

Resumos de Dissertações de Mestrado e Teses de Doutorado apresentadas na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP de outubro a dezembro de 2012

Biologia Celular e Molecular

SUBVERSÃO DAS FUNÇÕES DE CASPASE-1 E CASPASE-11 POR *Coxiella burnetii*

Larissa Dias da Cunha

Orientador: Prof. Dr. Dario Simões Zamboni

Tese de Doutorado apresentada em 01/10/2012

Os receptores intracelulares da família dos *Nod-like* (NLRs, do inglês *Nod-like Receptors*) cumprem um papel fundamental no reconhecimento de patógenos e no controle da infecção, a partir da sinalização de assinaturas moleculares de microorganismos patogênicos presentes no citoplasma da célula hospedeira. Dentre esses receptores, destacam-se aqueles que induzem o inflamassoma, uma plataforma molecular de ativação de caspase-1, culminando em respostas celulares importantes como secreção de citocinas, secreção não convencional de proteínas, piroptose e controle da infecção. Em contrapartida, patógenos intracelulares adquiriram ao longo do processo evolutivo diversas estratégias tanto para subverter o reconhecimento pela célula hospedeira quanto para modular suas funções, garantindo assim a manutenção do nicho replicativo ideal. Nesse contexto, a expressão de sistemas bacterianos de secreção e a secreção de efetores destacam-se como estratégias importantes na subversão do reconhecimento e das funções celulares do hospedeiro. Neste trabalho é demonstrado que *Coxiella burnetii*, patógeno intracelular altamente subversivo, é capaz de inibir a ativação de respostas do inflamassoma que dependem de caspase-11, como clivagem de caspase-1, ativação de IL-1 β e IL-1 α e formação de poros na membrana da célula hospedeira, em resposta a patógenos como *Legionella pneumophila* e *Escherichia coli*. Adicionalmente, identificou-se a proteína efetora IcaA de *C. burnetii* como a responsável pela subversão. IcaA é secretada pelo sistema de secreção Dot/Icm de *L. pneumophila*, homólogo ao de *C. burnetii*, inibindo a ativação do inflamassoma induzida por caspase-11 em resposta ao patógeno. Por fim, foi demonstrado que macrófagos nocautes de caspase-1 e caspase-11 são mais restritivos à multiplicação de *C. burnetii*, sugerindo que a ativação de respostas dependentes de inflamassoma pode favorecer o crescimento do patógeno.

DESENVOLVIMENTO DAS PERNAS POSTERIORES EM LARVAS DE *Apis mellifera*: EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL EW MORFOLOGIA DOS DISCOS IMAGINAIS

Carolina Gonçalves Santos

Orientador: Prof. Dr. Klaus Hartmann Hartfelder

Tese de Doutorado apresentada em 17/10/2012

A diferenciação das castas em *Apis mellifera* envolve vários mecanismos que, se compreendidos podem ajudar a elucidar questões da evolução desocialidade. A mudança da dieta no período larval, traduzida em alteração de níveis hormonais, serve de gatilho para alteração da expressão gênica que culmina com a produção de indivíduos com morfologia e fisiologia diferentes. Rainhas são a casta reprodutiva, enquanto as operárias são responsáveis pelo trabalho de manutenção da colônia. Além dos caracteres reprodutivos, outros órgãos são diferenciados entre essas castas. As operárias possuem modificações nas pernas traseiras utilizadas na coleta e transporte de pólen para a colônia que estão ausentes na rainha. As pernas do adulto se desenvolvem a partir de discos imaginiais, estruturas epidérmicas determinadas desde a fase embrionária. São estruturas que surgem inicialmente como espessamento da epiderme e que aumentam de tamanho

durante o desenvolvimento. Vários genes já foram previamente identificados comodiferencialmente expressos na formação das pernas de rainhas e operárias, contudo dada a complexidade dessa estrutura é possível que outros ainda desconhecidos estejam envolvidos nesse processo. Sendo assim, nesse trabalho foram utilizados discos imaginiais de larvas de rainhas e operárias durante vários estágios de desenvolvimento para análises histológicas e de expressão gênica. No início do desenvolvimento larval o epitélio do disco aparenta estratificação com as células cilíndricas com núcleos esféricos na região basal possuindo cromatina condensada, sendo que o no epitélio da bolsa peripodial do disco as células são achatadas. Durante a fase de alimentação larval há crescimento dessas estruturas, sem alteração da morfologia epitelial. Esse crescimento é proporcionado por divisão celular, evidenciada com a utilização de um marcador mitótico, anticorpo contra histona-3 fosforilada. Ao final da fase larval, durante a fase de tecelagem do casulo, tem início a diferenciação celular e distinção dos segmentos, que se tornam similares aos do adulto. Para as análises de expressão gênica foram utilizadas duas abordagens. Na primeira, RNA foi extraído do último par de discos imaginiais de pernas de rainhas e operárias no início da fase de tecelagem do casulo, onde ocorre a diferenciação celular, para a construção de bibliotecas subtrativas através da metodologia Representational Difference Analysis (RDA). Os fragmentos das sequências expressas (EST) foram sequenciados e analisados por bioinformática. As sequências relacionadas a genes de interesse e com maior representação nas bibliotecas foram selecionados para análise por PCR em tempo real (RT-qPCR). Seis sequências foram identificadas como diferencialmente expressas ($P < 0,05$) em ambas as castas. Em rainhas os dois fragmentos correspondem a tenectin e imunoglobulina-like e fibronectina III, ambas proteínas de adesão celular. Nas operárias as quatro sequências mais expressas correspondem a lectina I tipo C, Group 3. 1, Group 1. 37, Group 3. 8, sendo as três últimas inicialmente não previstas no genoma de *A. mellifera*. Além dessa abordagem não direcionada, também foi realizada análise do perfil de expressão dos genes do complexo achaete-scute, que codifica fatores transcricionais pertencentes à família bHLH (basic helix-loop-helix), envolvidos no comprometimento neuronal e padronização de cerdas no adulto, constituindo um alvo de interesse para o estudo no desenvolvimento de pernas na abelha melífera. Em *A. mellifera* são encontrados dois integrantes desse complexo denominados Ame/ASH (GB17237) e Ame/Ase (GB18627). As análises dos perfis de expressão por RT-qPCR desses transcritos revelaram que os níveis de expressão do gene Ame/ASH em operárias reduzem ao longo do desenvolvimento, enquanto aumentam em rainhas. Ame/Ase apresenta diferença de expressão marcante apenas em operárias durante a fase de alimentação. Contudo também observa-se inversão desse perfil quando se inicia a fase pupal, fase onde ocorre a diferenciação das estruturas casta-específicas relacionadas a coleta de pólen.

O TRATAMENTO COM ArtinM INSTITUÍDO *in vivo* E SEUS REFLEXOS SOBRE A BIOLOGIA DOS NEUTRÓFILOS

Marina Cavalcanti de Albuquerque da Veiga Conrado

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristina Roque Antunes Barreira

Tese de Doutorado apresentada em 31/10/2012

Ao interagir com glicanas de receptores da superfície de células, a lectina ArtinM é capaz de potencializar eventos da imunidade inata conforme demonstram ensaios feitos *in vitro*. Com o intuito de avaliar se o efeito de ArtinM de estimular a imunidade inata é reprodutível *in vivo*, camundongos tratados com a lectina foram desafiados com *Listeria monocytogenes*, bactéria de parasitismo intracelular que proporciona modelo adequado para estudos da imunidade inata. Constatou-se que o tratamento com ArtinM confere resistência contra o modelo de listeriose aguda. Buscou-se avaliar se neutrófilos, como importantes alvos de reconhecimento por ArtinM, poderiam estar implicados na geração de resistência contra a listeriose aguda murina.

Assim, camundongos BALB/c tratados, ou não, com a lectina ArtinM tiveram avaliados por citometria de fluxo as diferentes populações de células imunes esplênicas. Células Gr1+ foram significativamente mais frequentes em suspensões celulares obtidas dos animais que haviam sido tratados com ArtinM, do que dos não tratados. Neutrófilos obtidos da cavidade peritoneal de camundongos tratados com ArtinM e cultivados sob estímulo com antígenos de *L. monocytogenes* tinham expressão aumentada de CXCR2, TLR2, TLR4 e TLR5, em relação aos neutrófilos obtidos de controles não tratados. Além disso, o estímulo com antígenos de *L. monocytogenes* de neutrófilos peritoneais de camundongos tratados com ArtinM produziram maiores concentrações de IL-12p40 do que os neutrófilos de não tratados.

Além de mais numerosos e mais intensamente ativados, os neutrófilos obtidos de camundongos tratados com ArtinM também apresentaram exacerbação de suas propriedades efetoras, conforme indicam os seguintes parâmetros:

aumento da desgranulação, verificada por maior detecção de mieloperoxidase no sobrenadante de culturas; maior atividade microbica, já que menor número de CFU foi proporcionado pelas formas de *L. monocytogenes* fagocitadas por neutrófilos provenientes de camundongos tratados com ArtinM.

Esses resultados reforçaram a hipótese de que a resistência conferida pelo tratamento com ArtinM contra a listeriose aguda pudesse ser atribuída ao efeito exercido pela lectina sobre neutrófilos. Evidência mais impactante derivou-se da observação de que camundongos depletados de neutrófilos pela administração de anticorpos anti-Gr1+ deixaram de se beneficiar da administração de ArtinM, já que sucumbiram à infecção por *Listeria monocytogenes*.

Nossos resultados indicam que a resistência à infecção por *Listeria monocytogenes* conferida pela administração sistêmica de ArtinM é, em grande parte, atribuível aos efeitos exercidos pela lectina em neutrófilos, tais como a indução de produção de citocinas e de expressão de receptores importantes no combate a listeriose, a intensificação de suas propriedades efetoras, como desgranulação e atividade microbica.

INVESTIGAÇÃO DE MECANISMOS E ELEMENTOS ENVOLVIDOS NO PROCESSO DE REGULAÇÃO DE EXPRESSÃO GÊNICA EM *Leishmania*

Mônica Cristina Terrão

Orientadora: Profa. Dra. Ângela Kaysel Cruz

Tese de Doutorado apresentada em 14/11/2012

Protozoários do gênero *Leishmania* são responsáveis pelas leishmanioses e como eucariotos ancestrais são importantes organismos-modelo. Exibem características biológicas e processos moleculares incomuns entre os eucariotos como *trans-splicing*, transcrição policistrônica, e regulação da expressão gênica predominantemente pós-transcricional. De fato, os dados disponíveis indicam que os genes têm sua expressão regulada por um conjunto de estratégias como o transporte seletivo para o citoplasma, controle diferencial da estabilidade dos mRNAs e da taxa de iniciação de tradução ou do processamento, direcionamento ou degradação dirigida das proteínas. Os estudos sobre controle de expressão gênica em tripanossomatídeos, em grande parte, concentram-se em investigar o papel de regiões 3' não traduzidas (3' UTR), que associadas a proteínas, modulam a expressão gênica participando da seleção das sequências de RNA mensageiro a serem traduzidas. Como é alta a divergência de sequências nas regiões genômicas não codificadoras nos genomas de diferentes espécies de *Leishmania*, é provável que a conservação de sequências nessas regiões ocorram por pressão seletiva e atribui-se a elas potencial relevância funcional. Por isso, em nosso laboratório, Elton Vasconcelos construiu um banco de dados contendo as sequências conservadas (CICS) contidas entre as CDSs anotadas do genoma de *L. braziliensis*, *L. infantum* e *L. major*. O objetivo deste trabalho foi investigar o papel funcional destes CICS na regulação da expressão gênica. Para isso analisamos possíveis interações entre o CICS e proteínas do parasita por EMSA e *Pull-down* e utilizamos um gene repórter (NEO) para monitorar a relevância dos CICS sobre a modulação da expressão no contexto genômico original e em locus de expressão constitutiva. Pudemos identificar 13 proteínas ligantes em oito CICS investigados, resultado sugestivo do papel regulatório destes CICS e que criou a possibilidade de investigar essas proteínas para ampliar a compreensão da maquinaria de controle de expressão 8 gênica neste parasita. Foram criadas as ferramentas para investigação funcional de dois CICS que são comuns a transcritos de conjuntos de genes que se comportam como regulons transcricionais. Por fim, estão em andamento as análises funcionais dos transfectantes de *Leishmania* que permitirão compreender o papel dos CICS na modulação dos níveis de expressão dos genes ao longo do processo de diferenciação de promastigota metacíclico a amastigota.

LOCALIZAÇÃO SUBCELULAR DA ATAXINA-2 EM OVÁRIOS DE *Drosophila melanogaster* SUBMETIDOS AOS ESTRESSES TÉRMICO, OXIDATIVO OU NUTRICIONAL

Paula Fernanda Gomes

Orientadora: Profa. Dra. Maria Luisa Paço-Larson

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/11/2012

A ataxina-2 (dAtx2) de *Drosophila* pertence a uma família de proteínas conservadas evolutivamente cujo membro em humanos está associado com doenças neurodegenerativas. A função celular da ataxina-2 e sua implicação com essas

patologias são pouco conhecidas, embora estudos em diferentes organismos indiquem que esta proteína esteja envolvida com regulação pós-transcricional. Estudos bioquímicos sugerem que semelhante à sua ortóloga em humanos dAtx2 tem um papel direto na síntese de proteínas. De modo interessante, recentemente foi demonstrado que a dAtx2 é necessária para repressão mediada por miRNA e interage geneticamente com componentes do complexo RISC e de *P-bodies*. Assim como o descrito para células de mamíferos, experimentos de imunolocalização em células S2R+ mostraram que dAtx2 localiza-se em grânulos de estresse em condições de estresse térmico, indicando que a participação da ataxina-2 na repressão da tradução durante o estresse é conservada em *Drosophila*. Considerando estas observações, neste trabalho investigamos o padrão de distribuição subcelular da ataxina-2 em ovários de *Drosophila*, em condições fisiológicas e em resposta a diferentes condições de estresse. Para isto utilizamos dois anticorpos policlonais: α -dAtx2_N, específico para a isoforma dAtx2-B, e o α -dAtx2_C, dirigido para um fragmento presente em ambas as isoformas B e C. Em condições fisiológicas, α -dAtx2_N e α -dAtx2_C apresentaram marcação citoplasmática difusa nas células nutridoras e foliculares, mais intensa no citoplasma do oócito de folículos pré-vitelogênicos, e com padrão reticulado em oócito de estágios pós-vitelogênicos. Análises bioquímicas utilizando ambos os anticorpos concordaram com a localização das ataxinas-2 no retículo endoplasmático rugoso e polissomos. Em ovários submetidos a estresse térmico ou oxidativo, a marcação com α -dAtx2_C concentra-se em focos citoplasmáticos que co-localizam-se com GFP-Me31B em quase 100% e com focos de YFP-DCP1 em cerca de 70%. Essa localização da ataxina-2 em focos é abolida pela presença de cicloheximida, uma droga que interfere na formação dos grânulos de estresse e dos *P-bodies*. Por outro lado, em condições de estresse nutricional, o padrão de marcação com α -dAtx2_C das células ovarianas mostrou-se essencialmente igual ao de ovários controle. No conjunto, os resultados obtidos indicam que as ataxinas-2 de *Drosophila* são relocadas para grânulos citoplasmáticos relacionados com grânulos de estresse e *P-bodies* em resposta ao estresse térmico ou oxidativo, mas não em resposta ao jejum, sugerindo que estas proteínas possam regular a tradução de diferentes conjuntos de mRNAs em resposta ao estresse celular.

ANÁLISES COMPARATIVAS ENTRE MASTÓCITO SELVAGEM E DEFICIENTE PARA A EXPRESSÃO DE GANGLIOSÍDEOS

Vivian Marino Mazucato

Orientadora: Profa. Dra. Constance Oliver

Tese de Doutorado apresentada em 04/12/2012

Os gangliosídeos são componentes ativos da monocamada externa da membrana plasmática de células eucarióticas que, juntamente com o colesterol, esfingolipídeos e proteínas com modificações lipídicas são os maiores constituintes dos *lipid rafts*. Os componentes dos *lipid rafts* podem atuar como receptores para toxinas bacterianas e virais e também modular a função de receptores em vários tipos celulares, incluindo os mastócitos. O objetivo deste trabalho foi comparar o perfil proteômico de mastócitos da linhagem RBL-2H3 e de sua linhagem mutante D1, deficiente em gangliosídeo GM1 e dos gangliosídeos derivados do GD1b. Os lisados totais das células RBL-2H3 e D1 foram submetidos à análise proteômica através de eletroforese bidimensional seguida da análise do gel e de espectrometria de massa. Os resultados mostraram 14 proteínas diferencialmente expressas entre as duas linhagens. Dentre estas proteínas, a galectina-1 foi a única proteína expressa em células RBL-2H3 e ausente em células D1. No entanto, os resultados de RT-PCR mostraram que as células D1 expressam transcritos para galectina-1. Para estudar o papel da galectina-1 na organização dos *lipid rafts*, morfologia e desgranulação de mastócitos, ambas as linhagens celulares foram transfectadas com EGFP-galectina-1. Os lisados celulares de células expressando EGFP-galectina-1 foram submetidos à purificação por afinidade em coluna de α -lactose agarose para verificar se a atividade do domínio de reconhecimento de carboidrato da proteína expressa estava preservado. As células D1 transfectadas com galectina-1 apresentaram poucos *ruffles* na superfície quando observadas por microscopia eletrônica de varredura, o que indica que a falta da expressão da galectina-1 está relacionada com alterações na membrana plasmática. Nas células transfectadas com galectina-1 os microtúbulos apresentam uma organização com distribuição radial típica, diferente das células D1 onde os microtúbulos se organizam circunferencialmente, em forma de cesta. Nas células transfectadas com galectina-1 e estimuladas via Fc ϵ RI, o receptor e a LAT podem ser encontrados nas frações de *lipid rafts*, ao contrário do que ocorre em células não transfectadas. Entretanto, a transfecção da galectina-1 não foi suficiente para restaurar a desgranulação de mastócitos via Fc ϵ RI. Estes resultados mostram que a galectina-1 tem um papel na manutenção da estrutura dos mastócitos, a qual pode estar relacionada com a sua função na organização da membrana plasmática.

Clínica Cirúrgica

ANÁLISE MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DA NEOFORMAÇÃO ÓSSEA EM XENOENXERTO BOVINO MINERALIZADO SUBMETIDO A TRATAMENTO COM FRAÇÃO PROTÉICA DERIVADA DO LÁTEX NATURAL DA *Hevea brasiliensis*

Ricardo Violante de Souza

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Thoamzini

Tese de Doutorado apresentada em 24/10/2012

A fim de possibilitar o estudo e quantificação da neo formação óssea guiada (ROG) induzida pela fração protéica F1 purificada do látex natural, foram desenvolvidas cápsulas de silicone (MAFO) que abrigam cilindros de xenoenxerto de osso bovino (Genox Inorg, Baumer) tratados previamente, os quais, uma vez parafusadas na calvária de coelhos entravam em íntimo contato com o osso descorticado. Os animais foram divididos em grupos que continham cilindros de xenoenxerto tratados com: Grupo 1(G1) - soro fisiológico, Grupo 2(G2) - ácido hialurônico a 0,5% em soro fisiológico, Grupo 3 (G3) - solução de soro com ácido hialurônico 0,5% e F1 a 0,1%). Após diferentes períodos (7, 14, 30 e 120 dias) os 36 animais foram sacrificados e tiveram suas calvárias dissecadas, processadas e analisadas histologicamente. As imagens histológicas foram capturadas através do sistema Axion Vision (Zeiss), sendo digitalizadas e posteriormente analisadas com o programa Image J® para a obtenção da neoformação óssea e da neoformação medular no interior do enxerto ósseo mineral bovino (EOMB), obtendo os resultados em pixels/ μm^2 . Sendo que o valor médio obtido relacionado a neoformação óssea no período de: 7 dias, G1= 751708.1, G2= 538263.5, G3=207834.9 (G1 e G3 p<005, G2 e G3 p<005); 14 dias, G1=764488.9, G2=812046.7, G3=270546 (G1 e G3 p<005, G2 e G3 p<005); 30 dias, G1= 1100695, G2=903563.2, G3=993703; 120 dias, G1= 1313456, G2= 1040885, G3= 2018477 (G1 e G3 p<005, G2 e G3 p<005). O valor médio obtido relacionando a formação de medula óssea no período de 120 dias: G1 EOMB = 555609,4, G1 Nativo = 863353, G2 EOMB = 970029,7, G2 Nativo = 1128039, G3 EOMB = 1647326, G3 Nativo = 1133109 (G1 EOMB e G311 EOMB P<0,001; G2 EOMB e G3 EOMB P<0,001). Os resultados mostram um atraso na formação óssea no grupo G3 que ao final do período de 120 dias apresenta uma formação óssea mais acentuada que os demais grupos com uma intensa formação medular.

INFLUÊNCIA DA EXPRESSÃO DOS RECEPTORES DOS FATORES DE CRESCIMENTO EPIDÉRMICO NA SOBREVIDA DE PACIENTES COM CÂNCER GÁSTRICO. ANÁLISE PELO MODELO DE WEIBULL DE LONGA DURAÇÃO

Alexandre Andrade dos Anjos Jacome

Orientador: Prof. Dr. José Sebastião dos Santos

Tese de Doutorado apresentada em 26/11/2012

Introdução: Os receptores dos fatores de crescimento epidérmico estão envolvidos nos processos de diferenciação e proliferação celular. A superexpressão do Human Epidermal Receptor (HER) 2 possui valor preditivo para resposta ao trastuzumabe no câncer gástrico avançado. No entanto, o valor prognóstico desses receptores encontra-se indefinido.

Objetivo: Avaliar o valor prognóstico dos receptores dos fatores de crescimento epidérmico em pacientes com câncer gástrico.

Método: Estudo retrospectivo envolvendo 201 pacientes portadores de adenocarcinoma gástrico e junção esofagogástrica, estádios I a IV (American Joint Committee on Cancer - AJCC 6ª edição), submetidos à ressecção cirúrgica no Hospital de Câncer de Barretos entre janeiro de 2006 a dezembro de 2008. Foi realizado exame imunohistoquímico com pesquisa de HER1, HER2, HER3 e HER4, utilizando tissue microarray, em cada amostra de tumor primário. Escores 0 e 1+ foram classificados como negativos e 2+ e 3+ como positivos, tanto para expressão membranosa como citoplasmática. As correlações entre as expressões dos receptores e as características clínico-patológicas foram realizadas por meio do teste do qui-quadrado. Para a avaliação de concordância entre a expressão dos receptores foi utilizado coeficiente kappa de concordância e o teste de McNemar. Foi empregado modelo de Weibull de longa duração para a análise de sobrevivência. Para o estudo de variáveis prognósticas foi realizado modelo de regressão pela distribuição de Weibull de longa duração.

