classificadas como: Carcinoma Mucoepidermoide (16 casos (27,1%)), Carcinoma Adenoide Cístico (18 casos (30,5%)), Carcinoma de Células Acinares (4 casos (6,8%)), Adenocarcinoma NOS (8 casos (13,5%)), Adenocarcinoma de Células Basais (5 casos (8,4%)), Carcinoma Ex- Adenoma Pleomórfico (5 casos (8,4)), and Carcinoma de Ductos Salivares (3 casos (5,1%)). Neste trabalho a expressão de CD44 foi verificada em 41 casos (69,5%) enquanto, a expressão de CD24 foi observada em 9 casos (15,2%). Os casos foram agrupados seguindo os perfis CD44/CD24 da seguinte forma: 35 casos CD44⁺/CD24⁻ representando 59,3% da amostra; 15 casos CD44⁻/CD24⁻ representando 25,4%; 6 casos CD44⁺/CD24⁺ representando 10,1%; 3 casos CD44⁻/CD24⁺ representando 5,1% da amostra. A expressão de CD44 e CD24 apresentou correlação positiva com as Glândulas salivares maiores ($p = 0,006$, $p=0,05$). O CD24 apresentou correlação com lesões T3/T4, ($p=0,027$) e com estadiamento III/IV ($p=0,044$). O perfil CD44⁺/CD24⁺ mostrou relação com o sítio primário da lesão ($p = 0,0001$), recidiva loco-regional ($p=0,009$) e tumores T3/T4 ($p = 0,017$). A análise de Kaplan-Meier demonstrou uma relação significativa entre o estadiamento clínico e a sobrevida livre de doença (SLD) e a sobrevida global (SG) ($p = 0,004$ e $p = 0,005$) e a expressão do citoplasmática do CD24 apresentou relação negativa com a sobrevida livre da doença ($p = 0,04$). Na análise multivariada encontrou-se como parâmetros independentes para prever a sobrevida livre da doença; os perfis CD44/CD24 ($p=0,025$, $p=0,013$, $p=0,017$), sítio primário da lesão ($p=0,01$), estadiamento clínico ($p= 0,001$), idade ($p=0,02$) e gênero ($p=0,024$). Nossos resultados confirmaram o estadiamento clínico como principal fator prognóstico para as lesões glandulares. Além disso, sugerem que a expressão citoplasmática de CD24 está associada à redução da SLD nas NMGS e o perfil CD44⁺CD24⁺ apresentou um comportamento mais agressivo quando comparados aos demais imunofenótipos.

EVOLUÇÃO DOS CASOS DE ANTROPOLOGIA FORENSE NO CENTRO DE MEDICINA LEGAL (CEMEL) DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP DE 1999 A 2010

Raffaella Arrabaça Francisco

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurelio Guimarães

Dissertação de Mestrado apresentada em 30/11/2011

A Antropologia Forense é uma área de conhecimento que aplica os métodos da antropologia física e da arqueologia para coleta e análise de evidências legais, buscando estabelecer a identidade de um ser humano. O Centro de Medicina Legal (CEMEL) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP) possui um Laboratório de Antropologia Forense (LAF), criado em 2005, em um projeto de parceria com a University of Sheffield (UK) e financiado pelo British Foreign and Commonwealth Office Global Opportunities Fund. Durante esse projeto, foi elaborado um protocolo para análise de ossadas com uma estrutura científica atualizada, aplicável ao contexto social brasileiro. Durante esses doze anos ocorreu uma aparente modificação das características dos casos encaminhados ao LAF/CEMEL, o que levou à necessidade de uma análise detalhada e comparativa dos casos. A proposta deste trabalho foi de evidenciar a evolução histórica dos casos de análise antropológica forense no LAF/CEMEL. Na primeira etapa foram analisados os casos acumulados de 1999 a 2004, na segunda etapa foram analisados os casos de 2005 a 2010, totalizando doze anos; por fim, foi realizado o estudo de acordo com a causa jurídica da morte, comparando os casos encaminhados ao LAF/CEMEL

com os casos totais de morte por causa externa para Ribeirão Preto e região. Com base nos relatórios de Antropologia Forense (REAFs), as características antropológicas predominantes das ossadas analisadas no LAF/CEMEL foram: indivíduos do sexo masculino, caucasianos, com uma faixa etária média de 37 anos (1999 a 2004) e 35 anos (2005 a 2010); uma média de estatura de 1,68 metros (1999 a 2004) e 1,70 metros (2005 a 2010); destreza manual não determinada (1999 a 2004) e destros (2005 a 2010); com elementos odontológicos informativos; com achados patológicos (1999 a 2004) e achados patológicos ausentes (2005 a 2010); sem roupas e/ou pertences (1999 a 2004) e com roupas e/ou pertences (2005 a 2010). Foi verificado que os parâmetros (oito) analisados para a identificação de um indivíduo através do exame antropológico aumentou de 65% (1999 a 2004) para 93% (2005 a 2010). Conclui-se que a atuação constante na análise antropológica de ossadas tem levado a uma melhor qualidade dos dados obtidos e maiores chances de identificação individual, cumprindo seu papel científico e social. Foi realizado um estudo para verificar a relação existente entre as mortes por causa externa (especificando homicídios) ocorridos nas últimas décadas em Ribeirão Preto e região e os casos de ossadas encaminhadas ao LAF/CEMEL. Os homicídios reduziram de 34 para 7 casos por 100 mil habitantes/ano. Contudo, o número médio de ossadas encaminhadas ao LAF/CEMEL se manteve em um mesmo padrão no decorrer desses doze anos, evidenciando que não há relação entre o número de homicídios ocorridos em Ribeirão Preto e região com o número de ossadas encaminhadas ao LAF/CEMEL com diagnóstico de morte por causa externa. Estima-se que os casos de ossadas encaminhadas ao LAF/CEMEL estejam ligados com maior probabilidade aos crimes de execução e ocultação de cadáver nos canais de Ribeirão Preto e região.

DIFERENÇAS PATOGÊNICAS E METABÓLICAS NA ESTEATOSE HEPÁTICA INDUZIDA POR DIETA HIPERLIPÍDICA E HIPERPROTÉICA/HIPERLIPÍDICA EM RATOS

Daphne Santoro Leonardi de Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Sergio Zucoloto

Dissertação de Mestrado apresentada em 09/12/2011

Introdução: A esteatose hepática é caracterizada por um acúmulo de lipídios nos hepatócitos. A doença do fígado gorduroso não alcoólica (NAFLD - non- alcoholic fat liver disease) tem sido identificada como uma das causas mais comuns de doenças hepáticas em países desenvolvidos, considerada assim uma importante doença em saúde pública. Alterações na composição de macronutrientes da dieta podem favorecer o acúmulo de gordura hepática.

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar alguns efeitos patogênicos e metabólicos das dietas hiperlipídica e hiperprotéica/hiperlipídica na promoção da esteatose hepática em ratos.

Metodologia: Foram utilizados 29 ratos *Wistar*, os quais foram divididos aleatoriamente em três grupos: Grupo Controle (dieta AIN-93), grupo HL (dieta hiperlipídica com 50% de gordura - banha de porco) e grupo HPL (dieta hiperprotéica/hiperlipídica com 40% de proteína (caseína) e 50% de gordura - banha de porco). Os grupos receberam a dieta durante quatro semanas. Foram analisados os seguintes parâmetros: perfil lipídico sérico e hepático, esteatose hepática e dano hepatocitário, estresse oxidativo e controle glicêmico.

Resultados e Discussão: O grupo HL apresentou maior consumo calórico por dia e maior ganho ponderal ($p < 0,05$). A concentração de colesterol hepático foi maior no grupo HL e a concentração de colesterol total sérico foi maior no grupo HPL ($p < 0,05$). A esteatose macrovesicular foi predominante no grupo HL, com formação de hepatócitos baloniformes e Corpúsculo de Mallory. No grupo HPL a esteatose microvesicular foi predominante, com rara formação de hepatócitos baloniformes e Corpúsculos de Mallory. Foi observado aumento nos níveis hepáticos de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (SRATB) nos grupos HL e HPL ($p < 0,05$) e os níveis hepáticos vitamina E foram menores nos grupos que apresentaram aumento nos níveis de SRATB. O grupo HPL apresentou aumento na oxidação de proteínas comparado ao grupo HL ($p < 0,05$). O grupo HL apresentou maior acúmulo hepático de Ácido Oléico, seguido do grupo HPL ($p < 0,05$). A concentração hepática de ácido graxo saturado (SFA - *saturated fatty acid*) foi semelhante entre os três grupos ($p > 0,05$). Já a concentração ácido graxo monoinsaturado (MUFA - *monounsaturated fatty acid*) foi maior nos grupos HL e HPL ($p < 0,05$).

Conclusão: O modelo experimental utilizado é um modelo eficiente para o estudo da patogênese da esteatose hepática. Entretanto, os achados patológicos foram distintos entre os grupos HL e HPL e nenhuma das dietas foram capazes de danificar o DNA dos hepatócitos após quatro semanas de estudo.

GALECTINA-3 NO DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DOS TUMORES ASTROCÍTICOS E OLIGODENDROGLIAIS DE ALTO GRAU

Patricia Alves Ponte Monteiro

Orientador: Prof. Dr. Luciano Neder Serafini

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/12/2011

Dentre as neoplasias primárias do Sistema Nervoso Central (SNC) destacam-se os gliomas por sua elevada morbiletalidade, especialmente o glioblastoma (GBM), o tumor mais letal da espécie humana. Embora inexistam marcadores moleculares e imuno-histoquímicos (IHQ) específicos para determinado tipo tumoral, a avaliação da expressão da galectina-3 (Gal-3) tem sido descrita como útil no diagnóstico diferencial entre os subtipos de gliomas. No entanto, são poucos os trabalhos na literatura que avaliaram, de forma sistemática e numa grande série de casos, a expressão desta lectina em gliomas, cujos resultados são conflitantes. Desta forma, o principal objetivo deste estudo foi o de avaliar, de forma sistemática, a expressão da Gal-3 numa grande série de gliomas, sendo este o principal objetivo do presente estudo. A expressão da Gal-3 foi avaliada por IHQ em 132 casos de gliomas difusos: astrocitomas grau II OMS (n = 22), astrocitomas grau III (n = 15), GBMs (n = 57), oligodendrogliomas grau II (n = 12), oligodendrogliomas grau III (n = 16), oligoastrocitomas grau II (n = 3) e oligoastrocitomas grau III (n = 7). Os GBMs apresentaram uma expressão significativamente maior da Gal-3 em comparação com os oligodendrogliomas e astrocitomas grau III, permitindo-se distinguir, na maioria dos casos, estas entidades. De forma similar, por não expressarem a Gal-3, a avaliação IHQ desta lectina é útil no diagnóstico diferencial dos oligodendrogliomas grau II dos astrocitomas grau II. De forma interessante, observou-se que nos GBMs, que captam contraste aos exames de neuroimagem, não há expressão da Gal-3 no endotélio dos vasos com microproliferação vascular. Por ser uma ferramenta rápida e de fácil reprodutibilidade, a avaliação da expressão da Gal-3 é útil no diagnóstico diferencial entre os subtipos mais comuns de gliomas, principalmente os de alto grau. No entanto, estudos adicionais serão necessários, principalmente com a realização de ensaios funcionais a fim de esclarecer melhor o papel desta lectina nestes tumores e seus mecanismos moleculares regulatórios.