Resultado: A idade mediana foi de 62 anos. O tipo histológico intestinal de Laurén foi observado em 63% dos pacientes. O tempo de seguimento mediano foi de 30,26 meses. A fração de cura foi estimada em 51% (IC 95% 0,42 - 0,59). A prevalência da expressão membranosa de HER1, HER2 e HER4 foi de 9%, 17% e 15%, respectivamente. Foi encontrada expressão membranosa de HER3 em apenas um paciente. A prevalência da expressão citoplasmática de HER1, HER3 e HER4 foi de 41%, 57% e 17%, respectivamente. Através do modelo de regressão ajustado para idade, radicalidade cirúrgica, tipo de cirurgia, classificação histológica de Laurén, tratamento adjuvante, estágio TNM e receptores celulares, apenas o estágio Tumor Node Metastasis (TNM) apresentou-se como variável com influência prognóstica. A expressão de HER2 e HER3 esteve associada à idade mais avançada e à histologia intestinal de Laurén (p: 0,022 e p: 0,002, respectivamente).

Conclusão: Os métodos empregados no presente estudo nos permitem concluir que não houve influência prognóstica da expressão dos receptores dos fatores de crescimento epidérmico na amostra de pacientes estudada.

EFEITO DE INIBIDORES DA VIA NO/GMPC NO CHOQUE ANAFILACTÓIDE INDUZIDO POR COMPOSTO 48/80 EM RATOS

Agnes Afrodite Sumarelli Albuquerque Fagundes

Orientadora: Profa. Dra. Andrea Carla Celotto

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/12/2012

Introdução: Anafilaxia tem sido definida como uma síndrome aguda, sendo a mais grave manifestação clínica de doenças alérgicas. Muitas substâncias podem mediar o choque anafilático. Entre estas substâncias, a histamina, o principal produto de secreção de basófilos e mastócitos, induz a liberação de óxido nítrico (NO) e as consequentes manifestações cardiovasculares observadas no choque anafilático. O composto 48/80 (C48/80) pode ser utilizado para induzir o choque anafilático, uma vez que promove a liberação de histamina.

Objetivos: avaliar o efeito dos inibidores da via NO/GMP, o NG-nitro-L-arginina metil éster (L-NAME, um inibidor da NO sintase), o azul de metileno (AM, um inibidor inespecífico da guanilato ciclase) e o Índigo Carmim (IC, receptor α -adrenérgicos), no choque induzido por C48/80 em ratos.

Metodologia: Os animais foram divididos aleatoriamente em 11 grupos (n=6 em cada grupo): Controle, C48/80, AM, AM+C48/80, C48/80+AM, L-NAME, L-NAME+C48/80, C48/80+L-NAME, IC, IC+C48/80 e C48/80+IC. Os animais foram mantidos em ventilação espontânea e após a anestesia completa foram canuladas a artéria e veia femoral para aferição da pressão arterial sistólica (PAS) e administração das drogas, respectivamente. O L-NAME (1mg/kg), AM (3mg/kg) e IC (3mg/kg) foram administrados 5 minutos antes ou depois da administração do C48/80 (4.5mg/kg). A PAS e a sobrevida foram analisadas durante um período de 60 minutos. A PAS foi analisada a cada 10 minutos até 60 minutos ou a morte do animal, o que ocorrer antes.

Resultados: A administração de AM e IC resultou em PAS semelhante à do grupo controle, enquanto que com o L-NAME a PAS foi maior. No entanto, somente a PAS do grupo AM teve valor semelhante ao controle enquanto que as outras substâncias finalizaram com a pressão maior. Como profilaxia somente o AM e L-NAME melhoraram a PAS. Entre os grupos tratados, somente o L-NAME aumentou PAS e o AM, L-NAME e IC tiveram uma PAS semelhante ao grupo C48/80.

Conclusão: Neste modelo animal de choque anafilático houve aumento na produção de NO, mas o bloqueio da via NO/GMPC com o AM e L-NAME não restaurou a redução da pressão arterial causada pelo C48/80. Contudo, aumentaram a sobrevida quando aplicados como profilaxia ao choque. Já o IC não inibiu a diminuição da pressão arterial e não preveniu a morte dos animais devido ao choque anafilático.

CARACTERIZAÇÃO DO PERFIL DOS COMPONENTES DO SISTEMA DAS CININAS, ÓXIDO NÍTRICO E METALOPROTEINASES COMO MARCADORES NA RESTENOSE DE STENTS PÓS ANGIOPLASTIA PERCUTÂNEA TRANSLUMINAL PERIFÉRICA

Maurício Serra Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eli Piccinato

Tese de Doutorado apresentada em 18/12/2012

Angioplastia Transluminal Percutânea (ATP) é um procedimento minimamente invasivo utilizado para o tratamento de lesões ateroscleróticas ou não, em diversos leitos vasculares (coronário, cerebrovascular e vascular periférico). A

restenose é um fator relativamente comum de falha do procedimento, principalmente no leito vascular periférico. Diversos fatores foram correlacionados com o processo fisiopatológico da restenose, sendo que existe um processo inflamatório crônico onde estão envolvidos a produção de moléculas pró-inflamatórias, migração e ativação celulares e produção excessiva de matriz extracelular. O recrutamento e a proliferação de miofibroblastos e a síntese de proteínas da matriz extracelular são os determinantes da formação de neointima hipertrófica, com espessamento da parede vascular e redução do lúmen do vaso. Este processo denomina-se de hiperplasia intimal que é uma resposta universal dos vasos à injúria e é descrita como alterações que ocorrem em artérias com endotélio lesado e em enxertos sintéticos em artérias ou veias. O sistema caliceína-cinina (SCC) desempenha diversos efeitos diretos e indiretos sobre as células e mediadores celulares envolvidos no processo inflamatório. Além disso, o endotélio vascular está diretamente envolvido principalmente como regulador da produção de óxido nítrico (NO) através da ação da óxido nítrico sintase (NOS). Já foram demonstrados diversos efeitos de inibição plaquetária e das células musculares lisas (CML) pelo NO. A matriz extracelular (ECM) desempenha também um papel fundamental no funcionamento adequado de diferentes tecidos e órgãos no corpo humano, incluindo coração e vasos. Mudanças no ECM ocorrem na patogênese de muitas alterações cardiovasculares dentre elas a restenose pós-angioplastia. As metaloproteinases da matriz (MMP) são fundamentais no remodelamento da ECM tanto em condições fisiológicas quanto patológicas. Desta forma as MMPs tem um importante papel em doenças cardiovasculares como a aterosclerose e restenose. O objetivo deste estudo foi avaliar a restenose arterial devido à hiperplasia intimal (HI) e seu processo fisiopatológico decorrente da lesão endotelial pós-angioplastia com stent e avaliar o processo inflamatório e de remodelamento vascular subjacente, em pacientes portadores de doença arterial obstrutiva periférica (DAOP) do segmento ilíaco-femoro- poplíteo com indicação de tratamento. Foram estudados os seguintes sistemas e marcadores: Sistema caliceína-cininas utilizando a quantificação de proteínas (cininogênio de alto e baixo peso molecular- CAPM / CBPM), verificação da atividade enzimática (caliceína tecidual, caliceína plasmática e cininase II), determinação dos níveis de nitritos e nitratos para avaliação do óxido nítrico, dosagem das MMPs e contagem dos glóbulos brancos do sangue. Foi observado um aumento das concentrações dos substratos (CAPM e CBPM) e enzimas (Caliceínas plasmática e tecidual) do SCC nos pacientes que apresentaram restenose, indicando uma ativação desta via inflamatória nestes pacientes, enquanto que a atividade da cininase II não foi significativamente diferente entre os grupos. Na dosagem dos nitritos e nitratos não houve diferença entre os pacientes com e sem restenose apesar de um aumento significativo da concentração destas substâncias dentro do grupo com restenose ao longo do tempo avaliado. A quantificação das MMPs, por sua vez, não foi diferente entre os pacientes com e sem restenose, assim como a quantificação dos leucócitos. Em conjunto, nosso estudo encontrou evidências da contribuição do SCC no processo patológico de restenose pós ATP/stent. Além disso, foi demonstrada uma maior ativação deste sistema nos pacientes com restenose o que deve ter contribuído para um processo proliferativo da íntima.

Clínica Médica

EFEITO DE UMA SOBRECARGA LIPÍDICA SOBRE O METABOLISMO ENERGÉTICO E HORMÔNIOS REGULADORES DA FOME E SACIEDADE DE MULHERES PÓS-MENOPAUSADAS ESTRATIFICADAS DE ACORDO COM O VALOR DO ESTRADIOL PLASMÁTICO

Roberta de Souza Santos

Orientador: Prof. Dr. Júlio Sérgio Marchini

Tese de Doutorado apresentada em 09/10/2012

Climatério é a fase da vida da mulher em que ocorrem alterações hormonais que culminam em alterações metabólicas peculiares desse período, como por exemplo, diminuição do gasto energético e ganho ponderal. Com isso, os objetivos do presente trabalho foram mensurar o gasto energético e calcular a oxidação de carboidratos e lipídios, nos momentos basal e após uma sobrecarga lipídica, de mulheres pós-menopausadas com excesso de peso, estratificadas de acordo com o nível do estradiol plasmático (E_2), bem como analisar peptídeos reguladores da fome e da saciedade nos mesmos momentos. Os grupos de mulheres foram: grupo 1- $E_2 \leq 39$ pg/mL, 2- $40 \leq E_2 \leq 59$ pg/mL, e 3- $E_2 \geq 60$ pg/mL. As voluntárias receberam uma única refeição de 1100 kcal e 72% de lipídios, a qual caracterizou a sobrecarga lipídica. O gasto energético foi medido por

calorimetria indireta por um período de cinco horas, sendo que as mensurações foram realizadas nos momentos 30, 60, 90, 150, 210 e 270 minutos. Os peptídeos reguladores da fome e da saciedade foram analisados no momento basal, após 30 e 270 minutos da sobrecarga lipídica. Os grupos foram comparados pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, e para a comparação entre os momentos no mesmo grupo, foi utilizado o modelo de regressão linear com efeitos mistos, considerando $p < 0,05$ (*). Quarenta e quatro mulheres pós-menopausadas foram estudadas, com idade de 55 ± 5 anos (média \pm desvio padrão), índice de massa corporal de 31 ± 4 kg/m² e tempo de pós-menopausa de 8 ± 7 anos. De uma forma geral, o gasto energético de repouso foi de 1337 ± 194 * kcal/dia, aumentando para 1476 ± 295 * kcal/dia nos primeiros 30' pós-prandiais, e para 1513 ± 318 * kcal/dia ao final. Entre os grupos, não houve diferença estatística significativa. Em relação à oxidação de carboidratos, o valor basal foi de 151 ± 95 mg/min, diminuindo para 146 ± 95 mg/min nos primeiros 30', e para 122 ± 44 mg/min ao final (valores convertidos para mg/min para facilitar a leitura). O valor basal da oxidação lipídica foi de 37 ± 30 * mg/min, aumentando para 52 ± 24 * mg/min nos primeiros 30' pós-prandiais, e para 63 ± 21 * mg/min ao final. Entre os grupos, não houve diferença estatística significativa quanto à oxidação de carboidratos, e quanto aos lipídios, houve diferença apenas entre os grupos 1 (maiores valores, $p=0,03$) e 2 ao final do experimento, e entre os grupos 1 e 3 (maiores valores, $p=0,04$) no momento 150'. Quanto aos peptídeos, o valor basal da leptina foi de 47 ± 29 ng/mL, diminuindo para 44 ± 27 ng/mL nos primeiros 30' pós-prandiais, e para 43 ± 26 ng/mL ao final. O valor basal da grelina foi de 753 ± 522 pg/mL, diminuindo para 705 ± 420 pg/mL nos primeiros 30', e para 561 ± 343 pg/mL ao final. O valor basal do peptídeo YY foi de 92 ± 40 * pg/mL, aumentando para 153 ± 63 * pg/mL nos primeiros 30', e para 214 ± 66 * pg/mL ao final. Quanto à colecistocinina, o valor aos 30' foi de $1,8 \pm 2,3$ pg/mL, aumentando para $2,2 \pm 1,7$ pg/mL ao final. Entre os grupos, houve diferença estatística significativa apenas da colecistocinina entre os grupos 2 e 3 (maiores valores, $p=0,04$) ao final. Sendo assim, houve um aumento significativo e gradual do gasto energético após a sobrecarga lipídica; predomínio da oxidação de carboidratos em relação à de lipídios, havendo uma diminuição em sua oxidação e um aumento da oxidação lipídica após a sobrecarga. Quanto aos grupos, não houve diferença estatística significativa em relação ao gasto energético, bem como à oxidação de carboidratos e lipídios na maior parte do tempo. Os peptídeos leptina e grelina diminuíram após a sobrecarga lipídica, enquanto que o peptídeo YY e a colecistocinina aumentaram, não havendo diferença estatística significativa entre os grupos na maior parte do tempo. Dessa forma, as variáveis estudadas se mostraram independentes do nível de estradiol plasmático.

INFECÇÃO SECUNDÁRIA AO USO DE CATETER TEMPORÁRIO DUPLO LÚMEN EM PACIENTES RENAI SUBMETIDOS A TERAPIA RENAL SUBSTITUTIVA: ANÁLISE DE FENOTIPAGEM E GENOTIPAGEM DE CULTURAS

Viviane Ferreira

Orientador: Prof. Dr. José Abrão Cardeal da Costa

Tese de Doutorado apresentada em 17/10/2012

Introdução: pacientes internados em unidades de terapia intensiva estão suscetíveis a lesão renal aguda (LRA) ou agudização de doença renal crônica com altos índices de mortalidade devido ao diagnóstico tardio, infecções e tratamentos agressivos.

Objetivos: identificar a prevalência ou a ocorrência de infecção secundária ao uso de cateter temporário duplo lúmen (CTDL) utilizado para terapia renal substitutiva (TRS); os micro-organismos envolvidos na infecção dos CTDLs, "swab" da pele, hemoculturas (hmc) de veia periférica, dos CTDLs, dos cateteres venosos centrais (CVC) e pontas dos cateteres; comparar os micro-organismos isolados dos CTDLs com os outros sítios amostrados; comparar genotipicamente linhagens isoladas de *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* de um mesmo paciente em diferentes sítios e de diferentes pacientes, e comparar genotipicamente linhagens isoladas das pontas dos CTDLs de diferentes pacientes.

Metodologia: estudo observacional, prospectivo, epidemiológico de rastreamento e quantitativo realizado através de análises microbiológicas dos materiais: "swab" do local de inserção do CTDL antes da anti-sepsia; hmc do material do lúmen dos CTDLs, dos CVCs e da veia periférica na data de implante dos CTDLs. Na retirada dos CTDLs foram analisadas as culturas das pontas e hmc citadas. Nas culturas das pontas dos cateteres foi utilizado o método semiquantitativo. A diversidade genotípica foi acessada por Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) utilizando-se a enzima *SpeI* para *P. aeruginosa* e *XbaI* para a *K. pneumoniae*. O dendrograma de similaridade genotípica foi construído pelo método UPGMA utilizando-se o coeficiente de similaridade DICE. Os dados clínicos e epidemiológicos foram analisados por meio da análise univariada. Foi realizado Teste t de Student para variáveis quantitativas, Qui-quadrado para variáveis qualitativas e o teste de Fisher. Considerados níveis de significância estatística quando $p < 0,05$.

Resultados: foram avaliados 96 pacientes sendo 62, 5% masculinos, idade média 58, 35 anos. A infecção foi a principal causa de internação em 32, 4%, LRA em 67, 7% e 33, 3% evoluíram para óbito. Cateteres implantados na veia femoral foram 56, 2%, o tempo de uso foi de 1 a 10 dias em 67, 7%, 51% apresentaram colonização dos CTDLs, sendo que 14, 3% apresentaram infecção da corrente sanguínea (ICS) relacionada aos CTDLs e infecção do sítio de inserção em 10, 4%. Foram identificadas 14 isolados de *P. aeruginosa* de diferentes sítios em seis pacientes, sendo que três pacientes foram infectados por bactérias similares em diferentes sítios; e 14 isolados de *K. pneumoniae* de diferentes sítios em seis pacientes, sendo que cinco foram infectados por bactérias similares. Também foram identificadas 8 isolados de *P. aeruginosa* nas pontas dos CTDLs, sendo que 4 pacientes foram infectados pela mesma bactéria, e em 11 isolados de *K. pneumoniae*, 5 pacientes foram infectados pela mesma bactéria.

Conclusão: houve alta prevalência de colonização dos CTDLs, de ICS relacionada aos CTDLs e infecção no sítio de inserção. Nas culturas houve predomínio das bactérias *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *A. baumannii*. Pacientes foram infectados em diferentes sítios por um mesmo clone de *P. aeruginosa* ou de *K. pneumoniae*, e isolamento de linhagens com alta similaridade genotípica em diferentes pacientes sugere que ocorreu uma possível infecção cruzada entre os pacientes.

ASSOCIAÇÃO ENTRE MINI-EXAME DO ESTADO MENTAL E FORÇA DE PREENSÃO PALMAR EM IDOSOS

Eliana Marangoni Guidugli

Orientador: Prof. Dr. Júlio Cesar Moriguti

Dissertação de Mestrado apresentada em 01/11/2012

Síndromes demenciais interferem na autonomia e na independência do indivíduo e, com o envelhecimento, elas vem crescendo exponencialmente. O teste de triagem mais utilizado para detecção destas síndromes é o Mini-Exame do Estado Mental (MEEM), mas sua sensibilidade e especificidade ainda são baixas, principalmente em pacientes com maior escolaridade. Alguns estudos demonstraram associação entre a queda de valores de força de preensão palmar e piora cognitiva.

Objetivo: Avaliar se há associação entre força de preensão palmar e Mini-Exame do Estado Mental em idosos de comunidade. Metodologia: Foram selecionados pacientes do estudo FIBRA, residentes em comunidade, que apresentaram dados completos relacionados a idade, gênero, força de preensão palmar, mini-exame do estado mental e escolaridade. Os dados foram analisados pelo modelo de regressão linear múltiplo.

Resultados e discussão: 377 idosos foram avaliados, 134 homens e 243 mulheres. A média de idade foi 73, 85 anos (DP: 6, 52). O MEEM variou em média de 23, 9 pontos (DP: 4, 11), sendo que a força de preensão palmar máxima alcançou uma média de 24, 20 kgf. A média de força para as mulheres foi 20, 09 e para os homens 31, 66, e os gêneros foram avaliados separadamente. Em relação ao MEEM, houve um melhor desempenho do gênero masculino nos testes, cerca de 1, 5 pontos acima do gênero feminino. Na regressão linear, foi estimado que apenas 12% da variabilidade total dos dados de MEEM é explicada pelas variáveis Gênero, Idade, IMC e Força. As variáveis Idade e força são as que mais influenciam no escore de MEEM ($p < 0, 01$). Pelas estimativas, a cada ano que se aumenta na idade, o escore de MEEM abaixa em 0, 089 e a cada unidade de força que se aumenta, MEEM aumenta em 0, 094.

Conclusão: Há relação entre força e MEEM na população estudada, assim como existe a influência da variável idade sobre o MEEM.

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE INTERVENÇÃO DIETÉTICA E SUPLEMENTAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS ÔMEGA 3 EM PORTADORES DE DOENÇA ARTERIAL CORONARIANA COM HIPERURICEMIA

Mariana Assad

Orientador: Prof. Dr. André Schmidt

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/11/2012

A doença arterial coronariana (DAC) é caracterizada por uma inflamação crônica, na qual a proteína C reativa e o fibrinogênio são importantes marcadores. Muitos pacientes com DAC também apresentam níveis elevados de ácido úrico

(AU) e especula-se um possível papel inflamatório deste elemento. É sabido que o metabolismo dos ácidos graxos ômega 3 pode liberar substâncias anti-inflamatórias, mas o papel de nutrientes específicos pode não ser tão efetivo quanto o de uma dieta equilibrada.

Objetivo: Comparar os efeitos da suplementação de ômega 3 somado a uma dieta equilibrada com os efeitos apenas da dieta equilibrada nos marcadores inflamatórios de portadores de DAC hiperuricêmicos.

Métodos: Portadores de DAC com AU elevado foram randomizados e seguidos por 12 semanas: Grupo 1 (n=8), composto por pacientes que receberam apenas orientações gerais para controle dos fatores de risco (FR) cardiovasculares na primeira consulta; Grupo 2 (n=9), que recebeu orientações nutricionais para controle dos FR cardiovasculares; Grupo 3 (n=7), que recebeu as mesmas orientações de dieta e suplementação com óleo de peixe contendo ácidos graxos ômega 3. Nos três grupos foram feitas avaliações antropométrica, bioquímica e alimentar no início e ao final do programa, bem como dosagem de PCR, AU e FBN.

Resultados: Os três grupos eram semelhantes no início do estudo. Percebeu-se uma menor aderência ao tratamento nutricional por parte dos pacientes do Grupo 3, em relação ao Grupo 2. Verificou-se o aumento do peso (P=0,03) e IMC (P=0,03) nos pacientes do Grupo 1, enquanto no Grupo 2 houve diminuição destes mesmos parâmetros (P=0,01 em ambos) e para a circunferência abdominal (CA) houve uma tendência à redução (P=0,05). No Grupo 3 não houve alteração significativa do peso ou IMC, mas uma tendência à redução da CA (P=0,07). Ao final do estudo, não foi encontrada diferença estatística para os marcadores inflamatórios. Para o Grupo 1, houve tendência ao aumento do colesterol total (de 200, 4±54, 4mg/dL para 232, 9±63, 8mg/dL, P=0,05) e do triglicérides (263±142mg/dL para 374, 2±227, 5mg/dL, P=0,05), enquanto que o Grupo 3 teve redução significativa destes mesmos parâmetros (185, 5±39, 9mg/dL para 166, 1±27mg/dL, P=0,04; e 186, 8±74, 02mg/dL para 125, 3±24, 4mg/dL, P=0,04; respectivamente). Na avaliação do consumo alimentar, o Grupo 1 apresentou apenas um aumento significativo do consumo de cálcio (P=0,03). O Grupo 2 teve redução significativa do percentual lipídico (P=0,04), do consumo de gordura *trans* (P=0,01), e do consumo de sódio (P=0,004). Apresentou ainda aumento significativo da ingestão de vitamina C (P=0,002), e tendência ao aumento do consumo de cálcio (P=0,07) e potássio (P=0,06). Para o Grupo 3 houve redução do percentual de gordura saturada (P=0,04) e aumento do consumo dos ácidos graxos ômega 3 (P=0,01), com uma redução da relação w6:w3 (P=0,01).

Conclusão: Estes resultados mostram a importância de um acompanhamento nutricional para controle de FR como IMC e CA. Constatou-se que uma orientação nutricional ou a orientação nutricional somada a suplementação de ômega 3 por 12 semanas não foram capazes de reduzir os marcadores inflamatórios para DAC.