Saúde da Criança e do Adolescente

EFEITO DO POSICIONAMENTO CORPORAL EM RECÉM-NASCIDO PREMATURO EM USO DE CPAP NASAL

Marisa Afonso Andrade Brunherotti

Orientador: Prof. Dr. Francisco Eulógio Martinez.

Tese de Doutorado apresentada em 24/11/2011

Em recém-nascidos pré-termo em uso de CPAP nasal, o presente estudo teve o objetivo de avaliar o efeito do posicionamento corporal nos indicadores cardiorrespiratórios e na manutenção do sistema adequadamente acoplado às narinas. O estudo foi analítico, observacional, prospectivo, randomizado e do tipo crossover. Foram estudados recém-nascidos com idade gestacional de 26 a 33 semanas, com peso de nascimento menor que 2.000g, de ambos os sexos e em uso do CPAP nasal na instituição de nível terciário. Cada criança foi avaliada nos decúbitos, dorsal, lateral direito, ventral e lateral esquerdo, segundo ordem aleatória previamente estabelecida. As informações em cada decúbito foram coletadas de dez em dez minutos por um período de sessenta minutos. Foram avaliadas as características materno-infantis e frequência respiratória, saturação de oxigênio, frequência cardíaca, boletim Silverman-Andersen, pausas inspiratórias e deslocamento do dispositivo de duplo cateter nasal. As 16 crianças estudadas apresentaram média de idade gestacional de 29,7±2 semanas, peso de nascimento de 1.353±280 g, 3,0±2,5 dias de vida e 9 (56,3%) do sexo masculino. Ao início do estudo não necessitavam mais que 30% de oxigênio e estavam em CPAP com PEEP de 4 a 6 cmH₂O. Os indicadores cardiorrespiratórios apresentaram médias semelhantes enquanto as crianças permaneceram nos quatro decúbitos. Foi necessária maior frequência de correção do dispositivo nasal na posição prona (56,25%, p < 0,001). Neste estudo não foi encontrada uma posição de decúbito preferencial para recém-nascidos prétermo submetidos ao CPAP nasal e em condições clínicas estáveis, no entanto a posição prona apresentou maior dificuldade para a permanência do dispositivo nas narinas.

Saúde Mental

DEPRESSÃO MATERNA E O PERFIL DE SOCIALIZAÇÃO DE MENINOS E MENINAS EM IDADE ESCOLAR

Lívia Loosli

Orientadora: Profa. Dra. Sonia Regina Loureiro

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/10/2011

A depressão materna tem sido considerada uma condição de adversidade ao desenvolvimento infantil, observando-se quanto ao gênero peculiaridades e uma diversidade de achados em relação ao comportamento, à psicopatologia e ao perfil de socialização de crianças que convivem com a depressão materna. Objetivou-se: a) caracterizar o perfil de socialização de crianças em idade escolar que convivem com a depressão materna recorrente, identificando recursos e dificuldades relativos ao desempenho escolar e ao comportamento; b) comparar grupos separados pelo gênero; c) correlacionar desempenho escolar e comportamento. Foram avaliadas 40 díades mãe-filho, tendo as mães diagnóstico sistematicamente avaliado de Transtorno Depressivo Recorrente, e as crianças, com idades entre sete e 12 anos, foram distribuídas em dois grupos diferenciados pelo gênero: G1-20 meninos e G2-20 meninas. As crianças foram identificadas a partir da seleção das mães atendidas em serviços públicos de Saúde Mental da cidade de Ribeirão Preto - SP. Para a seleção dos participantes foram utilizados: a Entrevista Clínica e Estruturada para o DSM-IV (SCID), para confirmação diagnóstica das mães; e o teste das Matrizes Progressivas Coloridas de Raven - Escala Especial, para avaliação cognitiva das crianças e exclusão de déficit intelectual. Procedeu-se a avaliação do comportamento infantil por meio do Questionário de Capacidades de Dificuldades (SDQ) respondido pelas mães, e do desempenho escolar por meio do Teste de Desempenho Escolar (TDE) realizado pelas crianças. Os instrumentos foram aplicados segundo as recomendações técnicas e as avaliações foram realizadas em sessões individuais. Os dados foram codificados segundo as proposições dos instrumentos. Para a análise procedeu-se à comparação entre os grupos diferenciados pelo gênero em relação às variáveis desempenho escolar e comportamento e, na dependência da distribuição das variáveis, utilizaram-se os testes de Mann Whitney, do Qui-Quadrado, Exato do Qui-quadrado, Exato de Fisher, Análise de Regressão Logística Bivariada e Correlação de Spearman, adotando-se o nível de significância $p \leq 0,05$ em todas as comparações. Em relação ao desempenho escolar, não foram observadas diferenças significativas entre meninos e meninas. Aproximadamente metade do total de crianças apresentou dificuldades, principalmente relacionadas às habilidades aritméticas, e apresentaram indicadores de recursos nos domínios escrita e leitura. No que se refere ao comportamento, 42,5% do total de crianças apresentou dificuldades comportamentais, observando-se diferença estatisticamente significativa entre os gêneros em relação aos sintomas emocionais, com 80% das meninas apresentando indicadores de prejuízos nesta escala em comparação a 50% dos meninos. Para o grupo das meninas foram identificadas correlações negativas entre desempenho escolar e comportamento. Conclui-se que as crianças expostas à depressão materna recorrente apresentam dificuldades escolares e comportamentais independentemente do gênero, sendo que as meninas mostraram-se mais vulneráveis do que os meninos em relação aos problemas emocionais relativos a queixas somáticas e de insegurança, próprias de comportamentos internalizantes, não diferindo dos meninos quanto aos comportamentos externalizantes, os quais apresentaram mais recursos para lidar com tal adversidade. Considera-se que tais dados podem contribuir para o planejamento de intervenções terapêuticas diferenciadas para meninos e meninas em idade escolar que convivem com a depressão materna, com especial atenção para as meninas.

TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR (TDM) COM E SEM SINTOMAS PSICÓTICOS: INVESTIGAÇÃO NEUROQUÍMICA POR ESPECTROSCOPIA DE PRÓTON

Helena Pinho de Sá

Orientadora: Profa. Dra. Maristela Schaufelberger Spanghero

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/11/2011

Incapacitantes entre os transtornos mentais. Apesar disso, sua classificação ainda é baseada em sinais e sintomas, uma vez que suas causas e fisiopatologia ainda não foram totalmente esclarecidas. A presença de sintomas psicóticos é

relativamente comum durante um episódio depressivo e está associada a particularidades clínicas e biológicas, mas é subdiagnosticada na prática clínica e os processos fisiopatológicos que caracterizam este tipo de depressão foram insuficientemente estudados, ainda mais ao se considerar a extensa literatura acerca das formas não psicóticas de depressão. O objetivo principal deste estudo foi o de investigar a neuroquímica do giro do cíngulo anterior (CA), região cerebral constituinte da neurocircuitaria relacionada à fisiopatologia do TDM, na forma psicótica deste transtorno. Para este objetivo, foram comparadas as concentrações absolutas dos metabólitos entre os grupos portadores de TDM com e sem sintomas psicóticos e controles saudáveis por meio de espectroscopia de próton por ressonância magnética de hidrogênio (¹H-ERM). Secundariamente, analisou-se a interferência de variáveis sócio-demográficas e clínicas na medida desses metabólitos. Esperava-se que os pacientes com sintomas psicóticos (TDM-P) apresentassem alterações neuroquímicas tanto em relação ao grupo de controles saudáveis quanto a pacientes com depressão sem sintomas psicóticos (TDM-NP), independentemente da gravidade dos sintomas depressivos. Casuística e métodos. Os pacientes portadores de episódio depressivo maior (com e sem sintomas psicóticos), segundo o DSM-IV, foram recrutados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC-FMRP) e avaliados através da Entrevista Clínica Estruturada para o DSM-IV (SCID). A gravidade de sintomas depressivos e psicóticos, bem como o nível de funcionamento global foram avaliados por meio das escalas de Hamilton, BPRS e GAF (respectivamente). Foram coletadas informações a respeito de histórico de tentativas de suicídio, tratamento medicamentoso, comorbidades psiquiátricas e clínicas. Controles saudáveis da comunidade geral foram recrutados por convite da equipe de pesquisa. Utilizou-se ¹H-ERM de voxel único, com tempo de eco (TE) curto (31ms), em campo magnético de 3 Tesla para a avaliação do CA de 20 pacientes com TDM-P, 22 com TDM-NP e 20 voluntários saudáveis. Foram analisados valores absolutos do glutamato (Glu), glutamato mais glutamina (Gln+Glu), N-acetilaspártato mais N-acetilaspártato-glutamato (NAA + NAAG), Fosforilcolina mais Glicerol-fosforilcolina (PC + GPC), mio-inositol (Myo) e Creatina (Cr). Dados sócio-demográficos e clínicos foram analisados através de ANOVA e qui-quadrado, enquanto os níveis de metabólitos foram comparados através de MANOVA. Correlações bivariadas entre dados clínicos e metabólitos foram analisadas por teste de Pearson ou Spearman. O nível de significância estatística empregado foi o de $p < 0,05$.

Resultados. Pacientes com TDM-P apresentaram menor escolaridade e pior funcionamento global, tanto em relação aos controles quanto em relação aos pacientes sem psicose. Os grupos de pacientes não diferiram entre si em relação à gravidade dos sintomas depressivos. Em relação aos metabólitos, houve diferença significativamente estatística entre os grupos diagnósticos. O grupo com TDM-P apresentou níveis de Glu inferiores tanto em relação ao grupo TDM-NP quanto ao grupo controle e níveis de PC + GPC e de NAA + NAAG inferiores ao grupo controle (a redução deste último metabólito atingindo significância estatística em nível de tendência apenas. Entre os sexos, os níveis de Glu e de NAA+NAAG dos participantes do sexo masculino foram inferiores aos do feminino. Por fim, os níveis de Glu e Gln+Glu foram inferiores no sexo masculino do TDM-P em relação aos demais grupos e os de Cr foram inferiores no sexo masculino no TDM-NP também em relação aos outros grupos. No entanto, as diferenças em relação ao sexo não atingiram significância estatística, possivelmente por limitações do tamanho amostral.