Farmacologia

EFEITOS HEMODINÂMICOS DO TEMPOL ASSOCIADO AO NITRITO DURANTE TROMBOEMBOLISMO PULMONAR EM CARNEIROS ANESTESIADOS

Ozélia Sousa Santos

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos

Tese de Doutorado apresentada em 19/10/2012

Muitas alterações hemodinâmicas associadas à embolia pulmonar aguda (EPA) são decorrentes da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) prejudicada na circulação pulmonar, que pode ser causada por diferentes fatores, dentre estes o estresse oxidativo e a hemólise intravascular. Sendo assim, a abordagem terapêutica através do uso de drogas que promovem aumento na biodisponibilidade do NO, incluindo nitrito de sódio ou por drogas que diminuem o estresse oxidativo tem sido bem investigada. Neste estudo nós examinamos se os efeitos hemodinâmicos benéficos do nitrito são melhorados quando associado ao tempol em um modelo de tromboembolia pulmonar aguda em carneiros e se estes efeitos são mediados pela inibição da hemólise intravascular gerada pela EPA. Para tanto a EPA foi induzida por administração de trombos autólogos em carneiros anestesiados e após 30 min foi iniciada uma infusão contínua de tempol (1, 0 mg/kg/min) e/ou de nitrito de sódio (5, 15, e 50 µmol/kg) ou solução salina. As medidas hemodinâmicas foram realizadas a cada 15 minutos. As concentrações de nitrito no sangue total, os níveis séricos de 8-isoprostanos e as concentrações plasmáticas de hemoglobina livre foram medidos. O consumo de NO pelas amostras plasmáticas também foram avaliados. EPA induziu

hipertensão pulmonar sustentada e aumentou o índice de resistência vascular pulmonar. O tratamento com nitrito ou tempol atenuou estes aumentos significativamente (cerca de 15-20%; $P < 0,05$). Quando ambas as drogas foram combinadas, encontramos uma tendência para hipotensão sistêmica significativa ($P < 0,010$) e resistência vascular sistêmica reduzida, mas não com cada droga sozinho. Infusão de nitrito, sozinho ou combinado com tempol, aumentou as concentrações de nitrito no sangue total por 40 a 50 μM ($P < 0,05$), enquanto que infusão do tempol não teve efeitos. Embora a EPA tenha aumentado as concentrações séricas de 8-isoprostano ($P < 0,05$), infusões de tempol ou nitrito, tanto isoladamente ou combinados atenuou os aumentos das concentrações de 8-isoprostanos (todos $P < 0,05$). Tanto as concentrações de hemoglobina plasmática quanto o consumo de NO aumentaram em proporção às alterações hemodinâmicas e correlacionaram-se significativamente. O tratamento com nitrito e/ou tempol atenuou o consumo de NO e hemólise intravascular induzidos pela EPA. Portanto, o nitrito exerce efeitos antioxidantes durante a EPA e o tempol não melhora os efeitos hemodinâmicos benéficos encontrados após a infusão de nitrito. Esta combinação de drogas, aparentemente, não oferece qualquer vantagem em comparação com os efeitos exercidos por cada droga sozinha. Além disso, concluímos que a hemólise contribui para hipertensão pulmonar liberando hemoglobina resultando no aumento do consumo do NO e diminuição da biodisponibilidade do NO na EPA e que o tempol e o nitrito protegem parcialmente estes efeitos.

ENVOLVIMENTO DE DIFERENTES SUB-REGIÕES DO NÚCLEO DORSAL DA RAFE DE RATOS NA MEDIAÇÃO DE RESPOSTAS DEFENSIVAS ASSOCIADAS À ANSIEDADE E AO MEDO

Ailton Spiacci Júnior

Orientador: Prof. Dr. Hélio Zangrossi Júnior

Tese de Doutorado apresentada em 30/10/2012

O núcleo dorsal da rafe (NDR) é a principal fonte de projeções serotoninérgicas que innervam o sistema límbico. Estudos mostram que o NDR é uma estrutura complexa, formada por distintas sub-regiões topograficamente organizadas e que apresentam diferentes propriedades neuroquímicas e funcionais. Tem sido proposto que duas vias serotoninérgicas oriundas do NDR, o trato prosencefálico e o trato periventricular, modulam diferentemente a expressão de comportamentos defensivos associados aos transtornos de ansiedade generalizada e de pânico. O presente trabalho investigou se as respostas defensivas de esquiva e de fuga evocadas no modelo do labirinto em T elevado (LTE), relacionadas à ansiedade generalizada e ao pânico, respectivamente, recrutam diferentes sub-regiões do NDR. Na primeira etapa do trabalho, usando a técnica de imunistoquímica para detecção da proteína Fos e da enzima triptofano hidroxilase, avaliamos a expressão da proteína Fos por neurônios serotoninérgicos e não-serotoninérgicos em diferentes sub-regiões do NDR, bem como em estruturas mesencefálicas vizinhas ao NDR, ou seja, o núcleo mediano da rafe (NMR) e substância cinzenta periaquedutal (SCP) de ratos em decorrência da expressão dos comportamentos de esquiva inibitória ou fuga no LTE. Nossos resultados mostraram que os comportamentos de fuga e de esquiva evocados no LTE recrutam distintas populações neuronais do NDR, do NMR, bem como da SCP. Enquanto neurônios serotoninérgicos localizados no nível médio e caudal do NDR, mais precisamente, nas sub-regiões dorsal (DRD), caudal (DRC) e interfascicular (DRI), bem como do NMR, estão envolvidos com a aquisição do comportamento de esquiva inibitória, neurônios não serotoninérgicos das asas laterais do NDR/SCP ventrolateral, bem como das colunas, dorsomedial e dorsolateral da SCP participam da expressão da fuga. Na segunda parte deste trabalho, avaliamos os efeitos da administração do agonista de receptores AMPA/cainato, ácido caínico, no DRD, DRC e asas laterais do NDR sobre os comportamentos defensivos avaliados no LTE. Os resultados mostraram que a injeção de ácido caínico, tanto no DRD, quanto no DRC, facilita a aquisição da esquiva inibitória e também prejudica a expressão do comportamento de fuga. Já, a estimulação das asas laterais do NDR com ácido caínico induz a expressão do comportamento de fuga, sem alterar o comportamento de esquiva. Efeito oposto sobre o comportamento de fuga foi observado com a administração nesta região de cloreto de cobalto, um inibidor da transmissão sináptica. Nossos resultados mostraram ainda que a administração de ácido caínico nas asas laterais aumenta a distância percorrida pelos animais em uma arena circular, resultado indicativo da evocação da resposta de fuga. Por fim, avaliamos o envolvimento da neurotransmissão mediada por receptores GABAA e por receptores CRF1 nas asas laterais do NDR, na expressão do comportamento de fuga expressa no LTE. Os resultados mostram que o bloqueio dos receptores GABAA nas asas laterais facilitou a expressão da fuga. Por outro lado a administração de antalarmina, antagonista de receptores CRF1 não alterou a expressão da resposta de fuga, porém prejudicou a aquisição da esquiva inibitória. Em conjunto, os resultados da primeira etapa indicam o envolvimento de diferentes sub-populações neuronais do NDR na expressão dos comportamentos

tos de esquiva e fuga avaliados no LTE. Nossos resultados também apontam o envolvimento de neurônios serotoninérgicos do NMR na expressão da esquiva inibitória, bem como a participação da SCP na resposta de fuga. Os resultados da segunda etapa indicam que neurônios serotoninérgicos localizados no DRD e DRC possam dar origem aos tratos prosencefálico e periventricular abordados pela teoria de Deakin & Graeff (1991). Embora as asas laterais do NDR estejam marcadamente envolvidas na expressão/regulação da resposta de fuga, populações neuronais específicas dessa região também estão envolvidas na modulação do comportamento de esquiva inibitória.

TRATAMENTO CRÔNICO COM NEBIVOLOL ATENUA O REMODELAMENTO VASCULAR HIPERTRÓFICO DA HIPERTENSÃO RENOVASCULAR 2-RINS, 1-CLIFE

Carla Speroni Ceron

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos

Tese de Doutorado apresentada em 21/11/2012

A hipertensão arterial é uma condição clínica grave acompanhada por alterações estruturais do aparelho cardiovascular. Os antagonistas dos receptores β_1 -adrenérgicos são drogas usadas na terapêutica anti-hipertensiva. O nebivolol é um antagonista seletivo dos receptores β_1 de terceira geração, que estimula a liberação endotelial de NO e diminui a ativação da β_1 -nicotinamida adenosina dinucleotídeo fosfato (NAD(P)H) oxidase. O metoprolol é um antagonista seletivo dos receptores β_1 de segunda geração, que não apresenta efeitos vasodilatadores. As metaloproteinases da matriz (MMPs), principalmente a MMP-2, são enzimas que participam ativamente do processo de remodelamento vascular. Elas passam de seu estado latente para seu estado ativo pela ação de proteases e espécies reativas de oxigênio (EROs). Como na hipertensão há aumento de EROs, de MMPs e remodelamento vascular, é possível que o nebivolol impeça o aumento dos níveis de MMPs vasculares e o remodelamento vascular hipertrofico associados à hipertensão, além do seu efeito de antagonismo do receptor β_1 . Primeiro, realizamos uma avaliação das alterações aórticas da hipertensão 2-rins, 1-clife (2R-1C), pois há poucas informações sobre essas alterações durante o desenvolvimento da hipertensão. Para isso, ratos hipertensos e controles foram estudados com 2, 4, 6 e 10 semanas após a indução da hipertensão. A pressão arterial sistólica foi monitorada semanalmente. As alterações na parede aórtica foram estudadas em hematoxilina/eosina (H&E), picrossirius e orceína. Foram avaliados também a atividade da NAD(P)H oxidase, a produção de ânion superóxido, a atividade gelatinolítica por zimografia *in situ*; os níveis e localização de MMP-2, MMP-14 e TIMP-2 por imunofluorescência zimografia e imunohistoquímica. No segundo protocolo, após 6 semanas de hipertensão foi iniciado o tratamento com metoprolol (Meto -20/mg/kg/dia) ou nebivolol (Nebi -10mg/kg/dia), realizado durante 4 semanas. Foram avaliados a pressão arterial sistólica, as alterações na parede aórtica por H&E, a atividade da NAD(P)H oxidase, produção de ânion superóxido, a atividade gelatinolítica, os níveis e localização de MMP-2 por imunofluorescência e zimografia em gel, e os níveis de nitrotirosina por imunohistoquímica. Observamos no protocolo temporal que a pressão foi gradualmente aumentada nos animais hipertensos quando comparado aos controles. Houve hiperplasia e hipertrofia da aorta, com aumento da deposição de colágeno e elastina. Observamos aumento nos níveis de estresse oxidativo, MMPs e atividade gelatinolítica em todas as semanas de estudo. Ao final do tratamento com metoprolol e nebivolol, observamos que a pressão diminuiu nos animais hipertensos, e que essa redução da pressão ocorreu de modo semelhante com os diferentes tratamentos. Os animais hipertensos apresentaram hipertrofia da aorta, aumento nos níveis de EROs, de MMP-2 e da atividade gelatinolítica. Essas alterações foram revertidas apenas pelo tratamento com nebivolol, mas não pelo metoprolol. Assim, o remodelamento da hipertensão 2R-1C parece estar estabelecido com duas semanas de hipertensão arterial, com elevados níveis de espécies reativas de oxigênio e MMPs, e o tratamento com nebivolol, mas não o metoprolol, atenuou o estresse oxidativo e o remodelamento vascular associado à hipertensão.

INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DA SINTASE INDUZIDA DO ÓXIDO NÍTRICO NA SUSCEPTIBILIDADE À HIPERTENSÃO ARTERIAL E NA RESPONSABILIDADE AO TRATAMENTO ANTI-HIPERTENSIVO

Gustavo Henrique Oliveira de Paula

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/11/2012

A hipertensão arterial é uma doença multifatorial que está relacionada a um aumento da expressão e atividade da sintase induzida do óxido nítrico (iNOS). Polimorfismos genéticos da iNOS podem modular sua expressão. O objetivo deste estudo foi avaliar se genótipos e haplótipos de polimorfismos no gene da iNOS (-1026C>A, 2087G>A e (CCTTT)_n) estão associados com hipertensão arterial e com responsividade ao tratamento anti-hipertensivo. Foram recrutados 115 hipertensos responsivos ao tratamento anti-hipertensivo (HT), 82 hipertensos resistentes (HR), e 113 indivíduos normotensos saudáveis (NT). As genotipagens foram realizadas utilizando reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real e PCR seguida de eletroforese capilar. O *software* PHASE 2.1 foi utilizado para estimar os haplótipos em cada grupo. Os genótipos variantes (GA+AA) para o polimorfismo 2087G>A foram mais comumente encontrados nos pacientes hipertensos (HT+HR) do que no grupo NT (P=0,016; OR=2,05). Não encontramos nenhuma associação de genótipos estudados com responsividade ao tratamento (P>0,05). O haplótipo SCA foi mais comumente encontrado nos pacientes hipertensos (HT+HR) do que no grupo NT (P=0,014; OR=6,07). Interessantemente, o mesmo haplótipo (SCA) foi mais comumente encontrado no grupo HT do que no grupo HR (P=0,012; OR=0,14). Nossos achados indicam que o polimorfismo 2087G>A e o haplótipo SCA do gene da iNOS influenciam a susceptibilidade à hipertensão arterial. Além disso, nossos achados também indicam que o haplótipo SCA está associado com responsividade ao tratamento anti-hipertensivo.

EFEITOS DA INIBIÇÃO DA SINTASE INDUZIDA NO ÓXIDO NÍTRICO NA FISIOPATOLOGIA DA PRÉ-ECLÂMPسيا EXPERIMENTAL

Lorena Machado Amaral

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos

Tese de Doutorado apresentada em 27/11/2012

A fisiopatologia da pré-eclâmpسيا não está completamente elucidada. No entanto, o aumento do estresse oxidativo e o comprometimento da atividade da sintase induzida do óxido nítrico (iNOS) têm sido envolvidos nesse estado crítico. O aumento do estresse oxidativo com o aumento das espécies altamente reativas, incluindo o superóxido, pode formar o peroxinitrito. Verificamos o papel da sintase induzida do óxido nítrico e do estresse oxidativo no modelo experimental de pré-eclâmpسيا caracterizado pela redução de pressão de perfusão uterina (RUPP). Este foi induzido em ratas wistar. Ratas grávidas do grupo RUPP tiveram a aorta clipada no 14º dia de gestação. Após uma incisão na linha média, um clipe de prata (0,203 mm) foi colocado em torno da aorta acima da bifurcação ilíaca; cliques de prata (0,100 mm) também foram colocados em ambos os ramos das artérias ovarianas direita e esquerda, que abastecem o útero. Ratas Sham operadas (ratas grávidas controles) e RUPP foram tratadas com veículo ou subcutaneamente com 1 mg/kg de N-[3-(aminometil)-benzil] acetamidina (1400W, inibidor da iNOS), durante 5 dias. Após o tratamento, a pressão arterial média foi verificada. Para determinarmos o estresse oxidativo foram avaliadas as concentrações plasmáticas de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), níveis do 8-isoprostano plasmático, atividade vascular da NADPH oxidase e produção de superóxido com dihidroetídeo. Além disso, utilizamos a técnica de imunohistoquímica para avaliar os níveis de nitrotirosina. A expressão vascular da iNOS foi verificada por western immunoblotting e concentrações de nitrito plasmático por quimiluminescência. Observamos um aumento da pressão arterial média em RUPP comparado com ratas grávidas controles e o tratamento com 1400W exerceu efeitos anti-hipertensivos. O tratamento com 1400W reduziu os níveis de 8-isoprostano, atividade vascular da NADPH oxidase e concentrações de EROs, expressão da iNOS e formação de peroxinitrito em RUPP 1400W em comparação com ratos não tratados RUPP. Nossos resultados sugerem que o 1400W atenua a hipertensão no modelo RUPP principalmente pela inibição da iNOS e formação de peroxinitrito.

TEMPOL MELHORA OS EFEITOS ANTI-HIPERTENSIVOS DO NITRITO DE SÓDIO POR MECANISMOS QUE FACILITAM A FORMAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO DERIVADO DO NITRITO

Jefferson Henrich Amaral

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos

Tese de Doutorado apresentada em 28/11/2012

Vários estudos sugerem que o nitrito (NO_2^-) a partir da dieta é convertido em óxido nítrico (NO) no ambiente ácido do estômago, promovendo assim efeitos cardiovasculares benéficos. A respeito disso, o composto 4-hidroxi-2, 2, 6, 6-tetrametilpiperidina-1-oxilo (tempol) tem efeitos anti-hipertensivos que foram atribuídos às suas propriedades antioxidantes, possivelmente aumentando a biodisponibilidade do NO. Objetivo: determinar se em pH ácido, como se encontra no estômago, pode ocorrer a formação do NO derivado do NO_2^- na presença de tempol, e assim, diminuir a pressão arterial em ratos hipertensos.

Métodos: Depois de 6 horas de jejum, a pressão arterial média (MAP) de ratos hipertensos não anestesiados modelo cloridrato de éster $\text{N}\omega$ -Nitro-L-arginina metil (L-NAME) foi avaliada. As alterações induzidas na PAM de doses crescentes de nitrito de sódio (NaNO_2 - 1, 6, 5 e 15 mg / Kg, por gavagem) foram avaliadas na ausência ou na presença de Tempol (18 mg / kg por gavagem 15 minutos antes de NaNO_2). As amostras de sangue, suco gástrico e aorta foram coletadas para ensaios bioquímicos e solução similar ao suco gástrico (SSG) foi utilizada para experiências *in vitro*.

Resultados: aumento das doses de NaNO_2 reduziu a PAM de maneira dose-dependente ($\text{PAM} = 147 \pm 5$ mmHg na L-NAME, e as mudanças causadas na PAM pelo NaNO_2 foram de $5, 7 \pm 1, 0, 16, 6 \pm 3$ e $25 \pm 6, 3$ mmHg respectivamente, (todos $p < 0, 05$). Embora o tempol sozinho não tenha produzido alterações na PAM de ratos hipertensos L-NAME ($p > 0, 05$), tempol aumentou significativamente os efeitos hipotensores induzidos por NaNO_2 em todas as doses ($p < 0, 05$), e foi eficaz na diminuição da formação de ROS no plasma e aortas de animais hipertensos ($p < 0, 05$). Os ratos que receberam NaNO_2 e tempol tiveram maiores concentrações de NO_2^- e NO_x no plasma que aqueles que receberam apenas NaNO_2 . Os experimentos *in vitro* com o suco gástrico e SSG mostraram que o tempol aumentou a formação de NO a partir do NO_2^- de modo concentração e pH dependente ($p < 0, 05$), de acordo com os resultados encontrados *in vivo*, onde foi utilizado o omeprazol para alterar o pH do estômago. Este grupo apresentou redução da pressão arterial menor quando comparada com grupo tratado com apenas NaNO_2 e também dos tratados com tempol + NaNO_2 ($p < 0, 05$). Finalmente, mostramos que a formação de NO, em pH ácido, devido à interação entre tempol e NaNO_2 no estômago teve efeito funcional, visto que, na presença do sequestrador de NO 2-(4-carboxyphenyl)-4, 4, 5, 5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide (C-PTIO), os tratamentos não reduziram a pressão arterial dos animais ($p < 0, 05$). Estes resultados demonstram pela primeira vez que o tempol aumenta formação de NO derivado NO_2^- *in vivo* e *in vitro*. Tempol pode exercer efeitos anti-hipertensivos através da promoção de formação de NO derivado do NO_2^- de maneira dependente do pH, sendo um possível mecanismo adicional dos efeitos hipotensores de tempol, em adição às suas propriedades antioxidantes.

EFEITO ANTIPIRÉTICO DOS PRINCIPAIS METABÓLITOS DA DAPIRONA SOBRE A RESPOSTA FEBRIL INDUZIDA POR LPS E PELO VENENO DO ESCORPIÃO *Tityus serrulatus*

David do Carmo Malvar

Orientadora: Profa. Dra. Glória Emília Petto de Souza

Tese de Doutorado apresentada em 11/12/2012

A pró-droga dipirona é um importante fármaco antipirético. Após sua administração, a dipirona é rapidamente convertida por hidrólise em 4-metilaminoantipirina (4-MAA), que é metabolizado em seguida a 4-formilaminoantipirina (4-FAA), 4-aminoantipirina (4-AA) e 4-acetilaminoantipirina (4-AAA). Entretanto, os metabólitos da dipirona com atividade antipirética, bem como o mecanismo de ação desses metabólitos ativos ainda não estão claros. Alguns autores propõem que o mecanismo de ação antipirético da dipirona depende da inibição da síntese de PGE2. Corroborando com esta proposta, estudos *ex vivo* e *in vitro* demonstraram que apenas dois metabólitos da dipirona, 4-MAA e 4-AA, inibem a síntese de PGE2, sendo por isso esses compostos considerados os metabólitos ativos da dipirona. Entretanto, nosso grupo demonstrou recentemente que o efeito antipirético da dipirona não está relacionado com a inibição da síntese de PGE2 no hipotálamo de animais injetados com LPS e ET-1. Além disso, também demonstramos que o veneno do escorpião

Tityus serrulatus (vTs) induz febre independente da indução da síntese de PGE₂, e que a dipirona abole a febre induzida por vTs, reforçando a hipótese de que o efeito antipirético da dipirona independe da inibição da síntese de PGE₂. Nossos resultados demonstram que após a administração intraperitoneal (i. p.) de dipirona (120 mg/kg) todos os metabólitos são rapidamente detectados no plasma, fluido cerebrospinal (CSF) e hipotálamo e, ainda, que o efeito antipirético da dipirona sobre a resposta febril induzida por LPS coincide com os tempos de maior concentração de 4-MAA e 4-AA nos três tecidos avaliados. Entretanto, o efeito antipirético da dipirona sobre a resposta febril induzida por vTs coincide apenas com os tempos de maior concentração de 4-MAA no plasma, CSF e hipotálamo. Adicionalmente, a injeção de LPS ou vTs não altera significativamente a farmacocinética dos metabólitos da dipirona. Também demonstramos que a administração i. p. com 4-AA (30-120 mg/kg) inibe de forma dose-dependente a resposta febril induzida por LPS (50 µg/kg) e que o 4-AAA (120-360 mg/kg), administrado por via i. p. , não altera a febre induzida por LPS, indicando que o 4-AA é um metabólito da dipirona com atividade antipirética e que a acetilação produzida pela enzima N-acetiltransferase polimórfica sobre o 4-AA, convertendo-o 4-AAA, extingue o seu efeito antipirético durante a resposta febril induzida por LPS. Adicionalmente, apenas o tratamento i. p. com 4-MAA (60-120 mg/kg) inibiu de forma dose-dependente a febre induzida por LPS (50 µg/kg) ou vTs (150 µg/kg), demonstrando que o 4-MAA é outro metabólito ativo, responsável pelo efeito antipirético da dipirona independente da inibição da síntese de PGE₂ observado após a injeção de vTs. Além disso, o 4-FAA (120-360 mg/kg, i. p.) é outro metabólito que também apresenta efeito antipirético durante a resposta febril induzida por LPS, entretanto, a alta dose antipirética e a curva temporal deste efeito sugerem que o 4-FAA tenha pouca ou nenhuma relevância no efeito antipirético da dipirona. Adicionalmente, nossos resultados demonstram que doses altas de 4-MAA (240-360 mg/kg), mas não dos outros metabólitos, induz hipotermia, sugerindo então que o 4-MAA é o responsável pelo efeito hipotérmico da dipirona. Finalmente, demonstramos que o tratamento intracerebroventricular com dipirona, 4-MAA ou 4-AA inibiu a resposta febril induzida por LPS, sendo a seqüência, em termos de potência antipirética, a seguinte: 4-MAA > 4-AA > dipirona. Esses resultados indicam que o 4-MAA e o 4-AA são metabólitos com efeito antipirético de ação central, entretanto não exclui o possível envolvimento de mecanismos antipiréticos periféricos adicionais.