Conclusão. Os níveis de metabólitos do CA sofreram interferência do diagnóstico e os resultados apontaram para efeito do sexo e da interação diagnóstico-sexo. As diferenças dos níveis de Glu, NAA+NAAG e PC+GPC entre os diagnósticos sugerem alterações de neurotransmissão glutamatérgica, metabolismo de membrana e integridade neuronal na TDM-P e corroboram os achados de outras áreas de estudo em depressão em psicose, que sugerem que a forma psicótica da depressão estaria mais associada ao estado de hipercortisolemia, e esta, por sua vez, levaria às alterações cerebrais compatíveis com as alterações encontradas no CA neste estudo. Além disso, os resultados apontam para a interferência do sexo nos níveis de Glu e NAA+NAAG, sugerindo um papel protetor dos hormônios femininos para o sistema glutamatérgico e ciclo do NAA. Ainda, este estudo não confirma hipóteses prévias de que as alterações biológicas entre os tipos de depressão seriam secundárias a maior gravidade de sintomas depressivos nos pacientes com TDM-P.

Saúde na Comunidade

GEOEPIDEMIOLOGIA DA DENGUE NO MUNICÍPIO DE ALFENAS, MG

Murilo César do Nascimento

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Rodrigues Junior

Dissertação de Mestrado apresentada em 21/10/2011

A incidência de dengue no Município de Alfenas - MG foi estudada, entre os anos de 2001 e 2010, por meio de estudo transversal, utilizando variáveis referentes à pessoa, tempo e lugar dos casos autóctones de dengue, cujas informações foram obtidas no Sinan; as variáveis socioeconômicas foram disponibilizadas pelo IBGE e dados cartográficos foram cedidos pela Prefeitura Municipal. Na análise descritiva utilizou-se a análise multivariada e a análise espacial para descrever o perfil epidemiológico dos casos e a distribuição espacial das residências segundo bairros urbanos, áreas do Programa Saúde da Família e setores censitários de agrupamentos socioeconômicos distintos. Observou-se uma heterogeneidade da distribuição espacial dos casos e a ausência de padrão das densidades espaciais. Os principais aglomerados de casos foram identificados em áreas descobertas pela Estratégia Saúde da Família, apesar de as distribuições de frequência terem sido semelhantes nos extratos socioeconômicos; tais características podem estar associadas à dinâmica da circulação viral na localidade, considerando-se a mobilidade interna e o fluxo humano, além da atuação gradativa das Equipes de Saúde da Família no Município.

A CONCEPÇÃO DE PROFESSORES SOBRE SAÚDE NA ESCOLA

Maisa Resende de Melo Ferraro

Orientador: Prof. Dr. Jorge Alberto Achcar

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/10/2011

O atual momento histórico aponta para uma reflexão acerca da escola e sua relação com a saúde dos escolares. Ao assumir uma visão bem mais alargada do que a da tradicional transmissão de conhecimentos, a escola torna-se o local de excelência para o desenvolvimento de atividades no âmbito da promoção da saúde, uma vez que as crianças despendem ali muitos anos de seu período de desenvolvimento físico, cognitivo e de formação pessoal e social. Nessa perspectiva, o professor exerce uma influência constante e ativa sobre os conceitos de saúde e doença dos seus alunos e pode estimulá-los à compreensão e adoção de hábitos saudáveis, podendo assim proteger a saúde dos escolares e até de seus familiares. O presente estudo tem como objetivo conhecer qual a concepção sobre Saúde na Escola de professores das escolas públicas estaduais inseridas no Projeto "Saúde e Prevenção nas Escolas" da cidade de Franca. Para tanto, foram selecionadas oito escolas em diferentes regiões de modo a representar todas as regiões da cidade. A pesquisa fundamentou-se na metodologia qualitativa e utilizou-se como principal técnica de coleta de dados a entrevista semi-estruturada. Foram entrevistados 15 professores. Para se encerrar as entrevistas, utilizou-se saturação dos dados. O estudo permitiu observar que, embora os professores apresentem conceitos sobre saúde, alguns mais ampliados, outros mais reduzidos, eles não estão bem preparados para atuarem em educação em saúde. Assim, este trabalho na escola ainda é um desafio, uma vez que a grande maioria dos profissionais da educação, apesar de bem intencionados, apresentam pouca formação em saúde, estando pouco preparados para atuarem como agentes de Promoção da Saúde na Escola.

HIPERTENSÃO ARTERIAL ENTRE IDOSOS: PERCEPÇÃO DA MORBIDADE E FATORES ASSOCIADOS AO TRATAMENTO

Patrícia Gonçalves de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Jair Lício Ferreira Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 25/10/2011

A Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) é uma doença de evolução clínica lenta e de caráter assintomático, que se associa frequentemente a alterações funcionais e estruturais dos órgãos-alvo e a alterações metabólicas, com consequen-

te aumento do risco de eventos cardiovasculares. A HAS é a doença que mais se destaca em idosos no Brasil, com proporções em torno de 50% e, na população adulta, estima-se prevalência em torno de 20%. Modificações de hábitos de vida são eficazes na prevenção e no controle da HAS, com melhora da eficácia anti-hipertensiva e diminuição do risco cardiovascular associado. O caráter assintomático faz com que os indivíduos com HAS apresentem dificuldades de adesão ao tratamento. O diagnóstico da HAS e seu tratamento são grandes desafios para o conhecimento do impacto da doença sobre a vida do paciente. O objetivo do estudo foi estimar a prevalência da HAS em idosos do município de Jaborandi/SP e avaliar fatores sociodemográficos, clínicos, a atividade física e a qualidade de vida (QV). Trata-se de um estudo descritivo transversal do tipo inquérito que utilizou como instrumentos os questionários: Mini-Exame do Estado Mental; Demográfico, socioeconômico e clínico; Baecke modificado para idosos; e QV específica para hipertensos. As variáveis foram analisadas pelo Teste Exato de Fisher, considerando significativo $p < 0,05$. Foram avaliados 82 idosos: 48 mulheres (58,54%) e 34 homens (41,46%), com predomínio do grupo etário 60-69 anos (45,12%), de cor branca (84,14%), com baixa escolaridade (média de 3,01 anos de estudo), baixa renda: classe D (54,88%) e classe E (31,71%) e com 82,93% dos idosos aposentados. A prevalência da HAS foi de 75,60% (77,08% para mulheres e 73,53% para homens). Apresentaram associação significativa as variáveis: HAS por Circunferência da cintura (0,011), por Classificação da pressão arterial (PA) ($< 0,001$), por Plano privado de saúde (0,03); QV por Saúde mental ruim em 30 dias (0,032), por Alcoolismo (0,023), por Tabagismo (0,005) e por Número de medicamentos em uso em 3 meses (0,018). Os resultados indicaram que a educação em saúde é imprescindível para que o paciente, sendo instruído sobre os princípios em que se fundamenta o tratamento, consiga exercer o controle adequado da PA, visando melhor qualidade de vida.

FATORES ASSOCIADOS A PNEUMONIAS ADQUIRIDAS NA COMUNIDADE, EM CRIANÇAS DE 6 MESES A 13 ANOS DE IDADE HOSPITALIZADAS

Fabiana Jorge Bueno Galdino Barsam

Orientador: Prof. Dr. Jorge Alberto Achcar

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/10/2011

Segundo a Organização Mundial de Saúde, as pneumonias adquiridas na comunidade são a principal causa de morte infantil, sendo responsáveis por 20% das mortes em crianças menores de 5 anos de idade, com tendência de aumento a cada ano. Nos países em desenvolvimento, as pneumonias da infância adquiridas na comunidade são consideradas um grave problema de saúde pública, requerendo-se a necessidade de implantar estratégias efetivas para o reconhecimento dos fatores de risco associados, objetivando intervenções efetivas sobre os mesmos.

Objetivos: Avaliar a influência dos fatores socioeconômicos, ambientais e do aleitamento materno na ocorrência de pneumonia em crianças maiores de 6 meses de idade, internadas em um hospital infantil.

Metodologia: estudo caso-controle em crianças de 6 meses a 13 anos internadas num hospital infantil no município de Uberaba-MG, no período de outubro de 2010 a abril de 2011. Foram descritas as características epidemiológicas e sócio demográficas relacionadas às internações e realizadas comparações entre as diversas variáveis. Realizou-se análise multivariada, para determinar as variáveis preditoras de internação por pneumonia, através de regressão logística.

Principais resultados: foram selecionadas 252 crianças, sendo 126 casos e 126 controles dos quais, 49,6% eram do sexo masculino com predomínio destes no grupo de casos (53,9%). Ao comparar os valores de tendência central das variáveis contínuas entre os dois grupos, observaram-se diferenças significativas [$p < 0,05$] respectivamente entre casos e controles na idade, peso, altura, níveis de hemoglobina, contagem de leucócitos totais, bastonetes, níveis de Proteína C Reativa e idade materna. Ao verificar as associações entre as variáveis independentes e a variável-resposta (presença de pneumonia), na análise multivariada por regressão logística, as seguintes variáveis mostraram-se associadas ao desfecho: amamentação > 3 meses (OR 0,14; [IC95%:0,06-0,30]), a ausência de comorbidades (OR 0,26; [IC95%:0,07-0,90]), a escolaridade materna < 8 anos (OR 2,5; [IC95%:1,10-6,0]), mãe não tabagista (OR 0,20; [IC95%:0,07-0,50]), ser único filho (OR 0,43; [IC95%:0,20-0,89]), idade da criança > 5 anos (OR 0,21; [IC95%:0,07-0,60]), intercorrências no pré-natal (OR 2,60; [IC95%:1,11-6,40]), ordem de nascimento da criança [$\geq 2^\circ$] (OR 2,90; [IC95%:1,50-6,70]) e ausência de tabagista no quarto (OR 0,36; [IC95%: 0,13-0,95]).

Conclusão: os achados deste estudo concordam em geral com a literatura brasileira e mundial e certamente contribuem favoravelmente para atuação mais efetiva sobre os fatores de risco relacionados com o processo da doença em questão.

PERFIL DA ATENÇÃO SECUNDÁRIA NO ÂMBITO DA POLÍTICA DE SAÚDE BUCAL, NO COLEGIADO DE GESTÃO REGIONAL DE JAÚ (CGR - JAÚ) - SP