Fisiologia

ESTUDO SOBRE A MODULAÇÃO DO ESTRÓGENO E DA CONDIÇÃO ALIMENTAR NA INTERAÇÃO DE LEPTINA E DE ÓXIDO NÍTRICO PARA CONTROLE DA FUNÇÃO REPRODUTIVA

Larissa Lopes Barbosa de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Celso Rodrigues Franci

Dissertação de Mestrado apresentada em 21/11/2012

A leptina é um dos mediadores da interação dos mecanismos de controle da função reprodutiva e do balanço energético. Porém, seus receptores não são expressos em neurônios produtores de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) no hipotálamo, indicando uma provável ação indireta através de interneurônios. Entre os prováveis neurônios, que modulam a secreção de GnRH, estão os neurônios NO (óxido nítrico). Nosso objetivo foi verificar se há interação da leptina e do NO em áreas encefálicas relacionadas ao controle da função reprodutiva, e se essa interação é modulada por estrógeno e/ou condição alimentar.

Métodos: Ratas Wistar, pesando cerca de 250 gramas, foram submetidas à ovariectomia e à estereotaxia para implantação da cânula intracerebroventricular (i. c. v.), uma semana antes do experimento. A partir do quinto dia, elas receberam tratamento com cipionato de estradiol (10 µg/rata) ou veículo (óleo vegetal, 0, 1 ml/rata). Um grupo foi mantido em jejum por 48 horas antes do experimento e o outro, alimentado normalmente. No dia do experimento, 2 horas após a injeção i. c. v. de salina isotônica (controle) ou leptina (3µg/1µl), os animais foram decapitados para a remoção dos céfalos. Área préóptica medial (MPOA) e hipotálamo médio basal (HMB) foram microdissecados para avaliação do conteúdo proteico de nNOS (óxido nítrico sintase) por Western Blotting e da expressão gênica de nNOS por RT-PCR. Os resultados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) multifatorial seguida de pós-teste de Duncan.

Resultados: A expressão gênica e de proteína nNOS não alteraram significativamente, no HMB e na MPOA de animais alimentados tratados com leptina, e/ou estrógeno. Porém, nos animais em jejum, aumentaram no HMB com

tratamento de estrógeno e leptina (i. c. v), assim como na MPOA com tratamento de estrógeno e leptina (icv), em relação ao tratamento com óleo e salina (i. c. v) e com estrógeno e salina (i. c. v). Porém, esta diferença não foi encontrada com o grupo tratado com óleo e microinjeção i. c. v. de leptina.

Conclusão: a leptina em presença de estrógeno aumentaria a expressão de óxido nítrico sintase (NOS) em áreas envolvidas no controle da função reprodutiva facilitando a atividade do eixo HPG. Assim, em situações de jejum quando há redução da leptina, a reposição de leptina só é efetiva para aumentar a expressão de óxido nítrico que ativa o eixo HPA, se estiver na presença de estrógeno.

Genética

CARACTERIZAÇÃO DO GENE NTCDKG; 2 EXPRESSO NO PISTILO DE *Nicotiana tabacum* L

Greice Lubini

Orientadora: Profa. Dra. Maria Helena de Souza Goldman

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/10/2012

A biologia da reprodução sexual de plantas é um campo de pesquisa de grande importância, já que a maioria dos alimentos consumidos pelo homem é composta de partes reprodutivas das plantas (frutos e sementes), oriundas do desenvolvimento de partes do pistilo fertilizado. Em *Nicotiana tabacum*, identificou-se um gene específico de estigma/estilete, SCII (*Stigma/style Cell-cycle Inhibitor 1*), que atua na inibição da proliferação celular (DePaoli et al. , 2011). Através de ensaios de *pull-down*, verificou-se a interação da proteína SCII com uma proteína quinase dependente de ciclina (CDK) (Strini, dados não publicados). Este trabalho visou à caracterização dessa nova CDK, ortóloga da CDKG; 2 de *Arabidopsis*. A sequência correspondente de *N. tabacum* (NtCDKG; 2) foi amplificada por PCR, a partir de cDNAs de estigmas/estiletos, clonada e sequenciada, o que permitiu a confirmação de sua identidade. A expressão de NtCDKG; 2 foi analisada nos diferentes órgãos vegetativos e reprodutivos, por qRT-PCR, o que evidenciou um perfil de expressão ubíqua. Ao estudar o perfil de expressão desse gene nos estigmas/estiletos dos doze estádios de desenvolvimento floral de *N. tabacum*, observa-se que NtCDKG; 2 é mais expresso nos estádios tardios do desenvolvimento em direção à antese, indicando uma função importante de sua proteína ao final do desenvolvimento do pistilo. Análises de expressão de NtCDKG; 2 em estigmas/estiletos, de plantas de *N. tabacum* com produção aumentada do hormônio auxina no pistilo, sugerem que NtCDKG; 2 é regulado transcricionalmente por esse hormônio. A expressão transiente da proteína de fusão NtCDKG; 2-GFP, em folhas de *N. tabacum*, evidenciou a localização nuclear da proteína em estudo. Também foram geradas plantas transgênicas estáveis com superexpressão e com silenciamento por RNAi de NtCDKG; 2. Apesar dos altos níveis de transcritos de NtCDKG; 2 nas plantas de superexpressão e dos baixos níveis nas plantas silenciadas, não foram observadas alterações fenotípicas macroscópicas nessas plantas. Adicionalmente, obteve-se a expressão da proteína NtCDKG; 2, fusionada a uma tag de histidina em sua porção N-terminal, em células de *Escherichia coli* BL21(DE3) *CodonPlusRP*. Através dos estudos realizados neste trabalho e análises conjuntas da literatura, é possível propor que NtCDKG; 2 codifique uma proteína que está envolvida no controle do ciclo celular nos estigmas/estiletos de *N. tabacum*.

ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO INS-VNTR COM A SUSCEPTIBILIDADE AO DIABETES *Mellitus* TIPO 1, TIPO 2 E GESTACIONAL NA POPULAÇÃO URBANA BRASILEIRA

Flávia Porto Pelá

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Antonio Donadi

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/10/2012

O diabetes *mellitus* (DM) é definido como doença metabólica, caracterizado pela hiperglicemia, causada pela disfunção da secreção de insulina, atividade da insulina ou ambas. É classificado em quatro classes clínicas i) diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1), ii) diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), iii) diabetes *mellitus* gestacional (DMG), iv) outros tipos

específicos. Dentre os genes conhecidos por influenciarem o mecanismo de produção e liberação de insulina no organismo humano, o gene da insulina (INS) é o mais bem caracterizado nas classes clínicas do DM. A região promotora do gene INS tem sido alvo de estudo em diversas amostras populacionais do mundo, devido a sua capacidade de modular os níveis de expressão de insulina no timo e no pâncreas, de acordo, com a classe alélica que compõe o genótipo do indivíduo. Localizada a 596pb acima do sítio de transcrição do gene da insulina, é estruturada em alelos minissatélites distribuídos em tandem (ACAGGGGTGTGGGG). O alelo *classe I* (30 - 60 repetições) tem sido associado com predisposição ao DM1, enquanto o alelo *classe III* (120 - 170 repetições) tem efeito de proteção ao DM1, no entanto, esse alelo tem apresentado correlação ao DM2, à obesidade em crianças e jovens e, aumento de riscos cardiovasculares. O presente trabalho tem como objetivo analisar o polimorfismo da região promotora do gene da insulina sobre os fenótipos do DM e a possível influência desse em características demográficas, clínicas e laboratoriais desses pacientes. Foram analisados 189 pacientes com DM1, 116 pacientes com DM2, 68 pacientes com DMG e 339 indivíduos controle da região de Ribeirão Preto, SP. O DNA genômico foi extraído por *salting-out*, seguido da amplificação e digestão enzimática do fragmento referente a região promotora do gene INS, o qual contém na sequência *downstream*, o polimorfismo -23HphI, cujo desequilíbrio de ligação ($r^2 \approx 1$) com o polimorfismo *INS-VNTR*, permite inferir os genótipos por intermédio da análise do polimorfismo -23HphI. Observamos que o alelo *classe I* e o genótipo *classe I: classe I* estão relacionados à predisposição ao DM1, enquanto o alelo *classe III*, predominantemente em homozigose, está associado à proteção ao DM1. Em relação ao DM2, o genótipo *classe I: classe III* foi associado à susceptibilidade a doença e, nenhum genótipo foi correlacionado ao DMG. De acordo com os dados demográficos, clínicos e laboratoriais, variáveis como gênero e pigmentação da pele têm influenciado na frequência do polimorfismo *INS-VNTR* em pacientes com DM1, como por exemplo, a maior frequência de homens com genótipo *classe I: classe I* no conjunto DM1. Em contrapartida, nesse mesmo grupo de pacientes, o genótipo *classe III: classe III* evidenciou maior susceptibilidade ao desenvolvimento de retinopatia ($p=0,0020$; $OR=0,05333$; 95% I. C. 0,007839 - 0,3629). Em pacientes com DM2, a comparação entre gêneros evidenciou maior frequência do genótipo *classe III: classe III* em mulheres. E, em relação ao DMG, os genótipos de *classe I: classe I* e *classe I: classe III* estavam associados ao menor nível de glicose no plasma sanguíneo em relação as pacientes que exibiam o genótipo *classe III: classe III*. Esse é o primeiro estudo de associação do polimorfismo *INS-VNTR* comparando as três principais classes clínicas de DM oriundas de uma mesma amostra geográfica, sendo evidenciado um perfil genotípico padrão de susceptibilidade de acordo com o tipo de DM.

SIMILARIDADES ENTRE O TRANSCRIPTOMA HUMANO E MURINO FOCANDO GENES SITUADOS EM REGIÕES DE SUSCEPTIBILIDADE AO DIABETES MELLITUS DO TIPO 1

Renata dos Santos Almeida

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

Dissertação de Mestrado apresentada em 24/10/2012

O diabetes *mellitus* do tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune que se desenvolve a partir da ação combinada de múltiplos fatores genéticos e ambientais, sendo caracterizada pela perda seletiva das células β produtoras de insulina nas ilhotas pancreáticas em indivíduos geneticamente susceptíveis. O HLA de classe II, localizado no cromossomo humano 6p21.3, representa uma das regiões genômicas mais importantes associadas ao DM1, embora evidências apontem para a participação de diversos outros loci na susceptibilidade à doença. Essas regiões cromossômicas poderiam apresentar genes funcionalmente ativos com perfis transcricionais semelhantes ao camundongo *Mus musculus*, muito utilizado como modelo animal para o estudo de doenças humanas. Para testar esta hipótese, foi realizada análise dos perfis transcricionais de linfócitos periféricos provenientes de pacientes com DM1 e camundongos NOD (*Non-obese diabetic*) diabéticos, focando os genes situados em regiões de susceptibilidade. Foram utilizados dados de microarrays do genoma funcional completo da plataforma Agilent (*Whole genome one-color Agilent 4x44k*) de dezenove pacientes e oito controles, e de camundongos NOD pré-diabéticos e diabéticos. A linhagem NOD foi utilizada no estudo, pois representa um modelo experimental para o estudo do diabetes autoimune e desenvolve a doença espontaneamente. Para a análise dos dados de microarrays foi utilizado o *software GeneSpring GX* e os programas *Cluster* e *TreeView*. A modulação transcricional dos genes foi estabelecida comparando-se os pacientes com os controles, e os animais diabéticos com os pré-diabéticos. Os loci de susceptibilidade ao DM1 humano foram definidos utilizando-se uma tabela curada disponível no banco T1DBase (<http://t1dbase.org>) e seus correspondentes murinos, segundo o banco de dados Homology Maps (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

.nih.gov/projects/homology/maps/). Foram considerados para o estudo apenas os pares de homólogos com expressão em linfócitos humanos e murinos conforme os dados disponíveis no banco BioGPS (<http://biogps.org>). Avaliamos se os genes murinos estavam situados em regiões de susceptibilidade (Idd) ao DM1 do camundongo, utilizando-se o TIDBase. Todos os genes humanos selecionados com homologia com camundongo foram mapeados quanto à localização cromossômica, buscando-se por regiões de sintonia entre as duas espécies por meio da ferramenta Synteny disponível no banco de dados *Ensembl Genome Browser* (<http://www.ensembl.org/>). Os pares de homólogos situados em regiões sintênicas foram então verificados quanto à similaridade de sequência de DNA e identidade protéica entre humano e camundongo, utilizando-se dados do *HomoloGene* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene/>). Foram analisados 463 genes humanos, dos quais 73 apresentaram correspondência em camundongo e expressão em linfócitos T. Dos 73 genes identificados, 31 deles apresentaram mesma modulação de *fold change* entre as duas espécies, com 12 mapeados em regiões de susceptibilidade murinas (Idd). Dos doze genes em regiões Idd, 4 se apresentaram induzidos: APOM (Apom), COL11A2 (Col11a2), HLA-DOB (H2-Ob) e PRR3 (Prr3); e 8 reprimidos: CYP21A2 (Cyp21a1), STK19 (Stk19), PHTF1 (Phtf1), RSBN1 (Rsb1), CDSN (Cdsn), TRIM39 (Trim39), VARS2 (Vars2) e IL21 (Il21). Foram identificados 59 genes em regiões de sintonia humano-camundongo, com 58 apresentando similaridade na sequência de DNA acima de 70% entre as duas espécies, e identidade de sequência de aminoácidos das respectivas proteínas variando de 61, 4 a 99, 7%. Esses resultados demonstram que a maioria dos genes estudados apresenta conservação funcional, como indicado pelo alto grau de identidade das proteínas. Além disso, evidenciou-se um compartilhamento de perfis de expressão de genes em regiões de susceptibilidade ao DM1 humano e murino, contribuindo para um melhor conhecimento das semelhanças entre o modelo animal (linhagem NOD) e o diabetes autoimune humano.

GENES DE HEXAMERINAS EM *Apis mellifera*: BUSCA DE FUNÇÕES ALTERNATIVAS DURANTE O DESENVOLVIMENTO

Juliana Ramos Martins

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Maria Gentile Bitondi

Tese de Doutorado apresentada em 13/11/2012

Introdução: Hexamerinas são proteínas de estocagem sintetizadas pelo corpo gorduroso de larvas de insetos e secretadas na hemolinfa, onde se acumulam. A função canônica das hexamerinas consiste em servir de reserva de aminoácidos e energia para a reconstrução de tecidos e órgãos durante a metamorfose. Este trabalho teve como objetivo a busca por evidências de funções alternativas das hexamerinas durante o ciclo de vida de abelhas *A. mellifera*.

Resultados: Os perfis temporais de expressão das quatro hexamerinas (HEX 70a, HEX 70b, HEX 70c e HEX 110), verificados por meio de SDS-PAGE e *western blot*, corroboram sua função canônica na metamorfose. Consistente com esta função, as quatro hexamerinas foram localizadas no citoplasma das células do corpo gorduroso utilizando-se anticorpos específicos e microscopia confocal. No entanto, funções adicionais puderam ser inferidas com base nos seguintes resultados: (1) *Foci* das quatro hexamerinas foram localizados nos núcleos de algumas células do corpo gorduroso em metamorfose, levando à hipótese de que têm função anti-apoptótica durante este período crítico do desenvolvimento; (2) Além disso, HEX 70a e HEX 110 foram localizadas no citoplasma e núcleo de células ovarianas e testiculares, indicando função no desenvolvimento e maturação das gônadas; (3) A co-localização de um análogo de timidina (EdU) e HEX 70a nos núcleos das células dos ovários, sugeriu fortemente uma função na proliferação celular. O *knockdown* de HEX 70a *in vivo* por meio de injeção de anticorpo específico prejudicou o crescimento dos ovários de rainhas, reforçando a hipótese de função na proliferação celular, (4) interferiu na esclerotização da cutícula de operárias, indicando função na formação do exoesqueleto e (5) provocou a antecipação da ecdise adulta, provavelmente em resposta à ausência (ou diminuição) dos aminoácidos derivados das hexamerinas. Foram investigados também aspectos da regulação dos genes de hexamerinas. A manipulação experimental da dieta alimentar e dos títulos do hormônio juvenil (HJ) interferiram claramente na expressão dos genes de hexamerinas. A potencial ação reguladora do HJ foi reforçada pelos resultados de análises por bioinformática da região 5'UTR de cada gene de hexamerina (Martins et al., 2010) que revelaram potencial motivo de ligação à proteína *Ultraspiracle* (Usp), um membro do complexo receptor do HJ no DNA. Procedimentos para expressar as hexamerinas *in vitro* em sistema de bactérias e purificá-las estão em progresso visando a caracterização da estrutura e de interações entre as subunidades.

Conclusão: Estes resultados ressaltam que as hexamerinas têm outras funções no ciclo de vida de *A. mellifera*, além da função já bem estabelecida de reserva de aminoácidos para a metamorfose.

ANÁLISE DO PERFIL TRANSCRICIONAL DO DERMATÓFITO *Trichophyton rubrum* DURANTE A INTERAÇÃO COM O AGENTE INIBIDOR ACRIFLAVINA

Gabriela Felix Persinoti

Orientadora: Proa. Dra. Nilce Maria Martinez Rossi

Tese de Doutorado apresentada em 07/12/2012

O dermatófito *Trichophyton rubrum* é um fungo filamentosso, antropofílico que infecta preferencialmente tecidos queratinizados, e é o agente etiológico mais frequentemente isolado em casos de dermatofitoses humanas. Recentemente, este fungo tornou-se a causa de infecções profundas e generalizadas em pacientes imunocomprometidos. As estratégias terapêuticas para controlar esse tipo de infecção apresentam várias limitações, como o aparecimento de linhagens resistentes e o número restrito de alvos celulares disponíveis. Novas estratégias terapêuticas são necessárias, sendo o foco de muitas investigações. Acriflavina é uma droga citotóxica com atividade antifúngica envolvida na inibição da topoisomerase. Embora seja um composto intercalante de DNA, já foi relatada a super expressão de genes que codificam enzimas envolvidas no transporte de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial e no transporte de ferro em resposta a esta droga, sugerindo um amplo espectro de efeitos celulares. A fim de melhor compreender seus efeitos moleculares, o objetivo deste trabalho foi avaliar o transcriptoma de *T. rubrum* em resposta a acriflavina. Os perfis transcricionais em resposta a esta droga foram analisados utilizando a metodologia de RNA-seq empregando o sequenciamento em larga escala *SOLiD System*. Foram comparadas quatro bibliotecas sendo uma o cultivo de *T. rubrum* em meio Sabouraud e três períodos de exposição à droga: 3 horas, 12 horas e 24 horas. Foram geradas aproximadamente 200 milhões de reads, as quais foram filtradas e alinhadas no genoma de *T. rubrum* disponível no *Dermatophyte Comparative Database - Broad Institute* utilizando os algoritmos *Bowtie* e *Tophat*. As reads alinhadas foram processadas utilizando os algoritmos *Cufflinks* e *Cuffdiff* para estimar a abundância dos transcritos e testar os genes diferencialmente expressos entre o controle e as condições de exposição à droga. Foram identificados 3.153 genes diferencialmente expressos. Após o estabelecimento de critérios mais estridentes, foram selecionados 490 genes diferencialmente expressos em resposta à droga. Estes genes estão relacionados a vários processos celulares como reações de oxidação e redução, transporte transmembrana, transporte de íons e metais e a patogenicidade. Os genes envolvidos com patogenicidade foram reprimidos, sugerindo que a droga interfira com processos importantes para instalação e manutenção da infecção no hospedeiro. Outros fatores de virulência como genes envolvidos no ciclo do glioxilato, também foram reprimidos pela droga. Além disso, genes da via de biossíntese do ergosterol foram reprimidos pela droga, o que constitui um provável novo mecanismo de ação de acriflavina. Os resultados obtidos nesta análise em larga escala contribuem com a elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos na adaptação ao estresse em dermatófitos e podem auxiliar o desenvolvimento de novas drogas antifúngicas. Além disso, estes resultados contribuem com a anotação do genoma e transcriptoma de *T. rubrum* e outros dermatófitos.

EFEITOS DA INIBIÇÃO TRANSCRICIONAL DE *Survivina* E *Cdk1* ATRAVÉS DO ÁCIDO TETRA-O-METIL NORDIHIROGUAIARÉTICO EM CÉLULAS DE GLIOBLASTOMA

Angel Maurício Castro Gamero

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga Tone

Tese de Doutorado apresentada em 14/12/2012

O Glioblastoma é um dos tumores mais agressivos do sistema nervoso central e entre as diversas neoplasias possui um dos piores prognósticos. Mesmo com as novas estratégias de tratamento, a sobrevivência de pacientes portadores de glioblastoma continua sendo muito baixa, sendo a temozolomida (TMZ) o agente mais comum usado no seu tratamento. O ácido tetra-o-metil nordihidroguaiarético (M4N), é um novo agente terapêutico que funciona como um repressor transcricional global de genes dependentes do fator de transcrição Sp1, tais como *Survivina* e *Cdk1*. No presente estudo, foram investigados os níveis de expressão do gene *Survivina*, suas variantes gênicas por *splicing* alternativo e *Cdk1* em amostras tumorais e linhagens celulares de GBM. Adicionalmente, foram investigados os efeitos do M4N em combinação ou não com TMZ e/ou radiação em culturas primárias e linhagens celulares de GBM. Ensaios de qRT-PCR foram realizados para determinar a expressão de mRNA das variantes gênicas de *Survivina* e *Cdk1*. A proliferação celular foi analisada pelo ensaio XTT e os níveis de apoptose e variações do ciclo celular foram determinados por citometria de fluxo. Análises de

combinação de drogas utilizando diferentes estratégias de administração (simultânea e seqüencial) foram realizados baseados no método de Chou-Talalay em linhagens celulares e culturas primárias de GBM. Para os ensaios de sobrevivência clonogênica, foram utilizadas as doses de 2, 4 e 6 Gy de radiação gamma. Todas as variantes por *splicing* alternativo de *Survivina* e o gene *Cdk1* foram expressos em amostras (n=16) e linhagens celulares (n=6) de GBM, exceto a variante *Survivina-2B* que apenas foi expressa nas linhagens celulares de GBM. O tratamento com M4N diminuiu a expressão de *Cdk1*, *Survivina* e a variante *Survivina-ΔEx3*, enquanto que houve um aumento da expressão da variante *Survivina-2B*. O M4N diminuiu a proliferação celular de forma isolada e sinérgicamente quando combinada com TMZ. Além disso, o M4N aumentou os efeitos da radiação, principalmente quando associado com TMZ. O M4N causou morte celular apoptótica, diminuição do índice mitótico e parada do ciclo celular principalmente na fase x G2/M. Os resultados do presente estudo sugerem a potencial aplicação clínica de M4N em combinação com TMZ e radiação no tratamento do GBM.

MELHORAMENTO GENÉTICO E SELEÇÃO DE COLMEIAS PARA AUMENTO DA PRODUÇÃO DE PRÓPOLIS VERDE NA APICULTURA COMERCIAL

Omar Arvey Martínez Carantón

Orientador: Prof. Dr. Ademilson Espencer Egea Soares

Tese de Doutorado apresentada em 14/12/2012

O melhoramento genético de abelhas *Apis mellifera* é uma ferramenta essencial e de caráter obrigatório para o sucesso e desenvolvimento do setor apícola. O nosso objetivo principal foi estruturar, estabelecer e fixar um plano de seleção e melhoramento genético com o objetivo de incrementar a produção de própolis por colmeia. Iniciamos este trabalho através da avaliação das características de seleção de comportamento higiênico, taxa de infestação de *Varroa*, incidência de *Nosema* em um grupo inicial de 50 colmeias. Neste grupo 40, 4% das colmeias apresentaram um comportamento higiênico acima de 90% com valores de 71 ± 28 , 9 ± 4 , 22 (média \pm DP \pm EP); taxa de infestação de *Varroa* 7 , 7 ± 4 , 0 ± 0 , 57 (média \pm DP \pm EP) e uma média de incidência de *Nosema* < 300 . 000 esporos/abelha. Após estas avaliações, selecionamos três colmeias com os seguintes parâmetros: $>90\%$ de comportamento higiênico, $<5\%$ de taxa de infestação de *Varroa* e ausência do esporo de *Nosema*. Rainhas virgens dessas três linhagens genéticas foram produzidas e introduzidas nos apiários de produção. Na segunda fase analisamos um total de 263 colmeias, das quais 12, 9% eram rainhas filhas das colmeias selecionadas na primeira geração. Avaliando esses apiários através do teste estatístico ANOVA encontramos diferenças estatísticas significantes entre as médias de produção de própolis para colmeias com duas, quatro e seis lâminas ($F= 25, 4301$, (p) $< 0, 05$). Observamos que 32% das colmeias produziram menos de 50 gramas, 37% entre 50 e 100 gramas e 31% mais de 100 gramas. Embora a troca de rainhas realizada nas colmeias utilizadas somente fosse de 18%, o resultado de produção das 34 rainhas selecionadas que foram aceitas mostrou que a produção destas colmeias, independentemente do apiário no qual estas rainhas foram introduzidas, foi sempre superior a média de produção individual de cada apiário. Do grupo de 263 colmeias selecionamos 60 colmeias segundo os resultados da coleta de própolis. Nestas observamos que o comportamento higiênico apresentou valores de 72 , 6 ± 25 , 0 ± 3 , 9 (média \pm DP \pm EP); taxa de infestação de *Varroa* 7 , 2 ± 3 , 0 ± 0 , 5 (média \pm DP \pm EP) e uma média de incidência de *Nosema* < 500 . 000 esporos/abelha. Após estas avaliações selecionamos dez colmeias com os seguintes parâmetros: $>95\%$ de comportamento higiênico, $<5\%$ de taxa de infestação de *Varroa* e ausência do esporo de *Nosema* para formar o grupo de rainhas selecionadas durante a segunda geração. Das dez colmeias selecionadas seis possuíam rainhas filhas da primeira geração, reforçando a importância de trabalhar com material previamente selecionado nas colmeias de produção. Apesar de termos selecionado somente a origem genética materna, pela introdução de rainhas virgens, nossos resultados de produção já mostraram ser promissores.

PROTEINAS DO TEGUMENTO DE ABELHAS *Apis mellifera* EM METAMORFOSE: IDENTIFICACAO POR ESPECTROMETRIA DE MASSA

André Fernando Ditondo Micas

Orientadora: Profa. Dra. Marcia Maria Gentile Bitondi

Tese de Doutorado apresentada em 19/12/2012

Como inseto holometabolo, *Apis mellifera* sofre metamorfose completa, apresentando grandes mudancas no forma e fisiologia quando passa de larva ate a fase larval (muda metamorfica). Apos esta muda, com o prosseguimento do

desenvolvimento, o tegumento pupal e extensivamente remodelado (cutícula e a epiderme subjacente) e trocada pelo tegumento adulto, definitivo, que passa por uma intensa melanização e esclerotização. Foi utilizada neste trabalho a eletroforese bidimensional e a espectrometria de massa para caracterizar as mudanças dos padrões proteicos nos tegumentos em desenvolvimento de operárias e zangões. Ao total foram identificadas 51 proteínas diferentes no tegumento torácico extraídos de larvas, pupas e adultos (adultos-faratos). Quatorze proteínas foram identificadas como genuinamente cuticulares: proteína Apidermina-3, 1-like, Apidermina-2, *Cuticular proteins analogous to peritrophins-3C e 3D*, AmelCPR3, 12, 16 e 27, Glicoproteína SgAbd-2-like, e cinco outras proteínas homologas a proteínas cuticulares de outras espécies de insetos contendo um domínio ligante a quitina. As proteínas diferiram principalmente quantitativamente entre as fases de desenvolvimento e sexo, embora poucas diferenças qualitativas tenham sido observadas. Por exemplo, Apidermina-2 é típica de tegumentos fortemente esclerotizado e pigmentado. As diferenças quantitativas foram destacadas pela comparação da abundância de algumas proteínas e seus respectivos RNA mensageiros (utilizando PCR em tempo real) entre as fases de desenvolvimento e entre os sexos. Destacouse que várias proteínas cuticulares mostraram mais do que uma forma molecular, aparentemente derivadas de modificações pós traducionais. Além do suporte experimental da expressão de genes de *Apis mellifera* preditos, nossos dados fornecem novas informações sobre as proteínas que atuam no tegumento em desenvolvimento.

Ginecologia e Obstetrícia

AValiação DA CAPACIDADE DE DIFERENCIAÇÃO DAS CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS MULTIPOTENTES DO LÍQUIDO AMNIÓTICO EM CÉLULAS DE LINHAGEM PULMONAR

Willys Tristão

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Duarte

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/10/2012

O líquido amniótico é constituído por uma população celular heterogênea. Entre esses tipos de células 1% possui a capacidade de aderir ao plástico, possui marcadores de células embrionárias e tem a capacidade de diferenciar-se em múltiplas linhagens celulares. Essa população recebe o nome de células estromais mesenquimais multipotentes (CEMM) do líquido amniótico e apresenta facilidades quanto à obtenção. A estrutura pulmonar possui uma complexa estrutura epitelial e incompleto entendimento do desenvolvimento potencial de anormalidades e doenças. Dessa forma, torna-se uma área de especial interesse para biologia das células-tronco, para medicina regenerativa e para a farmacologia. Os objetivos dessa pesquisa foram isolar e caracterizar as CEMM do líquido amniótico, avaliar sua capacidade de diferenciar-se em células de linhagem pulmonar e analisar a expressão gênica global após a indução. Foram analisadas amostras de seis pacientes que aceitaram participar do projeto após esclarecimento dos procedimentos e assinatura do termo de consentimento. As amostras foram cultivadas em meio base AmnioMax® e foram caracterizadas por cariotipagem, imunofenotipagem, microscopia de luz e diferenciação adipogênica e osteogênica. Para a indução da diferenciação em linhagens pulmonares as células foram tratadas por 18 dias com meio Small Airway Epithelial Cell Growth Medium (SAGM®) e avaliadas por imunofluorescência e Real-time PCR (RT-PCR) para a expressão e para produção da proteína surfactante do tipo C (SFTP-C). Visando avaliar a expressão global após a indução, foram selecionadas três amostras controle (não induzidas à diferenciação) e três amostras induzidas à diferenciação em células de linhagem pulmonar, e avaliadas pelo método de microarranjo. Os resultados para a caracterização demonstram que o cultivo celular não causou mudanças no número e nem na estrutura dos cromossomos. Mostrou também que essas células possuem uma população heterogênea, possuindo marcadores epiteliais, mesenquimais, baixa expressão de marcadores hematopoiéticos e positividade para a diferenciação em adipócitos e osteócitos. Para a indução de diferenciação em células de linhagem pulmonar, as CEMM do líquido amniótico apresentaram mudanças morfológicas e aumento na expressão do gene SFTPC, contudo, não foi possível apresentar positividade para a produção da proteína surfactante do tipo C pelo método de imunofluorescência, técnica sabidamente limitada. Por isto, avaliou-se a expressão gênica também pela técnica de RT-PCR detectando-se que o gene SFTPC foi expresso pela indução. A expressão gênica global após a indução da diferenciação em células de linhagem pulmonar apresentou diferença de fold change de 2, 5 para 179 genes e a ligação de alguns deles com vias relacionadas

com diferenciação celular e funções pulmonares. Nossos resultados sugerem que as CEMM do líquido amniótico possuem uma população mista com predomínio de marcadores mesenquimais e que essa heterogeneidade pode afetar no processo de diferenciação. Determinou também que as CEMM do líquido amniótico são capazes de diferenciarem-se em células de linhagem pulmonar e que apresentam mudanças significativas em genes que atuam nos processos envolvidos com diferenciação celular, especialmente com a diferenciação pulmonar.

PUBERDADE PRECOCE CENTRAL: EFEITOS DO TRATAMENTO COM ANÁLOGO DE GnRH NA ESTRUTURA ÓSSEA E NA COMPOSIÇÃO CORPORAL

Renata Iannetta

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Maria dos Reis

Dissertação de Mestrado apresentada em 13/11/2012

Objetivos: Avaliar o impacto do tratamento da PPC com o GnRHa na Quantidade (massa óssea) e na Qualidade óssea (colágeno) após a ocorrência da menarca, assim como na composição corporal, comparando-os com grupo controle. Avaliar a Prevalência de Obesidade pelas seguintes métodos: IMC, bioimpedância e DXA, correlacionando os achados. Comparar, entre os grupos avaliados, os marcadores de formação e reabsorção óssea.

Materiais e Métodos: Foi realizado um estudo caso controle em meninas entre 11 e 17 anos de idade após o período da menarca. No Grupo 1 (Grupo de Estudo) foram analisadas 27 meninas com histórico de Puberdade Precoce Central tratadas com GnRHa entre os anos de 2000 a 2010, e no Grupo 2 (Grupo Controle) 26 meninas com desenvolvimento puberal normal. Foram avaliados: Dados antropométricos= Peso, Estatura, Índice de massa corporal (IMC); Composição Corporal= através dos métodos de Bioimpedância (BIA) e Dual Energy X Ray Absorptometry (DXA- Hologic); Avaliação da Densidade Mineral Óssea (DMO) pelos métodos DBM Sonic BP (Igea) e DXA; Avaliação da Matriz Mesenquimal Proteica pelo DBM Sonic BP ; Dosagem de marcadores de remodelação óssea: Osteocalcina e CTX. O programa utilizado para análise estatística foi o SPSS 18.0 (SPSS Inc. , Chicago, IL, EUA). Os resultados relativos foram expressos como média (\pm desvio padrão), sendo o Teste t não pareado utilizado para realizar a comparação entre os grupos. O nível de significância utilizado foi $p < 0,05$.

Resultados: Com relação aos dados antropométricos, não houve diferença na estatura nos dois grupos (Grupo 1: $1,57m \pm 0,07$; Grupo 2: $1,57m \pm 0,07$) ($p=0,90$). Foi observado que o Peso (Grupo 1: $60Kg \pm 10,62$; Grupo 2: $48,78 \pm 7,30$) ($p<0,05$) e o IMC (Grupo 1: $24,38 kg/m^2 \pm 4,76$; Grupo 2: $19,73 kg/m^2 \pm 2,35$) ($p<0,05$) foram maiores no Grupo 1. Os valores de IMC estão aumentados em 59, 2% das pacientes com PPC e 15, 4% das pacientes do Controle. A prevalência de obesidade nas pacientes PPC foi de 22, 2%. Com relação a gordura corporal, pelo método padrão ouro, a DXA, observamos 96, 3% de percentual aumentado e 76, 9 % de obesidade, sendo que no controle foi de 61, 5% aumentado e 19, 23% de obesidade. A porcentagem de gordura determinada pela DXA foi maior no Grupo 1 ($39,26\% \pm 6,06\%$) que no Grupo 2 ($32,47\% \pm 4,39\%$) $p<0,05$, assim como pela BIA ($31,31\% \pm 4,61\%$ e $26,58\% \pm 5,87\%$, respectivamente) ($p<0,05$). Todas as DMO mensuradas não apresentaram diferença entre os grupos avaliados: DMO_f (Grupo 1: $0,93 \pm 0,11$; Grupo 2: $0,87 \pm 0,12$) ($p=0,097$); DMO_I (Grupo 1: $0,93 \pm 0,09$; Grupo 2: $0,88 \pm 0,12$) ($p=0,06$) e Densidade Volumétrica (DMO_v) (Grupo 1: $0,252 \pm 0,030$; Grupo 2: $0,255 \pm 0,034$) ($p=0,48$). Não houve diferença entre o AdSos (massa óssea) mensurado pelo DBM Sonic, nos Grupos 1 ($2067 \pm 51,66$) e 2 ($2072 \pm 46,52$) ($p=0,72$), nem nos valores de BTT (Colágeno Ósseo) (Grupo 1: $1,33 \pm 0,17$; Grupo 2: $1,31 \pm 0,17$) ($p=0,68$). Não houve diferença nos valores de CTX entre os grupos I ($1181,92 pg/ml \pm 645,83$) e grupo II ($1331,33 pg/ml \pm 626,03$) ($p=0,31$), porém níveis maiores foram encontrados de Osteocalcina no Grupo II ($4,05 ng/ml \pm 0,02$) em relação ao Grupo I ($2,20 ng/ml \pm 1,52$) ($p=0,02$).

Conclusão: Pacientes com PPC tratadas com GnRHa não apresentaram alterações da Massa Óssea e no Colágeno ósseo após o período da Menarca quando comparadas com controle. Existiu em nosso estudo uma prevalência maior de obesidade mensurada tanto pelo IMC como pela avaliação da composição corporal em pacientes com PPC tratadas com GnRHa. Níveis superiores de Osteocalcina foram encontrados nas pacientes do grupo controle em relação às que utilizaram GnRHa.

DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS DE OÓCITOS BOVINOS MATURADOS EM MEIO SUPLEMENTADOS COM FOSFOLIPÍDIO: UMA NOVA ESTRATÉGIA PARA MODULAR A CRIOTOLERÂNCIA OOCITÁRIA

Caroline Palmieri Pitangui

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

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/11/2012

O interesse em criopreservar tecido ovariano, embriões e oócitos, principalmente quando se trata de pacientes oncológicas que irão ser submetidas a tratamentos potencialmente esterilizantes, vem crescendo nas últimas duas décadas. Uma das técnicas propostas para se preservar a fertilidade destas pacientes é o congelamento de oócitos, podendo estes ser obtidos já maturados *in vivo* após a hiperestimulação ovariana controlada ou na forma de oócitos imaturos na ausência de estimulação, nestes casos procede-se a maturação *in vitro* (MIV) de oócitos pré congelamento. No entanto sabe-se que a criopreservação causa danos de viabilidade e perda do potencial reprodutivo destes oócitos. Alguns autores têm demonstrado que esses danos podem ser reduzidos por meio de cultivos que modulam o perfil lipídico tanto de oócitos como embriões, fazendo com que estes sejam menos susceptíveis ao congelamento. Uma das técnicas que permite a verificação da composição lipídica de células e outras estruturas é a espectrometria de massas. Os objetivos deste estudo foram comparar o perfil lipídico de oócitos maturados *in vitro* na presença ou ausência de PL e correlacionar com o perfil lipídico e desenvolvimento embrionário dos embriões produzidos *in vitro*. Além disso, avaliamos o perfil lipídico dos meios de maturação usando oócitos bovinos como modelo experimental. CCOs foram maturados em meio TCM ou TCM + PL, contendo 10% de soro fetal bovino, 0,5 µg/ml de FSH, 5 ng/ml de LH e 1 mg/mL de 17β-estradiol em atmosfera úmida, com 5% de CO₂ durante 24 horas. Após a MIV, os oócitos foram desnudados mecanicamente, lavados em PBS e armazenados a -80 ° C, até a análise de perfil lipídico. Oócitos, meios de maturação e blastocistos foram submetidos à técnica de MALDI-MS (ionização e desorção a laser assistida por matriz /espectrometria de massas). Diferenças no perfil lipídico foram identificadas por PCA (análise de componentes principais). O perfil lipídico dos meios de maturação determinado por MALDI-MS permitiu a diferenciação entre TCM e TCM + PL. No entanto, a análise dos oócitos maturados *in vitro* demonstrou que o perfil lipídico dos grupos controle ou suplementado com PL não foram diferentes. Da mesma forma, não foram observadas diferenças no perfil lipídico e na embriogênese dos embriões resultantes. No entanto, diferenças no perfil lipídico entre COC e oócitos desnudos (ODs) maturados *in vitro* foram detectadas. Oócitos maturados com as células do cumulus contêm íons PC com maiores graus de insaturação dos resíduos de ácidos graxos, enquanto ODs contêm espécies de PC com ácidos graxos insaturados (18:0) ou monoinsaturados (18:1). O MALDI-MS permite a obtenção de perfis lipídicos informativos para meios de cultura e oócitos maturados *in vitro*. A identificação de mudanças no metabolismo lipídico de oócitos durante a MIV pode contribuir para determinar a suplementação lipídica adequada dos meios de MIV e soluções de vitrificação, contribuindo para otimizar os protocolos de criopreservação de oócitos humanos.

AVALIAÇÃO DA SENSAÇÃO DE FOME, DO CONSUMO ALIMENTAR *ad libitum* E DA RESPOSTA PÓS-PRANDIAL DA GRELINA E DA INSULINA EM MULHERES OBESAS COM E SEM SÍNDROME DO OVÁRIO POLICÍSTICO

Camila Cremonezi Japur

Orientador: Prof. Dr. Marcos Felipe Silva de Sá

Tese de Doutorado apresentada em 30/11/2012

A obesidade é uma doença muito prevalente em mulheres com Síndrome do Ovário Policístico (SOP). No entanto, a literatura não é consistente para explicar as causas da maior prevalência de obesidade em mulheres com SOP. Estudos têm demonstrado que mulheres com SOP apresentam problemas na regulação da grelina entre o período pré- e pós-prandial e maior predisposição à resistência insulínica (RI). A hipótese postulada no presente estudo foi a de que as mulheres obesas com SOP apresentariam maior fome pré-prandial e maior consumo alimentar *ad libitum*, e menor supressão pós-prandial de grelina em relação à mulheres obesas sem SOP (controle). O objetivo do estudo foi avaliar a sensação de fome, o consumo alimentar *ad libitum* a resposta pós-prandial da grelina e da insulina em mulheres obesas com e sem

Síndrome do Ovário Policístico. Este estudo experimental foi aplicado em 53 mulheres obesas, 30 com SOP e 23 controles. Inicialmente foi feita uma avaliação das características sócio-demográficas, antropométricas e de composição corporal, do consumo alimentar habitual e da grelina, insulina, testosterona, SHBG e glicemia de jejum para a caracterização da amostra. O consumo alimentar *ad libitum* foi quantificado pela pesagem da panela com o alimento oferecido antes e após a refeição. A sensação de fome foi avaliada por escalas subjetivas analógicas de 100mm nos períodos pré- (0 min) e pós-prandiais (15, 45, 75 e 135 min após o início da refeição). Nesses mesmos tempos, foram analisados grelina, insulina e glicemia.

Contrariando a hipótese proposta, os resultados mostraram que as mulheres com SOP não apresentaram maior fome (SOP: 59 ± 26 x controle: 51 ± 32 ; $p=0,40$) nem maior consumo alimentar *ad libitum* (615 ± 197 kcal x 583 ± 217 kcal; $p=0,60$), e as análises da grelina, insulina e glicemia nos períodos pré- e pós-prandiais também foram semelhantes entre os grupos. O grupo SOP apresentou retorno mais rápido da fome (1h após a refeição) e maior consumo alimentar habitual. Pela análise do comportamento da grelina, pode-se concluir que nem a concentração pré-prandial, nem a variação que ocorre antes e após a refeição são determinantes do consumo alimentar. O que se pode sugerir é que ela interfira no número de vezes que a pessoa come ao longo do dia, mas essa hipótese não foi testada neste estudo. O grupo SOP apresentou maior frequência de RI (56, 6% x 30, 4%; $p<0,01$), o que pode ajudar a explicar o maior consumo alimentar habitual encontrado nesse grupo, pois a hiperinsulinemia pode acarretar em maior consumo alimentar pela saturação da entrada da insulina no cérebro, o que acarreta em menor ação no centro de saciedade e na falsa sinalização de que o indivíduo tem baixas reservas corporais. Conclui-se que a hiperinsulinemia e a resistência insulínica possam estar mais associadas ao aumento do consumo alimentar e ao desenvolvimento da obesidade nas mulheres com SOP do que a grelina de jejum ou as variações da grelina entre o período pré- e pós-prandiais. No entanto, é necessário desenvolver estudos que avaliem a influência do ambiente no consumo alimentar de mulheres obesas com SOP, assim como o impacto da doença no estado psicológico e emocional e sua associação com o consumo alimentar.

EFEITO DA ADIÇÃO DA ESPIRONOLACTONA AO CONTRACEPTIVO ORAL COMBINADO SOBRE MARCADORES PRECOSES DE DOENÇA CARDIOVASCULAR EM MULHERES COM A SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS

Gustavo Mafaldo Soares

Orientador: Prof. Dr. Rui Alberto Ferriani

Tese de Doutorado apresentada em 30/11/2012

Introdução: A síndrome dos ovários policísticos (SOP) é uma doença endócrina associada à disfunção metabólica e alterações nos marcadores de risco de doença cardiovascular (DCV) além disso, os contraceptivos orais (COs) podem exercer um efeito ainda mais deletério sobre estas alterações em pacientes com SOP. Assim, o objectivo primário deste estudo foi avaliar os efeitos da adição da espironolactona (EPL) a um CO contendo acetato de clormadinona (2 mg) e etinilestradiol (30 mcg), sobre a função e estrutura arterial, em pacientes com SOP.

Material e métodos: Este estudo foi um ensaio clínico controlado e randomizado. Cinquenta mulheres com SOP entre 18 e 35 anos de idade foram distribuídas aleatoriamente por um programa de computador para o uso de CO ou CO + EPL. A dilatação da artéria braquial mediada pelo fluxo, a espessura da camada íntima-média e o índice de rigidez da artéria carótida foram avaliados no início e após 6 e 12 meses. Marcadores séricos para DCV também foram analisados. Os dados intra-grupo foram analisados por meio da análise de variância com o pós-teste de Tukey. Um modelo de regressão linear múltipla foi usado para analisar os dados inter-grupo.

Resultados: Ao fim de 12 meses, o aumento nos níveis de colesterol total foi maior no grupo CO + EPL em relação ao grupo CO (27% vs 13% respectivamente, $p=0,02$). O aumento da sex hormone binding globulin (SHBG) foi maior no grupo CO em comparação ao grupo CO + EPL (424% vs 364%, respectivamente, $p=0,01$) Não houve diferença significativa entre os grupos nas demais variáveis.

Conclusão: A adição de espironolactona ao CO contendo acetato de clormadinona e etinilestradiol não conferiu benefício algum sobre os marcadores de risco cardiovascular em mulheres jovens com SOP.