Adriana Maria Fuzer Graef Tinós

Orientador: Prof. Dr. Antonio Luiz Rodrigues Junior

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/11/2011

Nas últimas décadas, houve uma redução significativa da cárie dentária na população infantil; porém, os índices de doenças bucais nos demais grupos populacionais permanecem altos. Na perspectiva de favorecer o acesso de todas as faixas etárias aos serviços de saúde bucal, em todos os níveis de atenção, foi criada, em 2004, a Política Nacional de Saúde Bucal (Brasil Sorridente), tendo como uma das principais frentes de atuação os Centros de Especialidades Odontológicas (CEOs), que oferecem à população os serviços de atenção secundária. Este estudo descritivo, do tipo levantamento, teve como objetivo descrever o perfil da atenção secundária em saúde bucal, oferecida pelos CEOs pertencentes ao espaço geográfico do Colegiado de Gestão Regional de Jaú (CGR-Jaú), localizados nos municípios paulistas de Bariri e Jaú, no período compreendido entre o início das atividades dessas Unidades e 31 de dezembro de 2009. Foram utilizados dados referentes à infra-estrutura e às características dos serviços: i) tipo de CEO; ii) presença de Laboratório Regional de Prótese Dentária (LRPD); iii) especialidades oferecidas; iv) origem dos encaminhamentos (no tocante ao nível de atenção); v) frequências de atendimento em cada especialidade; vi) situação dos tratamentos requisitados (se concluídos, não concluídos ou não realizados), e vii) tempo de duração dos tratamentos. Também se levaram em conta os dados relativos às características demográficas dos usuários - local de origem, sexo, idade - e ao fluxo desses usuários, no que tange a origem e destino. A obtenção desses dados deu-se por meio da revisão da totalidade dos prontuários de pacientes atendidos nesses CEOs e de consulta aos bancos de dados do Ministério da Saúde. Os CEOs do CGR-Jaú oferecem as especialidades mínimas exigidas para sua implantação, além da especialidade Prótese. Verificou-se que esses CEOs apresentaram predominância de usuários do sexo feminino. As maiores frequências de atendimento foram encontradas nas especialidades Prótese (30,3%) e Cirurgia (35,2%), nos CEOs de Bariri e Jaú, respectivamente. Observou-se ainda, no período objeto do estudo, que os municípios do CGR-Jaú, que possuem CEOs instalados, absorvem a grande maioria dos atendimentos, sendo 98,9% para o CEO-Bariri e 72,99% para o CEO-Jaú. Os reduzidos fluxos, em nível intermunicipal, sugerem a realização, por parte dos gestores de saúde que compõem este Colegiado, de revisão do Plano Diretor de Regionalização (PDR), o qual se constitui no instrumento utilizado para estabelecimento desses fluxos, bem como de avaliação da possibilidade de oferta desses serviços em nível municipal. Tais procedimentos fazem-se necessários, visando ao suprimento das demandas locais e garantindo, assim, o cumprimento de um dos princípios mais relevantes do Sistema Único de Saúde (SUS): a integralidade da atenção.

A ESPIRITUALIDADE E AS ATITUDES DE ESTUDANTES UNIVERSITÁRIOS SOBRE A DOAÇÃO DE SANGUE

Rodrigo Guimarães dos Santos Almeida

Orientador: Prof. Dr. Edson Zangiacomi Martinez

Dissertação de Mestrado apresentada em 21/11/2011

A transfusão sanguínea ou de componentes derivados é a base da hemoterapia moderna, pois permite sanar deficiências específicas e evita a exposição do receptor a componentes a ele desnecessários. Para possibilitar uma transfusão sanguínea é necessária uma doação de sangue. Nos dias atuais, a falta constante de doações de sangue pode ser caracterizada como um problema de saúde pública e que leva a uma constante busca de doadores jovens e saudáveis, dentre os quais se encaixam os estudantes universitários. Regulamenta as leis que a doação de sangue deve ser voluntária, anônima, altruísta e direta ou indiretamente não remunerada. Uma vez que o altruísmo é um dos princípios da espiritualidade esse estudo teve como objetivo verificar a associação entre a espiritualidade e a adesão ou intenção de realizar doação de sangue, entre uma população de universitários. Trata-se de um estudo quantitativo de delineamento transversal no qual participaram 281 universitários do programa de pós-graduação da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo (FMRP-USP). Após autorização do Comitê de Ética em Pesquisa da FMRP-USP (Parecer HCFMRP-USP 8508/2010), os dados foram coletados através de um questionário para caracterização sócio-demográfica e

identificação da prática da doação de sangue e da Escala de Bem Estar Espiritual (EBE). A EBE é constituída de 20 itens, dos quais 10 avaliam o bem-estar religioso (BER) e 10 o bem-estar existencial (BEE). Os dados foram agrupados e analisados por estatística descritiva e testes paramétricos. Entre os participantes, 206 (74%) eram de sexo feminino e 75 (26%) do sexo masculino, dos quais 210 (75,3%) responderam já ter realizado uma doação de sangue e/ou mencionaram intenção de praticar esse ato, 40 (14,3%) doam sangue periodicamente, 17 (6,1%) nunca doaram sangue e nem pretendem doar um dia, 12 (4,3%) nunca doaram sangue e nunca pensaram nessa possibilidade e 5 (1,8%) já realizaram um ato de doação e não pretendem retornar. Quanto ao bem estar espiritual, foram encontradas associações nos indivíduos que acreditam em Deus e baixa associação entre os indivíduos que se consideram agnósticos ou ateus. Quanto ao bem estar religioso existe maior associação nos indivíduos de religiões cristãs. Não existe associação entre o bem estar existencial e segmento religioso dos participantes. Os participantes que doaram sangue, que pretendem retornar para novas doações e que realizam a doação periodicamente ou que tendem a se tornar doadores de sangue, possuem familiares que já realizam a prática de doar e sangue e conversam com seus amigos sobre a importância do assunto. A maioria dos entrevistados se sentem livres a realizar e praticar suas crenças e convicções e possuem amigos próximos que por algum motivo desaprovam a doação de sangue. Não há evidências de associação entre bem-estar espiritual, religioso, existencial e doação de sangue. Conclui-se que na amostra de estudantes universitários estudada não existe associação entre espiritualidade e doação de sangue, mas que existe associação entre bem-estar espiritual e o sexo. Para que haja ações que levem a um aumento da doação de sangue é necessário maiores investigações sobre o assunto.