ANÁLISE COMPARATIVA DO FUSO MEIÓTICO DE OÓCITOS HUMANOS MATURADOS *in vivo* PELA MICROSCOPIA DE POLARIZAÇÃO E CONFOCAL DE ALTO DESEMPENHO

Luciana Azôr Dib

Orientadora: Profa. Dra. Paula Andrea de Albuquerque Salles Navarro

Tese de Doutorado apresentada em 03/12/2012

A qualidade oocitária depende da presença de um fusão celular normal. Sabe-se que para que o oócito maduro esteja preparado para a fertilização, é necessário que o fusão meiótico mantenha a sua integridade e funcionalidade. Metodologias não invasivas destinadas a avaliar a qualidade oocitária, sem comprometer a sua viabilidade e utilização clínica subsequente, tem sido desenvolvidas e incorporadas à prática clínica, entre as quais citamos a microscopia de polarização (MP). Tendo em vista a escassez de dados na literatura sobre a capacidade preditiva da MP na identificação de anomalias meióticas em oócitos humanos, propusemos a realização do presente estudo, cujos objetivos foram comparar a concordância entre as técnicas MP e microscopia confocal (MC) na identificação do grau de maturidade nuclear oocitária e avaliar a percentagem dos oócitos com fusão visível ou não à MP com normalidade e anormalidade meiótica à análise pela MC e de oócitos com fusão celular em posicionamento normal e de risco à MP com normalidade e anormalidade meiótica à MC. Foi realizado um estudo prospectivo com pacientes inférteis submetidas à estimulação ovariana controlada para a realização de injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI). Oócitos humanos maturados *in vivo* com extrusão do primeiro corpúsculo polar (CP) foram avaliados à fresco por meio da técnica de MP e imediatamente após, foram fixados e corados para avaliação dos microtúbulos e cromatina por MC de alto desempenho. Foram analisados 73 oócitos frescos com presença do primeiro CP, oriundos de 23 pacientes. A análise pela MP evidenciou 3 oócitos em telófase I (TI) e 70 oócitos em metáfase II (MII), sendo 54 com o fusão celular visível (77, 1%). Dos 73 oócitos analisados pela MC, 6 estavam em TI e 67 em MII (47 foram fixados em visão sagital, sendo considerados analisáveis no presente estudo). Dos 47 oócitos MII analisáveis, 28 apresentaram fusão e distribuição cromossômica anormal e 19 apresentaram normalidade meiótica. Quando comparamos as técnicas MP e MC na avaliação do estágio de maturação nuclear oocitária, observamos que 100% (n = 3) dos oócitos em TI pela MP estavam em TI pela MC e que 95, 7% (67/73) dos oócitos em MII pela MP estavam em MII pela MC. A concordância entre os métodos na avaliação do grau de maturação nuclear oocitária foi 95, 9% (Kappa: 0, 65). Observamos que 72, 7% (8/11) dos oócitos em MII com fusão celular não visível à polarização apresentaram anormalidades meióticas à análise confocal e que 55, 6% (20/36) dos oócitos em MII com fusão celular visível à polarização apresentaram-se como oócitos anormais à análise confocal. Não observamos diferença significativa entre a percentagem de oócitos com normalidade e anormalidade meiótica entre os com fusão celular visível e não visível a MP e entre os com fusão em posicionamento normal e de risco a MP. Podemos concluir que, tanto a visualização do fusão meiótico, como a localização desta estrutura em posição normal segundo análise pela MP apresentam limitado valor preditivo de normalidade meiótica em oócitos humanos frescos maturados *in vivo*, o que precisa ser confirmado em estudos com maiores casuísticas. Nossos achados tornam questionável a utilidade desta metodologia como ferramenta para a seleção não invasiva oocitária para os procedimentos de reprodução assistida. Todavia, são necessários estudos com metodologias pertinentes avaliando a adequada relação custo-efetividade da avaliação do fusão pela MP na predição não invasiva da qualidade oocitária e dos resultados da ICSI.

AVALIAÇÃO E INTERVENÇÃO FISIOTERAPÊUTICA EM MULHERES SUBMETIDAS À RADIOTERAPIA PARA O CÂNCER DE MAMA

Nara Fernanda Braz da Silva Leal

Orientador: Prof. Dr. Hélio Humberto Angotti Carrara

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/12/2012

Objetivo: avaliar o efeito da cinesioterapia no ombro aplicada durante o período da radioterapia (RT) em mulheres submetidas ao tratamento cirúrgico e radioterápico para o câncer de mama.

Metodologia: 53 voluntárias foram recrutadas no período de novembro de 2009 a março de 2012 e avaliadas em três tempos distintos: pré-RT (avaliação 1), pós-RT (avaliação 2) e 2 meses após o término da RT (avaliação 3). Os parâmetros avaliados foram: amplitude de movimento (ADM) da articulação do ombro e perimetria do membro superior. Elas foram divididas aleatoriamente em 3 grupos: GC) grupo controle, submetido somente às avaliações e não submetido à

cinesioterapia; GE) grupo de estudo, submetido à cinesioterapia para os membros superiores, supervisionada, duas vezes por semana e durante o período do tratamento radioterápico; GO) grupo de orientação, orientado a realizar o mesmo protocolo de cinesioterapia do GE, em casa e sem supervisão.

Resultados: Observou-se diferença significativa entre os membros homolateral e contralateral na rotação externa da avaliação 1 no GC; na flexão, abdução e rotação externa das avaliações 1 e 2 e flexão e rotação externa da avaliação 3 no GO; e na flexão, abdução e rotação externa na avaliação 1 e flexão e rotação externa na avaliação 2 para o GE. As comparações entre os membros homolaterais intragrupo e intergrupo para goniometria não apresentaram diferença significativa. Na perimetria, houve diferença significativa somente no ponto F na avaliação 3 da análise intergrupo (diferença entre GC e GE).

Conclusão: A fisioterapia supervisionada aplicada durante o período da RT foi efetiva na recuperação do déficit de abdução pós-RT e de flexão e rotação externa quando avaliados até 2 meses após o término da RT. A RT não prejudicou a ADM do ombro e não alterou a perimetria dos membros superiores nos períodos avaliados.

EXPRESSÃO DA SOD1, SOD2 E GPX4 EM CÉLULAS DO CUMMULUS OOPHORUS DE MULHERES INFÉRTEIS COM E SEM ENDOMETRIOSE SUBMETIDAS À ESTIMULAÇÃO OVARIANA

Flávia Cappello Donabela

Orientadora: Profa. Dra. Paula Andrea de Albuquerque Salles Navarro

Tese de Doutorado apresentada em 14/12/2012

A endometriose apresenta elevada prevalência, acometendo 6 a 10% das mulheres em idade reprodutiva, sendo que aproximadamente 30 a 50% de suas portadoras são inférteis. Cada vez mais tem sido rotineira a utilização das técnicas de reprodução assistida (TRA) para o tratamento da infertilidade relacionada a esta doença. Resultados conflitantes de alguns estudos têm sugerido a ocorrência de menores taxas de implantação e gestação em portadoras de endometriose submetidas à estimulação ovariana para a realização de TRA, o que, poderia ser secundário, pelo menos parcialmente, à piora da qualidade oocitária. Como os oócitos humanos são extremamente raros e a sua utilização em estudos invasivos, que impossibilitam a utilização dos mesmos nos procedimentos de reprodução assistida, geralmente não é exequível, a identificação de biomarcadores não invasivos, passíveis de predição da qualidade oocitária, é bastante desejável. Alguns estudos sugerem que a análise da expressão gênica das células do cumulus(CC) possa ser utilizada como preditor indireto da qualidade oocitária e dos resultados dos procedimentos de reprodução assistida. Também há indícios de que as CC protegem os oócitos de entrarem em apoptose induzida por estresse oxidativo.

Como temos evidências da possibilidade do estresse oxidativo participar da etiopatogênese da infertilidade relacionada à doença, propusemos comparar a expressão dos genes SOD1, SOD2 e GPX4, responsáveis pela tradução de importantes enzimas antioxidantes, em CC de mulheres inférteis com e sem endometriose e entre os estágios iniciais e avançados da doença, submetidas à estimulação ovariana para injeção intracitoplasmática de espermatozoide (ICSI). Como objetivos secundários comparamos os resultados da ICSI entre os grupos.

Realizamos um estudo transversal prospectivo, no qual foram analisadas CC de 81 pacientes, sendo: 40 com endometriose pélvica (26 em estágio I/II e 14 em estágio III/IV) e 41 pacientes controles (infertilidade relacionada a fator masculino e/ou tubário), submetidas à estimulação ovariana controlada para ICSI. Foram isoladas e armazenadas CC para quantificação da expressão dos genes SOD1, SOD2 e GPX4 por PCR em tempo real. Foram comparados parâmetros de resposta à estimulação ovariana e dos resultados da ICSI entre os grupos controle e endometriose e subgrupos (controle, endometriose I/II e endometriose III/IV). Observamos expressão significativamente maior do gene SOD1 em CC de pacientes com endometriose III/IV ($8, 86 \pm 1, 87$) em relação aos grupos controle ($1, 53 \pm 1, 15$) e endometriose I/II ($0, 97 \pm 1, 24$). Além disso, observamos que as pacientes inférteis com endometriose pélvica avançada apresentaram número de oócitos fertilizados ($2, 21 \pm 0, 45$), taxas de fertilização ($71, 51\% \pm 8, 70$), número de embriões clivados ($1, 78 \pm 0, 35$) e número de embriões produzidos significativamente menores que o grupo controle ($4, 00 \pm 0, 35, 81, 92\% \pm 3, 92, 3, 15 \pm 0, 26$ e $2, 92 \pm 0, 27$, respectivamente). Na análise de interação da expressão dos genes SOD1, SOD2 e GPX4 nas CC dos três grupos estudados com a variável gestação clínica, observou-se uma expressão significativamente maior do gene SOD1 em CC de pacientes com endometriose III/IV que apresentaram gestação clínica. Nossos achados sugerem que o aumento de expressão do gene SOD1 em CC de mulheres inférteis com endometriose pélvica em estágios avançados seja uma tentativa de prevenção do dano oxidativo oocitário. Hipotetizamos que, quando o aumento da expressão do gene SOD1 em CC de mulheres inférteis com endometriose pélvica avançada consegue prevenir o dano oxidativo oocitário, há preservação da

qualidade gamética e, conseqüentemente, não há comprometimento do sucesso gestacional após ICSI. Todavia, quando o aumento da expressão do gene SOD1 em CC de mulheres inférteis com endometriose pélvica avançada não consegue prevenir o dano oxidativo oocitário, há comprometimento da qualidade gamética e redução da taxa de fertilização e produção embrionária. Estes achados sugerem que o gene SOD1 pode ser considerado um biomarcador de sucesso da ICSI em mulheres com infertilidade relacionada à endometriose pélvica em estádios avançados, o que precisa ser confirmado em estudos com maiores casuísticas.

REPERCUSSÕES DO EXERCÍCIO FÍSICO RESISTIDO PERIODIZADO EM MULHERES PORTADORAS DE ANOVULAÇÃO HIPERANDROGÊNICA NO TAMANHO DO TELÔMERO

Fabiene Karine Picchi

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Maria dos Reis

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/12/2012

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é uma endocrinopatia comum na mulher em idade reprodutiva, caracterizada por irregularidade menstrual, anovulação crônica e hiperandrogenismo. Vários distúrbios metabólicos estão associados à SOP e tem sido sugerido que mudanças no estilo de vida, como a redução de peso e a prática de exercícios físicos regulares, são bases da terapêutica de tais distúrbios e tem efeitos positivos no tratamento da SOP. Dentre os distúrbios metabólicos presentes na SOP, a resistência à insulina tem sido sugerida como um fator que possa interferir no comprimento telomérico. Os Telômeros são nucleoproteínas que formam as extremidades dos cromossomos de eucariotos, e são responsáveis por manter a estabilidade estrutural e proteger contra degradação. Essas extremidades constituem excelente marcador de envelhecimento celular, tendo seu comprimento reduzido a cada divisão mitótica. O encurtamento do telômero limita a proliferação celular e pode contribuir para o desenvolvimento de doenças de falência tissular e podendo estar associado à SOP ou aos distúrbios metabólicos a ela associados. O objetivo deste trabalho foi avaliar as modificações metabólicas e a composição corporal em pacientes com SOP e controle, antes e após a intervenção com exercícios físicos resistidos, bem como verificar a interferência dessa intervenção no tamanho do telômero e correlacionar com as alterações metabólicas. Para tanto, foram incluídas no estudo 47 mulheres com IMC = $18 \leq 39,9 \text{ Kg/m}^2$, sendo 18 mulheres com SOP e 29 mulheres com ciclos menstruais ovulatórios (controle). Para o treinamento físico resistido (TFR) foi utilizado um treinamento periodizado de quatro meses precedido por exames físicos, processo de adaptação e por um teste de força máxima de 1 RM (resistência máxima). A composição corporal foi determinada através de bioimpedância elétrica e da densitometria óssea e foram feitas dosagens de testosterona, glicose e insulina antes e após o treinamento. Para a determinação do comprimento do telômero foi realizada a técnica PCR quantitativo em tempo real. Os resultados evidenciaram diferenças estatisticamente significativas no grupo SOP em relação ao grupo controle na variável circunferência de cintura após o treinamento ($p < 0,008$). Quando analisamos o efeito do treinamento, sem distinção de grupos, observamos diferença estatisticamente significativa nas variáveis circunferência de cintura ($p < 0,003$), massa magra ($p < 0,048$), massa magra e composição mineral óssea ($p < 0,048$), prolactina ($p < 0,032$), androstenediona ($p < 0,003$), insulina ($p < 0,04$). Em relação ao comprimento do telômero, foi encontrado um aumento deste, após o TFR tanto no grupo controle quanto no grupo SOP, porém esse resultado não foi estatisticamente significativo ($p < 0,051$). Porém quando esses dados foram ajustado com idade, IMC e HOMA, avaliando o efeito do TFR, houve um aumento do comprimento telomérico ($p < 0,04$). Tais resultados sugerem que o TFR trouxe benefícios as pacientes de ambos os grupos, não só nas modificações metabólicas e hormonais, como também em relação ao comprimento do telômero nessas pacientes.

RELAÇÃO DO PESO AO NASCER E DA SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS COM O NÍVEL SÉRICO DOS MARCADORES DA DISFUNÇÃO DO TECIDO ADIPOSEO

Anderson Sanches de Melo

Orientadora: Profa. Dra. Carolina Sales Vieira

Tese de Doutorado apresentada em 19/12/2012

Introdução: Evidências sugerem que o nascimento pequeno para idade gestacional (PIG) está associado à disfunção adipocitária em diferentes fases da vida. Como mulheres PIG apresentam risco aumentado para o desenvolvimento de

síndrome dos ovários policísticos (SOP), é possível que a disfunção adipocitária encontrada nas portadoras desta síndrome esteja associada ao nascimento PIG. A avaliação dos marcadores de disfunção adipocitária apresenta resultados conflitantes nas portadoras de SOP, visto que esta síndrome apresenta associação com alta prevalência de obesidade e resistência insulínica (RI), comorbidades também relacionadas à presença de SOP está associada à alteração sérica dos marcadores metabólicos (adiponectina e leptina) e inflamatório (fator de necrose tumoral alfa - $TNF\alpha$) da disfunção do tecido adiposo em mulheres adultas da coorte de nascimentos de Ribeirão Preto, independentemente do nascimento PIG. Secundariamente, avaliar se o índice de massa corporal (IMC) e/ou o nível de insulina apresentam relação com os marcadores acima descritos.

Pacientes e Métodos: trata-se de um estudo observacional, prospectivo, do tipo coorte de nascimentos realizado com 384 mulheres nascidas de gestação a termo (37 - 42 semanas) entre 01. 06. 1978 e 31. 05. 1979 na cidade de Ribeirão Preto (São Paulo). Depois da exclusão, 165 mulheres efetivamente participaram do estudo, sendo 43 do grupo PIG e 122 do grupo adequado para idade gestacional (AIG). Estas pacientes foram subdivididas de acordo com a presença (grupo SOP - n=30) ou não (grupo Não SOP - n= 135) da SOP. Todas as mulheres incluídas foram submetidas à anamnese e exame físico com avaliação da idade, peso e altura atuais, IMC, pressão arterial sistólica e diastólica, circunferência abdominal. A avaliação laboratorial incluiu a análise dos níveis séricos de testosterona total, glicemia e insulina de jejum, lipidograma e a dosagem do nível sérico de adiponectina, leptina e $TNF\alpha$. Dos arquivos da coorte foram obtidos dados maternos (idade, paridade, situação conjugal, anos de estudo formal, tabagismo e raça) e o peso ao nascimento.

Resultados: o IMC foi preditor independente para menores níveis de adiponectina (coeficiente ajustado = -0. 02, $p=0. 01$) e maiores níveis de leptina (coeficiente ajustado= 0. 06, $p=0. 01$). A concentração sérica de insulina foi preditor independente para maiores níveis de leptina (coeficiente ajustado = 0. 03, $p=0. 02$) e $TNF-\alpha$ (coeficiente ajustado = 0. 01, $p= 0, 03$). SOP e nascimento PIG não foram preditores para nenhum dos marcadores de disfunção do tecido adiposo avaliados neste estudo.

Conclusão: Em conclusão, a SOP e/ou nascimento PIG não estiveram associados à alteração sérica dos marcadores da disfunção do tecido adiposo. Por outro lado, a elevação do IMC e a hiperinsulinemia apresentam associação com perfil sérico alterado de adipocitocinas em mulheres brasileiras na idade reprodutiva.

INFLUÊNCIA DOS ANTIRRETROVIRAIS ZIDOVUDINA, LAMIVUDINA, LOPINAVIR E RITONAVIR NA TRANSFERÊNCIA PLACENTÁRIA E NA DISTRIBUIÇÃO NO LÍQUIDO AMNIÓTICO DOS ENANTIÔMEROS DA BUPIVACAÍNA EM HUMANOS

Rodrigo Metzker Pereira Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Geraldo Duarte

Dissertação de Mestrado apresentada em 21/12/2012

Como o número de novos casos de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) em gestantes tem aumentado é essencial que haja estudos sobre a transferência placentária de drogas e suas interferências com outras medicações. Devido à interação dos antirretrovirais (ARV) com a glicoproteína-P (P-gp) inibindo a sua função torna-se necessário a criação de modelos que possam avaliar adequadamente os efeitos dessa inibição no território placentário e fetal, variáveis de extrema importância na prática clínica. A bupivacaína (BUP) é substrato da P-gp, sendo considerada como o anestésico local mais utilizado em obstetrícia. Ela é comercializada sob a forma racêmica dos enantiômeros R(+) e S(-) BUP. Sua administração requer cautela devido ao seu perfil tóxico e é substrato da P-gp. Baseado em tais evidências, o objetivo deste estudo foi avaliar se o uso de antirretrovirais (ARV) inibidores da P-gp em gestantes portadoras do HIV altera a enantioseletividade da transferência placentária da BUP utilizada em procedimentos anestésicos para cesáreas, promovendo maiores concentrações deste fármaco no compartimento fetal e no líquido amniótico. Foram investigados dois grupos compostos por 24 parturientes, sendo um grupo de portadoras do HIV (grupo de estudo) e outro de não portadoras deste vírus (grupo controle). Todas foram submetidas a parto cesáreo e anestesia peridural com BUP em concentrações pré-estabelecidas. Foram coletadas amostras do sangue materno e do sangue arterial e venoso do cordão umbilical. Também foram coletadas amostras do líquido amniótico para a avaliação da distribuição dos enantiômeros da BUP neste compartimento. Os enantiômeros da BUP foram analisados por cromatografia líquida com espectrometria de massas (LC-MS/MS). Os enantiômeros foram separados em coluna com fase estacionária quiral (Chirex® 3020). A concentração dos enantiômeros no plasma materno foi de 172, 7 para (+)-(R)-BUP e 237, 6 para (-)-(S)-BUP do grupo controle. O

estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do HC-FMRP - USP. Para o grupo de estudo a concentração materna dos enantiômeros (+)-(R) e (-)-(S)-BUP foi de 155, 6 e 242, 4, respectivamente. A concentração dos enantiômeros da (+)-(R) e (-)-(S)-BUP na veia umbilical dos fetos do grupo controle foram de 34. 0 e 60. 0 ng/mL, respectivamente. Para o grupo de estudo a concentração na veia umbilical foi de 55. 3 e 100. 3, respectivamente para os enantiômeros (+)-(R) e (-)-(S)-BUP. A taxa de transferência placentária dos enantiômeros (+)-(R) e (-)-(S)-BUP nas pacientes do grupo controle foram de 24% para ambos. Para o grupo de estudo a taxa de transferência placentária foi de 58% para a (+)-(R)-BUP e 52% para a (-)-(S)-BUP. Não se verificou influência estatisticamente significativa dos ARV na distribuição do anestésico no líquido amniótico. O teste de Wilcoxon ($p < 0, 05$) foi utilizado para avaliar a diferença entre os enantiômeros para dados não pareados e o teste de Mann-Whitney foi utilizado para os testes pareados ($p < 0, 05$). Esses resultados permitem concluir que a taxa de transferência placentária dos enantiômeros da BUP foi 2, 4 vezes maior para o enantiômero (+)-(R)-BUP e 2, 16 para o (-)-(S)-BUP entre as gestantes portadoras do HIV quando comparadas àquelas do grupo controle, demonstrando que a inibição da P-gp aumentou significativamente a taxa de transferência do anestésico.

Imunologia Básica e Aplicada

ATIVIDADE DA FOSFOETANOLAMINA SINTÉTICA EM MELANOMA MURINO EXPERIMENTAL

Luciana Chain Veronez

Orientadora: Profa. Dra. Gabriela Silva Bisson

Dissertação de Mestrado apresentada em em 06/11/2012

O desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas ao melanoma é de particular importância devido à sua baixa resposta aos tratamentos tradicionais. No presente trabalho, utilizamos modelo de melanoma murino experimental para estudarmos os efeitos da fosfoetanolamina (PEA) sintética sobre o desenvolvimento deste tumor. Nossos resultados demonstram que o fosfomonoéster apresentou efeito inibidor da proliferação de células da linhagem B16F10 *in vitro*, induzindo apoptose após estimulação por 24 a 72h. *In vivo*, o tratamento (via oral) de animais portadores de melanoma com diferentes doses de PEA (10, 20 e 40mg/Kg), durante 10 ou 20 dias consecutivos, resultou em volumes tumorais pelo menos 70% menores que o de animais controle e diferenças macroscópicas consideráveis. PEA induziu, de maneira dose-dependente, aumento da apoptose e diminuição da proliferação de células tumorais. O tratamento resultou em alterações hematológicas como aumento do número de plaquetas, eritrócitos e leucócitos. Dentre os leucócitos, observou-se uma maior proporção de linfócitos e monócitos após 10 e 20 dias de tratamento, respectivamente. Em adição, PEA induziu uma maior produção da citocina pró-inflamatória IL-6 e das citocinas anti-inflamatórias IL-10 e TGF- β e menores níveis da citocina pró-inflamatória IFN- γ . Os níveis de IL-1 β , IL-12p70 e IL-17 não foram alterados com o tratamento. Nossos resultados demonstram um papel inibidor da PEA sobre a progressão do melanoma, contribuindo para um melhor entendimento de sua atividade anti-tumoral.

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO DE HLA-G: PAPEL DE SÍTIOS POLIMÓRFICOS OBSERVADOS NA REGIÃO 3' NÃO TRADUZIDA DO GENE

Gustavo Martelli Palomino

Orientadores: Prof. Dr. Eduardo Antonio Donadi / Prof. Dr. Philippe Moreau

Tese de Doutorado apresentada em 14/11/2012

HLA-G é uma molécula de histocompatibilidade de classe I não-clássica, descrita primeiramente na placenta, responsável pela tolerância materno fetal. Além da placenta, HLA-G pode ser expresso em contexto patológico, com frequências variáveis, desempenhando papel benéfico (transplantes e doença autoimune) ou papel maléfico (câncer e infecções). O gene *HLA-G*, diferentemente de outros genes HLA, apresenta baixa frequência de polimorfismos na região codificadora, mas grande variabilidade genética nas regiões reguladoras do gene, ou seja, a 5' e a 3' não traduzida (3'NT) do gene. Pouco

se sabe sobre os mecanismos envolvidos na regulação do gene *HLA-G*, entretanto, sabe-se que a região 3' NT desempenha papel importante na regulação pós-transcricional devido à ligação a microRNAs específicos (+3142C/G) ou modificação da estabilidade do RNAm (Inserção/Deleção de 14 pares de base e +3187A/G). Além desses, outros sítios descritos nessa região ainda não foram estudados em relação à expressão de HLA-G. Neste estudo, realizamos a tipificação dos haplótipos da região 3'NT do *HLA-G* em indivíduos saudáveis (153 brasileiros e 189 franceses), associando-os com os níveis plasmáticos da molécula HLA-G. Em adição, clonamos os sítios da região 3'NT, mais frequentemente encontrados nessas duas populações, em plasmídeo, contendo o gene repórter luciferase (pMIR-REPORT). Logo após, transfectamos-os em células de experimentação que expressam (FON+/melanoma e JEG-3/corioncarcinoma) ou não (M8/melanoma e U251/glioblastoma). Os níveis de expressão do gene repórter foram dosados. Todas essas análises permitiram-nos mostrar por um lado que houve diferença significativa nas frequências alélicas e genotípicas de polimorfismos na região 3' NT entre populações brasileiras e francesas. Entretanto identificamos diferença significativa na frequência de haplótipos entre as populações brasileira e francesa ($P=0.0298 \pm 0.0075$). Considerando as duas populações juntas, os indivíduos que apresentaram o genótipo Deleção/Deleção e Deleção/Inserção para os 14 pares de base apresentaram níveis elevados de HLA-G solúvel em relação aos indivíduos homocigotos Inserção/Inserção para os 14 pares de base ($P=0.018$). Indivíduos que apresentam o genótipo +3027C/C ou +3027A/C apresentaram níveis de HLA-G solúvel mais elevados em relação aos indivíduos +3027A/A. Indivíduos que apresentam o genótipo +3035C/C ou +3035C/T apresentaram níveis de HLA-G mais elevados em relação aos indivíduos +3035T/T ($P<0.0001$). Estratificando os indivíduos em relação aos haplótipos da região 3'NT, verificamos que os haplótipos UTR-1, UTR-2, UTR-3, UTR-4 e UTR-6 foram associados com alta expressão de HLA-G, enquanto os haplótipos UTR-5 e UTR-7, com baixa expressão. Além disso, os resultados funcionais *in vitro* demonstraram uma maior modulação da expressão de luciferase (diminuição) nos haplótipos UTR-5 e UTR-7 que contém o alelo 14 pb em relação aos outros alelos que não apresentam a sequência de 14 pb sugerindo atividade de microRNAs que se ligam a essa região. A exceção foi com a UTR-2 que contém a sequência de 14 pb mais foi associada a alta expressão de HLA-G, os resultados *in vivo* estão de acordo com os resultados *in vitro*. Os outros alelos presentes no haplótipo UTR-2 poderia contrabalançar o efeito dos da sequência 14 pb. Uma vez que a molécula tenha papel imunoregulador na resposta imune, a definição de sítios polimórficos associados aos seus níveis de expressão com consequências malélicas ou benéficas aos pacientes é de fundamental importância para o estabelecimento de novas terapias.

MODULAÇÃO DAS FUNÇÕES DE CÉLULAS INFLAMATÓRIAS POR GALECTINA-3 E JACALINA

Cláudia Danella Polli

Orientadoras: Profa. Dra. Gabriela Silva Bisson / Profa. Dra. Lise Halbwachs-Mecarelli

Tese de Doutorado apresentada em 03/12/2012

Macrófagos e neutrófilos associados a tumores (TAMs/TANs) exercem papéis complexos e ambíguos no processo de carcinogênese, uma vez que os fenótipos dessas células podem ser modulados pelo microambiente tumoral. Diversos fatores estão envolvidos nas interações existentes entre TAMs/TANs e células cancerosas, como citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento e angiogênicos. Um melhor entendimento dos mecanismos que regulam as funções dos TAMs/TANs é de fundamental importância para podermos interferir na diferenciação dessas células, direcionando-as para fenótipos anti-tumorais.

Na primeira parte deste trabalho, investigamos a capacidade de galectina-3 (Gal-3) induzir respostas imunomoduladoras. Galectina-3, uma lectina endógena ligante de β -galactosídeos, é expressa e secretada por diferentes células inflamatórias, podendo localizar-se tanto intra quanto extracelularmente. Ensaios *in vivo* com animais deficientes de Gal-3 enfatizam o papel crítico dessa lectina nas respostas inflamatórias, mas não permitem distinguir seus efeitos intracelulares dos extracelulares. A modulação de respostas neutrofílicas por Gal-3 tem sido descrita, apresentando resultados contraditórios em relação à necessidade de pré-ativação dessas células. No presente trabalho, focamos os efeitos extracelulares de Gal-3 exercidos sobre a função de neutrófilos humanos. Embora Gal-3 seja altamente expressa intracelularmente em neutrófilos, como demonstrado por análises de lisados celulares por western blot, não conseguimos detectar Gal-3 na superfície de neutrófilos em repouso ou ativado. Gal-3 recombinante exógena foi capaz de se ligar aos neutrófilos via seu domínio lectínico (ligação inibida por lactose) e essa ligação foi fortemente aumentada (-60%) em neutrófilos ativado com fMLP. Observamos por imunofluorescência uma distribuição homogênea de Gal-3 biotinilada ligada a neutrófilos mantidos a 4°C. A transferência desses neutrófilos para 37°C resultou na indução de *capping* por Gal-3 ligada à superfície celular, a qual se

colocalizou às moléculas CD66 (ligante conhecido de galectina-3) e CD43 (leucosialina), mas não às moléculas de integrina CD11b/CD18. Gal-3 induziu desgranulação de neutrófilos, demonstrada pelo aumento na expressão de CD11b. Além disso, a lectina foi capaz de potencializar a expressão de CD11b induzida por concentração sub-ótima de TNF- α (1 ng/ml). Entretanto, Gal-3 não foi capaz de induzir a produção de espécies reativas de oxigênio por neutrófilos, mesmo após estímulo prévio com TNF- α . Finalmente, Gal-3 induziu, de maneira dose-dependente, adesão de neutrófilos a poços recobertos com gelatina. A pré-incubação de Gal-3 com polimixina B não alterou sua capacidade de ativar neutrófilos, excluindo a ação de LPS contaminante. Esses resultados mostram que Gal-3 exógena ativa tanto neutrófilos naïve quanto ativados, possivelmente via interações com CD66 e CD43, confirmando suas funções pró-inflamatórias.

Na segunda parte desse trabalho, investigamos a modulação de atividades tumorílicas de macrófagos por galectina-3 e pela lectina vegetal jacalina. Inicialmente, avaliamos o efeito direto dessas lectinas sobre linhagens celulares de câncer de cólon (HT-29) e de câncer de mama (MCF-7). Ambas lectinas se ligaram à superfície das células tumorais, principalmente via seus domínios de reconhecimento de carboidrato (CRD), uma vez que essas ligações são inibidas na presença de açúcares específicos. Gal-3 ou jacalina não afetaram a proliferação das células tumorais, como avaliado por ensaio de MTT. As lectinas se ligaram à superfície de macrófagos, também via CRD, e induziram a produção de citocinas por essas células. Gal-3 induziu aumento na expressão de TGF- β , enquanto jacalina induziu aumento na expressão de TNF- α , TGF- β , IL-1 β e MIP-1 α . Ambas lectinas não foram capazes de alterar a expressão de CXCL8, CCL2, IL-10, IL-12p35 e IL-12p40. Como avaliado por ELISA, altos níveis de TNF e IL-6 foram detectados no sobrenadante de macrófagos estimulados com Gal-3 ou jacalina. Aumento nos níveis de IL-10 e IL-1 β também foi detectado no sobrenadante dessas células. Entretanto, as lectinas não afetaram a produção de MMP9 ou de óxido nítrico por macrófagos. Visto que citocinas pró-inflamatórias eram predominantemente produzidas por macrófagos em resposta a estímulos de Gal-3 ou jacalina, investigamos, então, se a via de sinalização NF- κ B estava ativada nessas células. Observamos que apenas jacalina foi capaz de ativar esse fator de transcrição. Esses resultados indicam que as lectinas polarizam macrófagos para padrões pró-inflamatórios, com fenótipos antitumorais (M1). Dessa maneira, estudamos as atividades tumorílicas de macrófagos estimulados pelas lectinas. A incubação de células HT-29 ou MCF-7 com sobrenadante de macrófagos estimulados por Gal-3 ou jacalina resultou em redução da viabilidade dessas células, como detectado em ensaios de MTT. Ademais, análises de citometria de fluxo utilizando-se anexina V mostraram que a redução da viabilidade celular induzida por jacalina era resultante da apoptose das células tumorais. Em resumo, esses resultados indicam que Gal-3 e jacalina, por meio de suas habilidades de exercer atividades pró-inflamatórias, podem direcionar macrófagos para fenótipos antitumorais.

Neurologia

TESTE DE CAMINHADA EM TRILHAS COM INDICADORES COLORIDOS COMO FORMA DE AVALIAÇÃO DE TAREFA COGNITIVO-MOTORA

Poliana Penasso Bezerra

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui

Tese de Doutorado apresentada em 01/10/2012

Introdução: Pacientes com Doença de Alzheimer (DA) são mais propensos a responder de forma inadequada a desequilíbrios posturais e ao contato com um obstáculo em seu caminho enquanto andam. Em situações com aumento da demanda cognitiva, como nos testes de dupla tarefa cognitivo-motora, o desempenho da marcha diminui principalmente nos indivíduos com história de quedas. Idosos saudáveis e com DA, com escolaridade baixa, apresentam maior dificuldade em tarefas que requerem função executiva.

Objetivo: Desenvolver o Teste de Caminhada em Trilhas com indicadores coloridos (TCT-C), o qual poderia ser mais familiar a indivíduos com escolaridade baixa e favorecer sua compreensão e execução. Objetivos específicos: verificar a capacidade do TCT-C e do Teste de Caminhada em Trilhas com indicadores números e letras (TCT-NL) na discriminação entre sujeitos de perfis cognitivos diferentes, verificando a influência da escolaridade em ambos os testes, assim como a capacidade de prever o risco de quedas; verificar se o TCT-C apresenta aumento da demanda cognitiva; verificar a concordância entre o TCT-NL e o TCT-C; verificar relação do TUG com o TCT-C.

Materiais e Métodos: Participaram 35 idosos saudáveis (21 feminino, idade $71,20 \pm 5,58$ anos, Berg $53,9 \pm 2,3$, MEEM $29,1 \pm 0,83$) e 31 idosos com DA inicial (19 feminino, idade $73,42 \pm 5,5$ anos, Berg $52,8 \pm 2,2$, MEEM $16,63 \pm 2,68$). Submetidos a questionário de ocorrência de quedas e avaliação de tarefa cognitivo-motora através do teste de levantar e andar cronometrado (TUG), TCT-NL e TCT-C. Análise estatística foi realizada através do teste de Wilcoxon, teste de Friedman, gráfico de Bland-Altman e coeficiente de Lin e teste de correlação de Sperman. Foi adotado nível de significância de 0,05.

Resultados: O grupo de indivíduos com DA foi significativamente mais lento que o grupo de idosos saudáveis em ambos os testes. Indivíduos com DA sem escolarização e com escolaridade baixa apresentaram maior tempo para desempenhar as trilhas do que indivíduos com escolaridade alta em ambos os testes. Quanto maior a escolaridade, maior a concordância entre o TCT-NL e TCT-C. Ocorrência de quedas não diferiu significativamente no resultado dos testes. Correlação positiva entre o TCT-C e TUG realizado como tarefa única e associado a tarefas cognitivo-motoras.

Conclusão: O TCT-C mostrou-se uma ferramenta complementar eficaz para avaliar indivíduos idosos com diferentes perfis cognitivos e escolaridade. Ele seria menos influenciado pela experiência prévia do indivíduo do que o TCT-NL, devido à atividade cognitiva requerida.

Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço

REFLUXO GASTROESOFÁGICO ÁCIDO EM LARINGECTOMIZADOS TOTAIS COM PRÓTESE TRAQUEOESOFÁGICA

Nathalia dos Reis

Orientador: Prof. Dr. Hilton Marcos Alves Ricz

Dissertação de Mestrado apresentada em 16/10/2012

Os laringectomizados totais apresentam alta incidência de refluxo gastroesofágico (RGE) tornando-se de grande importância investigar as consequências que essa alteração traz para os usuários da prótese traqueoesofágica (PTE). Diante disso, o objetivo desse estudo foi identificar em laringectomizados totais, usuários de prótese traqueoesofágica, a prevalência de refluxo gastroesofágico ácido e comparar usuários de prótese traqueoesofágica que apresentam RGE, que apresentam refluxo e usam medicação e que não apresentam RGE, quanto às variáveis da pHmetria de 24 horas, às complicações inerentes do uso da PTE, ao tempo de vida útil da PTE e ao tipo de sinal sonoro obtido com a voz traqueoesofágica. Foram recrutados 31 pacientes, submetidos à laringectomia total por carcinoma espinocelular, independente de sexo, e reabilitados com voz traqueoesofágica para a produção vocal, utilizando a PTE. Oito pacientes pertenciam ao grupo A (sem RGE), nove pacientes ao grupo B (com RGE e sem consumir Inibidor de Bomba de Próton - IBP) e 14 pacientes ao grupo C (com RGE e que usam IBP). Por meio da revisão de prontuários médicos, foram colhidas as informações a respeito dos dados pessoais, cirúrgicos, do tratamento complementar de radioterapia, da inserção da PTE, da reabilitação e das complicações decorrentes da PTE. Todos foram submetidos à pHmetria esofágica de 24 horas, avaliando-se as variáveis de refluxo a 20cm e 5cm acima do esfíncter esofágico inferior e índice de pontuação DeMeester. Antes da realização do exame de pHmetria prolongada, os pacientes eram orientados a suspender o IBP por uma semana. Para avaliar o tipo de sinal vocal, a voz dos pacientes foi gravada no programa Sound Forge® 9 e analisada por meio de três juízes, utilizando-se o programa Praat. Também foram avaliados indivíduos entre grupos com e sem radioterapia quanto às variáveis de pHmetria prolongada. O grupo A apresentou níveis de refluxo inferiores ao grupo B e C. Os indivíduos com dor no local da prótese apresentaram maior número de refluxo no esôfago proximal. O grupo A apresentou tempo de vida útil da PTE de 22 meses, superior em relação aos grupos B (12 meses) e C (nove meses). Foi encontrada correlação entre o aumento do refluxo e a diminuição do tempo de vida da PTE. Não foi encontrada correlação entre o tipo de sinal vocal e RGE. Indivíduos com radioterapia apresentaram clareamento esofágico diminuído quando comparados com indivíduos que não foram submetidos à radioterapia. A partir dos dados coletados, concluiu-se que o grupo A apresentou níveis de RGE menores, tempo de vida útil da PTE superior aos grupos B e C. Indivíduos com refluxo esofágico proximal apresentam mais dor ao redor da PTE. Não foi encontrada relação entre RGE e tipo de sinal vocal, e, conforme aumenta a gravidade do RGE, diminui o tempo de vida útil da PTE. Também foi observado que a radioterapia diminuiu o clareamento esofágico.

EFEITO DA EXPANSÃO RÁPIDA DE MAXILA NAS FUNÇÕES OROFACIAIS EM CRIANÇAS COM MORDIDA CRUZADA POSTERIOR

Tais Helena Grechi

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Vitaliano Voi Trawitzki

Tese de Doutorado apresentada em 18/10/2012

Objetivos: Investigar em crianças com e sem mordida cruzada posterior a condição clínica miofuncional orofacial e as funções de mastigação e deglutição em relação ao volume ingerido, o tempo de trânsito preparatório oral (TTP), o tempo de trânsito oral (TTO), a frequência e o tipo mastigatório, a organização do bolo alimentar, a presença de escape prematuro e a ejeção oral, por meio do exame de videofluoroscopia e analisar ainda os efeitos da expansão rápida de maxila (ERM) sobre esses aspectos.

Materiais e Métodos: Participaram deste estudo prospectivo longitudinal 32 crianças, sendo 21 do grupo mordida cruzada posterior (10 meninas e 10 meninos, idade média de 9, 2 anos) e 11 do grupo controle sem alterações oclusais (6 meninas, 5 meninos, idade média 9, 3 anos). As crianças foram avaliadas por um ortodontista, para o diagnóstico oclusal e caracterização dos grupos, pela equipe de otorrinolaringologia, para avaliação do quadro respiratório e por uma fonoaudióloga, para identificação da condição miofuncional orofacial clínica e videofluoroscópica. As crianças com mordida cruzada posterior foram tratadas ortodonticamente, utilizando o aparelho disjuntor de "Hass" por aproximadamente seis meses e reavaliadas após 5 meses da estabilização da oclusão, tempo controlado individualmente pelo ortodontista para estabilização da oclusão. Para análise dos dados foi utilizado o teste t de Student para as variáveis TTP, TTO e frequência mastigatória, os testes de Mann Whitney e Wilcoxon para as variáveis avaliação clínica e tipo mastigatório e os testes Exato de x2 e McNemar para as variáveis escape prematuro e ejeção oral. O nível de significância estabelecido foi $P \leq 0,05$.

Resultados: Houve diferença significativa na condição clínica miofuncional orofacial geral entre o grupo controle e mordida cruzada pré ($p=0,00$) e pós tratamento ($p=0,01$) e entre o grupo mordida cruzada pré e pós tratamento ($p=0,00$). Houve aumento do tempo de trânsito preparatório oral na comparação entre o grupo mordida cruzada pré e pós tratamento ($p=0,05$), sem diferença na comparação entre o grupo controle e o grupo mordida cruzada pré e pós tratamento. Não foi encontrada diferença significativa em relação ao volume ingerido, ao tempo de trânsito oral, à frequência e ao tipo mastigatório, à presença de escape prematuro e à ejeção oral do bolo alimentar na comparação entre o grupo controle e mordida cruzada pré e pós tratamento e o grupo mordida cruzada pré e pós tratamento.

Conclusão: a condição miofuncional orofacial geral das crianças com mordida cruzada posterior pré e pós tratamento mostrou-se pior quando comparadas às crianças sem má oclusão. O tempo de trânsito da fase preparatória oral foi menor após a expansão rápida da maxila, com valores próximos ao grupo controle. A mordida cruzada e o tratamento ortodôntico não influenciaram no volume ingerido, no tempo de trânsito oral, na frequência e no tipo mastigatório, na presença de escape prematuro e na ejeção oral do bolo alimentar.

USO DA MISTURA DE BEVACIZUMABE COM METILCELULOSE COMO TRATAMENTO ADJUVANTE À ESCLERECTOMIA PROFUNDA NÃO PENETRANTE: ESTUDO DE VIABILIDADE

Danilo José Lopes da Silva

Orientador: Prof. Dr. Jayter Silva de Paula

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/10/2012

Introdução: A taxa de sucesso das cirurgias antiglaucomatosas está diretamente relacionada ao processo cicatricial local. O fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) está potencialmente envolvido em processos cicatriciais relacionados aos tecidos oculares, incluindo aqueles envolvidos nas cirurgias, porém repetidas injeções podem ser necessárias.

Objetivo: O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da mistura de metilcelulose e bevacizumabe (MMB) em associação à Mitomicina C (MMC) no espaço subconjuntival como um novo método de liberação mais lenta do fármaco e de redução da formação da fibrose e cicatrização em olhos glaucomatosos submetidos a um modelo de cirurgia fistulizante para o glaucoma denominado Esclerectomia Profunda Não Penetrante (EPNP).

Métodos: A mistura de MMB foi preparada pelo método de centrifugação, na proporção de 1:1, acondicionada em seringas individuais contendo 0,3 ml cada uma administrada ao final do procedimento. Uma série de 10 pacientes foram informados e assentiram livremente pelo uso da droga em suas cirurgias antiglaucomatosas. Durante o procedimento cirúrgico, a MMB foi injetada no espaço subconjuntival desses olhos, somente após conclusão e fechamento da ferida operatória, não havendo, portanto, infusão deste composto em meio intracamerar. Os efeitos da MMB nas cirurgias foram estudados medindo-se a pressão intraocular (PIO), observando-se o aspecto da ampola filtrante (pelo *Moorfields bleb grading system*), a contagem de células endoteliais da córnea (Microscopia especular da córnea), acuidade visual e incidência de complicações cirúrgicas.

Resultados: Verificou-se a manutenção da MMB no espaço subconjuntival até o sétimo dia de pós-operatório, sendo que a avaliação *in vivo* não demonstrou nenhum efeito deletério relacionado à presença da MMB. Não foi observada redução significativa da PIO ($p < 0,001$), e as ampolas filtrantes se apresentaram predominantemente difusas e pouco vascularizadas. Além disso, houve pouca perda de células endoteliais com o protocolo proposto e a acuidade visual não apresentou diferenças estatísticas entre os momentos pré-operatório e ao final de seis meses.

Conclusão: Este estudo demonstrou que a MMB foi bem tolerada e promoveu redução significativa da PIO, sem acarretar riscos adicionais ao paciente no período de seis meses. Novos estudos farmacocinéticos com MMB e ampliação do número de casos tratados serão necessários para assegurar a aplicabilidade clínica destes resultados, otimizando o sucesso cirúrgico da EPNP.

ESTUDO COMPARATIVO DA EFICÁCIA DO FUROATO DE MOMETASONA NA HIPERTROFIA ADENOIDEANA DE CRIANÇAS ATÓPICAS E NÃO ATÓPICAS

Renato Marques Rezende

Orientadora: Profa. Dra. Fabiana Cardoso Pereira Valera

Dissertação de Mestrado apresentada em 22/10/2012

Introdução: Os principais fatores que determinam a obstrução nasal em crianças são a rinite alérgica e a hipertrofia tonsilar, particularmente a adenoideana. Portanto, o controle desses fatores é medida essencial para se evitarem as sequelas anatomofuncionais da obstrução crônica, seja por meio de medidas ambientais, terapêutica medicamentosa ou cirurgia. Tem sido crescente o número de estudos sobre o uso de corticoterapia tópica para melhora dos sintomas de crianças com hipertrofia adenoideana.

Objetivo: O presente trabalho propõe comparar, em crianças com queixa de obstrução nasal e respiração oral, os efeitos nas queixas clínicas e no tamanho do tecido adenoideano, após lavagem nasal exclusiva e contínua com solução salina seguida de associação da mometasona tópica. Propõe, também, comparar esses efeitos entre os atópicos e não atópicos da população estudada.