O CONHECIMENTO AUTORREFERIDO DOS ENFERMEIROS DA ESTRATÉGIA SAÚDE DA FAMÍLIA SOBRE O SISTEMA DE INFORMAÇÃO DA ATENÇÃO BÁSICA

Priscila Mina Galati

Orientadora: Profa. Dra. Aldaísa Cassanho Forster

Dissertação de Mestrado apresentada em 09/12/2011

No Brasil, a reorganização da Atenção Básica (AB) vem sendo realizada por meio da Estratégia Saúde da Família (ESF), constituindo-se como porta de entrada aos serviços de saúde em conformidade com os princípios do Sistema Único de Saúde (SUS). Na referida estratégia o enfermeiro desempenha ações assistenciais e gerenciais e para qual o Sistema de Informação de Atenção Básica (SIAB) deve ser constituído como ferramenta primordial no processo de trabalho das equipes. Neste contexto, o estudo propôs-se a identificar o conhecimento autorreferido dos enfermeiros da ESF sobre o SIAB e sua utilização. Para tal, realizou-se um estudo descritivo de análise quantitativa. A amostra constituiu-se de 39 enfermeiros da ESF pertencentes aos 26 municípios do Departamento Regional de Saúde (DRS)XIII - Ribeirão Preto. No estudo foi identificado, em relação ao perfil dos profissionais que 97% eram do sexo feminino, 57% estavam entre a faixa etária de 20 a 39 anos, 49% possuíam menos de 2 anos nas equipes e 70% não possuíam especialização em saúde da família ou saúde coletiva. O manejo do SIAB era feito por 92% dos enfermeiros, sendo 64% desses sem treinamento para sua utilização. Quanto ao conhecimento do sistema, foi identificado que 85% dos profissionais conheciam as suas fichas de coleta e consolidado de dados, e 72% referiam analisá-las antes de sua inserção no mesmo. As finalidades do manejo do SIAB pelos enfermeiros focaram-se em 28% para a alimentação mensal dos dados, 17% para as ações de avaliação, 19% para as ações de monitoramento. De forma que 50% dos profissionais consideraram-o como instrumento de avaliação e monitoramento. Outro apontamento do estudo foi que 62% das equipes não receberam devolutiva dos gestores em relação aos dados produzidos por elas e quando havia algum retorno era por parte da gestão municipal. A falta de devolutiva dos dados, segundo os profissionais, foi apontada em 33% pela falta de conhecimento dos gestores para as ações de monitoramento e avaliação, e 21% pela vinculação do sistema, apenas, ao incentivo financeiro do governo federal. A falta de devolutiva foi associada por 16% dos profissionais como uma das principais dificuldades em relação ao sistema, seguido de 15% pela falta de equipamentos adequados na área de informática, 14% pela deficiência de indicadores gerados pelo sistema e 13% pela falta de conhecimento em relação ao sistema. Neste estudo, mesmo com as limitações apontadas pelos profissionais em relação ao sistema, identificou-se que o SIAB foi visto como um instrumento importante nas ações de planejamento, monitoramento e avaliação, porém falta-lhes capacitação para que suas potencialidades possam ser exploradas, onde a utilização do sistema na rotina desses profissionais, enquanto ferramenta de trabalho, possa modificar e qualificar as práticas em saúde, sendo considerado um grande desafio para as equipes e gestores municipais. As fragilidades encontradas neste estudo refletem a necessidade de mudanças de práticas assistenciais e gestoras, de forma que

estas sejam importantes para a consolidação da ESF enquanto modelo de reorganização do sistema de saúde. Todavia o estudo trouxe a possibilidade de identificar opiniões, atitudes explícitas e conscientes do processo de trabalho dos enfermeiros, levantando dados concretos relacionados a utilização do SIAB, de forma que os resultados refletiram em informações valiosas e poderão ser comparados ao longo do tempo, viabilizando uma visão evolutiva da utilização desse sistema. Conclui-se com o estudo que os enfermeiros são os profissionais diretamente envolvidos com o SIAB, porém falta-lhes a capacitação necessária para explorar suas potencialidades, indicando a educação permanente como fator importante nesse processo; e ao referirem as suas dificuldades com o sistema, apontaram limitações técnicas e gestoras para a concretização de práticas eficientes no cotidiano das equipes de Saúde da Família.

PROBLEMAS RESPIRATÓRIOS E FATORES AMBIENTAIS: UMA ANÁLISE BAYESIANA PARA DADOS DE RIBEIRÃO PRETO

Estela Cristina Carnesca

Orientador: Prof. Dr. Jorge Alberto Achcar

Dissertação de Mestrado apresentada em 16/12/2011

Estudos envolvendo o meio ambiente estão sendo cada vez mais desenvolvidos devido ao fato dos níveis de poluição e das mudanças climáticas estarem causando a degradação da qualidade do ar e dos reservatórios de água de maneira alarmante nos últimos anos, comprometendo sobretudo, a qualidade de vida do ser humano. Dado que estes fatores são preponderantes nos agravos e complicações respiratórias dos indivíduos, buscou-se compreender com este estudo a relação entre as condições atmosféricas e os problemas respiratórios nos residentes do município de Ribeirão Preto, interior de São Paulo, onde há um elevado número de focos de queimadas nos períodos de estiagem e, consequentemente, altas concentrações de poluentes, como o material particulado. Considerando os dados mensais de contagem de inalações/nebulizações, foram assumidos diferentes modelos de regressão de Poisson na presença de um fator aleatório que captura a variabilidade extra-Poisson entre as contagens. A análise dos dados foi feita sob enfoque Bayesiano, utilizando métodos de simulação MCMC (Monte Carlo em Cadeias de Markov) para obter os sumários a posteriori de interesse.