Casuística e Métodos: As crianças incluídas no estudo foram submetidas a questionário clínico sobre a intensidade dos sintomas comuns deste quadro, teste alérgico cutâneo para alergen inalantes específicos mais nasofibroscopia, esta digitalizada para avaliar o índice de ocupação da área adenoideana em relação à área total da rinofaringe. O questionário e a nasofibroscopia foram repetidos em mais dois momentos: após 40 dias de exclusiva lavagem nasal e profilaxia ambiental, e em 80 dias, após a associação de mometasona tópica às medidas anteriores.

Resultados: Houve melhora significativa dos sintomas nasais e dos roncos após a lavagem nasal, e mais significativa ainda quando da associação da mometasona ao tratamento. Diminuição significativa do volume adenoideano foi observada após o uso da mometasona quando comparado, tanto ao momento inicial de avaliação quanto ao uso da solução salina associada à profilaxia ambiental. O uso de solução salina isolada não alterou estatisticamente o volume de tecido adenoideano. Não houve diferença significativa dos efeitos avaliados quando comparados os indivíduos atópicos e os não atópicos.

Conclusão: A mometasona tem efeito significativo na redução volumétrica do tecido adenoideano e na atenuação dos sintomas associados à obstrução nasal, sendo mais eficaz do que o uso exclusivo de solução salina e profilaxia ambiental associada. Os efeitos da lavagem nasal e da mometasona não são diferentes entre os indivíduos atópicos e não atópicos.

EXPRESSÃO DE ANTÍGENOS CÁRCINO-TESTICULARES MULTI MAGE-A, MAGE-C1 E NY-ESO1 EM CARCINOMA ESPINOCELULAR DE CAVIDADE ORAL

José Raphael Moura de Campos Montoro

Orientador: Prof. Dr. Rui Celso Martins Mamede

Tese de Doutorado apresentada em 01/11/2012

Introdução: Diante da perspectiva de aumento da mortalidade devido ao câncer de cavidade oral, faz-se necessário melhor conhecimento celular e molecular do mesmo, a fim de se obterem marcadores tumorais aptos a identificá-lo precocemente e detectar peptídeos tumorais específicos capazes de induzir resposta imune. Os antígenos cárcino-testiculares (ACT) formam um grupo de genes expressos numa variedade de neoplasias malignas e não expressos em tecidos normais, exceto nas células germinativas dos testículos e da placenta.

Objetivos: O presente estudo visa analisar a expressão dos ACTs, Multi MAGE-A, MAGE-C1 e NY-ESO-1 e avaliar sua relação com características clínicas, histológicas e prognósticas.

Casística e Métodos: De 63 blocos de parafina, foram obtidos cortes seriados representativos do tumor que foram marcados com os anticorpos 57B, MA454, M3H67, 6C1 (Multi MAGE-A), CT7-33 (MAGE-C1) e E978 (NY-ESO-1) para análise da imunomarcação no Instituto Ludwig - NY. Dos prontuários foram obtidas informações sobre: idade, sexo, tabagismo, etilismo e estadiamento, sobrevida e da análise histológica: infiltrado inflamatório, grau de diferenciação, invasão angio-linfática e neural que foram relacionados com a expressão dos ACTs.

Resultados: A expressão dos ACTs Multi MAGE-A foi de 90, 5%, do MAGE-C1 foi de 17, 5% e do NY-ESO-1 foi 12, 7%. Não houve relação significativa entre a expressão gênica, as variáveis estudadas e as curvas de sobrevida.

Discussão: A identificação de antígenos tumorais capazes de induzir resposta imune específica tem despertado o interesse dos pesquisadores. Com a combinação dos anticorpos MA454, M3H67, 6C1, 57B encontrou-se expressão de 90, 5% do Multi MAGE-A, qualificando-o como um potencial candidato ao tratamento imunoterápico baseado em ACT.

Conclusões: O Multi MAGE-A foi expresso em 90, 5%; o MAGE-C1 em 17, 5% e o NY-ESO-1 em 12, 7%. A expressão dos ACTs não apresentou relação com as variáveis estudadas, nem com as curvas de sobrevida.

PENETRAÇÃO DO MOXIFLOXACINO, OXIFLOXACINO E CIPROFLOXACINO NA CÓRNEA E NO HUMOR AQUOSO DE OLHOS HUMANOS ENUCLEADOS

Gleilton Carlos Mendonça da Silva

Orientador: Prof. Dr. Sidney Júlio de Faria e Sousa

Tese de Doutorado apresentada em 07/12/2012

Objetivo: Quantificar a penetração intraocular de colírios de ciprofloxacino 0. 3%, oxifloxacino 0. 3% e moxifloxacino 0. 5%, na córnea e no humor aquoso de olhos humanos enucleados imersos em colírio.

Métodos: Sessenta olhos enucleados e inviáveis para transplante de córnea foram divididos em três grupos e imersos em soluções comerciais de ciprofloxacino 0. 3%, oxifloxacino 0. 3% e moxifloxacino 0. 5% por 10 minutos. Amostras de humor aquoso e córnea foram coletadas e congeladas; e a concentração da droga nessas amostras foi analisada utilizando cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

Resultados: O IC 95% da média da concentração no interior do estroma corneano variou de 2. 50 a 4. 78 µg/g para o ciprofloxacino 0. 3%; de 5. 42 a 7. 87 µg/g para o oxifloxacino 0. 3% e de 10. 81 a 19. 16 µg/g para o moxifloxacino a 0. 5%. O IC 95% da média de concentração no humor aquoso variou de 0. 80 a 1. 30 µg/g para o ciprofloxacino 0. 3%; de 1. 20 a 1. 59 µg/g para o oxifloxacino 0. 3% e de 3. 38 a 5. 75 µg/g para o moxifloxacino a 0. 5%. No humor aquoso não foi possível detectar diferença estatisticamente significativa entre as médias das concentrações do oxifloxacino e ciprofloxacino.

Conclusões: A concentração corneana esperada para o moxifloxacino foi praticamente o dobro da do oxifloxacino e o quintuplo da do ciprofloxacino em olhos humanos enucleados, imersos em colírio por 10 minutos. A concentração esperada para o moxifloxacino no humor aquoso era de cerca de 3, 5 vezes superior à do ciprofloxacino e oxifloxacino. Não foi possível demonstrar diferença significativa entre esses dois antibióticos no humor aquoso.

EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE INSULINA E DE UM IMPLANTE TRANSITÓRIO DE BIOMEMBRANA DE LÁTEX NATURAL, DERIVADO DA SERINGUEIRA *Hevea brasiliensis*, EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE PERFURAÇÃO TRAUMÁTICA DE MEMBRANA TIMPÂNICA

Marcos Miranda Araújo

Orientador: Prof. Dr. Miguel Angelo Hyppolito

Tese de Doutorado apresentada em 07/12/2012

Nos últimos anos, houve uma tendência na busca por substâncias reguladoras que pudessem otimizar o processo de cicatrização de membranas timpânicas (MTs) perfuradas. Determinar os efeitos da utilização da insulina tópica e da biomembrana de látex natural, de forma isolada e em associação, no processo de cicatrização de perfurações traumáticas de MTs foram os objetivos deste estudo. MTs de 61 ratos Wistar foram perfuradas nas porções anterior e posterior ao cabo do martelo. Os animais foram divididos em quatro grupos: Controle, Insulina, Látex e Insulina+Látex. No grupo Insulina, as perfurações foram tratadas com uso tópico de insulina regular. No grupo Látex, tratadas com biomembrana de látex natural. No grupo Insulina+Látex, tratadas com associação da insulina e da biomembrana de látex. As MTs foram avaliadas por técnicas histológicas com três, cinco e sete dias após sua perfuração traumática. Foram analisadas as morfometrias das espessuras das camadas epitelial, fibrosa e mucosa; tamanho da perfuração; área da MT; avaliação semiquantitativa da produção de colágeno por microscopia de polarização e avaliação imuno-histoquímica da atividade epitelial, de miofibroblastos e da vascularização. A insulina acelerou a cicatrização da MT, estimulou precocemente a espessura epitelial e fibrosa, com maior formação de colágeno tecidual, que se apresentou melhor organizado em feixes de fibras colágenas mais espessas, contribuiu para o aumento de marcação pela panqueratina e pela alfa actina de músculo liso. A biomembrana de látex pode ter atuado como suporte vetorial que favoreceu a proliferação epitelial, estimulando a espessura fibrosa, a proliferação de miofibroblastos; e antecipando o fechamento da perfuração traumática da MT. A associação insulina mais látex, quando comparada ao grupo controle, favoreceu a antecipação da cicatrização da MT, estimulando precocemente a espessura epitelial e fibrosa, aumentando a marcação da panqueratina e da alfa actina de músculo liso. No entanto, a associação de insulina mais látex não foi superior ao uso dessas variáveis isoladamente. Como efeitos dos diferentes tratamentos propostos em perfurações traumáticas de MT, a insulina e a biomembrana de látex anteciparam o fechamento da camada epitelial externa da MT, promoveram aumento precoce da espessura da camada fibrosa e maior proliferação de miofibroblastos na lâmina própria da MT. A insulina isoladamente provocou maior formação do colágeno tecidual, com fibras colágenas mais espessas e melhor organizadas. A insulina e a biomembrana de látex natural, de forma isolada e em associação, aceleraram o processo de cicatrização de perfurações traumáticas de MTs.

EXPRESSÃO DE IL-5, IL-8 E TGF-BETA EM PACIENTES COM RINOSSINUSITE CRÔNICA COM PÓLIPO NASAL E SUA CORRELAÇÃO COM A CELULARIDADE TECIDUAL E RECIDIVA DA DOENÇA

Aline Jorge Gallego

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

Tese de Doutorado apresentada em 11/12/2012

Introdução: Atualmente, a rinosinusite crônica (RSC) com póliipo nasal (PN) é considerada uma doença inflamatória benigna e bilateral, dentre as RSC que compreendem um grupo heterogêneo de doenças de diversas etiologias, envolvendo diferentes mecanismos fisiopatogênicos. Nos últimos anos, com o surgimento de novas técnicas laboratoriais, sobretudo na biologia molecular, foram possíveis grandes avanços em direção à elucidação da fisiopatologia da doença. Por se tratar de uma doença inflamatória, é fundamental o entendimento dos mediadores inflamatórios e das vias de ação envolvidos.

Objetivos: Avaliar a expressão gênica das interleucinas 5 e 8 e do fator de crescimento transformador beta (TGF-beta) em pacientes com PN e controles, bem como sua correlação com a celularidade tecidual e recidiva da doença.

Metodologia: A expressão gênica dos mediadores foi quantificada pela técnica de PCR em tempo real (RT-PCR) em PN e mucosas de concha média de pacientes sem doenças nasais ou alteração endoscópica e as amostras foram analisadas histologicamente por microscopia óptica. A presença de recidiva foi avaliada por meio de exame nasofibrocópio.

Resultados: A expressão de IL-5 e IL-8 estava aumentada e a de TGF-beta diminuída no tecido polipoide, quando comparadas às mucosas de conchas nasais médias dos controles. Não foi encontrada correlação positiva com a celularidade tecidual ou presença de recidiva da doença.

Conclusões: O remodelamento que ocorre na RSC é um processo dinâmico que desequilibra o balanço entre a produção e a degradação da matriz extracelular da mucosa nasossinusal. Nesse processo, regulado por mediadores diversos, a IL-5 e o TGF-beta ganham cada vez mais destaque. Terapias inovadoras em RSC com PN já se baseiam no conhecimento da cascata inflamatória e no mecanismo de ação das células T e seus mediadores inflamatórios.

CARACTERIZAÇÃO ELETROFISIOLÓGICA, FUNCIONAL E ULTRAESTRUTURAL POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA ORELHA INTERNA DA *Cuniculus paca*: UM NOVO MODELO EXPERIMENTAL

Ijanete Almeida da Silva

Orientador: Prof. Dr. Miguel Angelo Hyppolito

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/12/2012

A paca (*Cuniculus paca*) é o segundo maior roedor da fauna brasileira com características inerentes à sua espécie que podem contribuir para torná-la uma nova opção de animal de experimentação em pesquisas audiológicas e em cirurgias otológicas, o objetivo desta pesquisa foi estudar a morfologia, ultraestrutura e função auditiva da orelha desse animal. Treze pacas com idade entre 6 e 72 meses foram submetidas aos exames de PEATE, EOAPD e EOAt. Após os exames, os animais foram eutanasiados e as bulas removidas do osso temporal para posterior análise da morfologia da orelha interna por MEV. Todos os animais apresentaram EOAt e EOAPD presentes. O PEATE permitiu a obtenção das 5 ondas características (I a V), sendo a onda V não frequente em todos os animais e a onda IV a mais prevalente. Os achados eletrofisiológicos foram relacionados com os resultados na MEV. Os resultados na paca foram semelhantes às de outros animais de experimentação, como a cobaia e o rato e, por suas características anatomofisiológicas apresenta vantagens como modelo de experimentação animal.

ANÁLISE QUANTITATIVA DA RETRAÇÃO PALPEBRAL SUPERIOR E INFERIOR NA ORBITOPATIA DE GRAVES

Gherusa Helena Milbratz

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Velasco e Cruz

Tese de Doutorado apresentada em 20/12/2012

O contorno palpebral é um importante parâmetro no campo da oculoplástica, e tradicionalmente sua avaliação é feita de modo subjetivo. Recentemente um novo método, que permite quantificar aspectos morfométricos e analisar assimetrias do contorno palpebral, foi desenvolvido no Laboratório de Oculoplástica do Departamento de Oftalmologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Utilizando este método, o presente estudo foi conduzido com o objetivo de analisar o contorno palpebral superior e inferior de um grupo controle (GC, n = 45), e de um grupo de pacientes com retração palpebral superior e inferior por orbitopatia de Graves - grupo Graves (GG, n = 40). Adicionalmente, para estudar a possível influência do grau de proptose e do espessamento dos músculos levantador da pálpebra superior (LPS) e reto inferior (RI) sobre o contorno palpebral, foram realizados os exames de exoftalmometria de Hertel e ressonância nuclear magnética. Verificou-se no GC assimetria lateral do contorno nas pálpebras superior e inferior, sendo a assimetria do contorno inferior mais acentuada. Na pálpebra superior do GG houve tendência da assimetria lateral ser maior do que no GC, e as maiores deformações do contorno (picos de contorno) encontraram-se no setor lateral da fenda palpebral. Na pálpebra inferior do GG a assimetria lateral do contorno foi significativamente menor do que no GC, e os picos de contorno localizaram-se no setor medial da fenda. Os valores de exoftalmometria não apresentaram correlação com a magnitude da retração e com a assimetria do contorno na pálpebra superior. Por outro lado, na pálpebra inferior os valores de exoftalmometria foram correlacionados positivamente à magnitude da retração inferior e negativamente à assimetria lateral do contorno. A espessura do LPS apresentou correlação positiva com a magnitude da retração superior, mas não foi associada à localização lateral

ou medial do pico de contorno palpebral superior. A dimensão do RI não foi relacionada à magnitude da retração, tanto superior quanto inferior, e nem à localização dos picos do contorno palpebral inferior. Os resultados deste estudo demonstram que há assimetria lateral no contorno superior e inferior de indivíduos normais. No caso de retração palpebral por orbitopatia de Graves também existe assimetria lateral, porém no contorno inferior esta assimetria é significativamente menor. Além disso, demonstra-se que o grau de proptose interfere na magnitude da retração e na assimetria do contorno palpebral inferior; e a espessura do LPS é relacionada à magnitude da retração na pálpebra superior.

Ortopedia, Traumatologia e Reabilitação

ESTUDO DA ESTRUTURA ÓSSEA DE RATOS APÓS LESÃO MEDULAR: ANÁLISE DA INTERVENÇÃO DE TÉCNICAS FISIOTERAPÊUTICAS

Ariane Zamarioli

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Shimano

Tese de Doutorado apresentada em 25/10/2012

A lesão medular é uma afecção crônica, com alta incidência, que provoca danos funcionais permanentes e irreversíveis. Além de apresentar complicações que reduzem a qualidade de vida, aumentam a taxa de morbidade e mortalidade e afetam diversos órgãos e sistemas, dentre eles o sistema musculoesquelético. Em relação às complicações ósseas, destacam-se a osteopenia e a osteoporose, cuja fisiopatologia ainda não foi completamente esclarecida. Métodos profiláticos e terapêuticos são utilizados para atenuar a perda de massa óssea e prevenir fraturas. Ortostatismo, eletroestimulação e terapia por vibração são recursos de reabilitação fisioterapêutica que podem ser aplicados com a finalidade de atenuar a perda de massa óssea pós-lesão medular. No entanto, os estudos sobre os efeitos desses recursos são controversos e escassos na literatura e, portanto, inconclusivos. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da lesão medular na resistência, densidade e microestrutura de ossos (fêmur, tíbia, vértebra lombar e úmero) de ratos, tão como alterações bioquímicas sanguíneas relacionadas à formação e reabsorção óssea. Além disso, objetivamos avaliar a influência de recursos fisioterapêuticos como ortostatismo, eletroestimulação e terapia por vibração sobre o metabolismo ósseo, tanto na fase aguda (A) como na crônica (B) após lesão medular. Cem ratos Wistar (210-220g) foram divididos em dez grupos (n=10 por grupo): 1- Sham (A), 2- Sham (B): placebo, 3- LM (A), 4- LM (B): lesão medular sem tratamento, 5- LM+FES (A), 6- LM+FES (B): lesão medular e tratamento com eletroestimulação, 7- LM+OT (A), 8- LM+OT (B): lesão medular e tratamento com ortostatismo, 9- LM+TV (A) e, 10- LM+TV (B): lesão medular e tratamento com terapia por vibração. Os animais dos grupos A foram submetidos à eutanásia 33 dias após a secção cirúrgica completa da medula espinhal e, os tratamentos fisioterapêuticos tiveram início três dias após a lesão medular (fase aguda). Os animais dos grupos B foram submetidos à eutanásia 63 dias após a cirurgia e, os tratamentos fisioterapêuticos tiveram início 33 dias após a lesão medular (fase crônica). Todos os tratamentos foram aplicados 3x/semana, 20min/sessão, durante 30 dias. Ao término do período experimental, os ossos foram submetidos às análises densitométrica, macroscópica, biomecânica e histomorfométrica enquanto que, o sangue foi submetido à análise bioquímica para avaliar os níveis de formação e reabsorção ósseas. O nível de significância estatística foi de 5%. Todas as análises demonstraram redução significativa da qualidade óssea pós-lesão medular nos ossos localizados abaixo do nível da lesão, ou seja, fêmur, tíbia e vértebra lombar, assim como aumento nos níveis séricos de marcadores de reabsorção óssea e redução dos marcadores de formação óssea. O úmero, localizado acima do nível da lesão, não apresentou alterações significativas. Os tratamentos fisioterapêuticos mostraram-se, por meio das análises realizadas, eficazes tanto na prevenção, como no tratamento da perda de massa óssea pós-lesão medular. No entanto, os efeitos foram mais significativos quando aplicados na fase crônica, como recurso terapêutico. O ortostatismo foi a modalidade que apresentou os melhores resultados, seguido pela terapia por vibração e, por último pela eletroestimulação. Concluiu-se que a lesão medular causou deterioração da estrutura óssea nos ratos estudados, e a perda óssea foi minimizada e até revertida por meio da aplicação de recursos fisioterapêuticos de reabilitação.

A LASERTERAPIA DE BAIXA POTÊNCIA APLICADA NO TRAJETO DO NERVO E NAS RAÍZES MEDULARES CORRESPONDENTES NÃO INFLUENCIA A REGENERAÇÃO DO NERVO FIBULAR DE RATOS

Fausto Fernandes de Almeida Sousa

Orientador: Prof. Dr. Claudio Henrique Barbieri

Tese de Doutorado apresentada em 01/11/2012

Diferentes estudos foram conduzidos em busca de melhora e ou aceleração da recuperação de nervos periféricos lesados. Entre os métodos de tratamento estudados está o laser de baixa intensidade, cuja utilização foi ampliada na última década, sendo este, comumente irradiado no local da lesão. Alguns autores propuseram que a recuperação nervosa periférica poderia ser aumentada se o segmento correspondente da medula espinhal também for irradiado. Este estudo tem como objetivo verificar a influência do laser de baixa intensidade de AsGaAl (830nm), irradiado em diferentes locais, após lesão por esmagamento do nervo fibular comum de ratos, através da avaliação funcional da marcha e da avaliação morfométrica.

Metodologia: Foram utilizados 45 ratos, divididos em 5 grupos: 1) Íntegro: não submetido à lesão, e não tratado; 2) Controle: lesado e não tratado; 3) Nervo: lesado, e irradiado no trajeto do nervo; 4) Medula: lesado, e irradiado na região que corresponde à raiz do nervo ciático; 5) Ambos: lesado, e tratado na medula e no trajeto do nervo. A lesão foi provocada por uma pinça esmagadora de 5mm, com 5Kgf, por 10 minutos, e o tratamento realizado por 14 dias consecutivos. Para a avaliação funcional foi utilizada uma esteira com velocidade controlada, a qual captou as imagens no 7º e 14º dias após a lesão. No 15º dia de pós-operatório a região proximal do nervo fibular comum foram coletadas e submetidas à análise morfométrica.

Resultados: Pelo PFI, não foram observados nenhum valor significante. Na análise morfométrica, em relação à quantidade de fibras e diâmetro mínimo das fibras mielínicas, não foi observado nenhum valor significante. Em relação à quantidade de núcleos de células de Schwann, e de vasos sanguíneos, algumas diferenças significativas foram observadas entre os grupos. A distribuição da porcentagem do diâmetro mínimo das fibras, dos axônios e da razão-G, não apresentaram diferenças significantes. Os histogramas mostraram grande quantidade de fibras pequenas e desaparecimento mais acentuado das fibras grandes.

Conclusão: A irradiação do laser de baixa intensidade AsGaAl (830nm), não foi eficaz, apresentando pouca ou nenhuma influencia sobre a regeneração nervosa e recuperação funcional dos três grupos irradiados.

RESPOSTA ELETROMIOGRÁFICA E DE FORÇA DO MÚSCULO TIBIAL ANTERIOR PÓS ACUPUNTURA AURICULAR EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS

Tainan de Castro Silva

Orientador: Prof. Dr. João Eduardo de Araújo

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/11/2012

A Acupuntura é uma técnica utilizada e amplamente estudada na Medicina Oriental e Ocidental. Uma modalidade de utilização da acupuntura são os microsistemas, áreas específicas do corpo que possuem uma representação total do mesmo. O objetivo do nosso trabalho foi, através da ativação muscular e da força de dorsiflexão representada no músculo tibial anterior (TA), verificar a efetividade de pontos do microsistema auricular que correspondem ao membro inferior (MI). Utilizamos agulhas de acupuntura para a estimulação do pavilhão auricular, nas áreas anatômicas da Fossa triangular, Anti hélice e Tragus. O grupo controle não foi submetido à acupuntura e no grupo Sham apenas simulamos a inserção da agulha. Participaram do trabalho 69 sujeitos com idade entre 18 e 40 anos, saudáveis, de ambos os sexos. Os dados eletromiográficos (RMS) e de força (kgf) foram normalizados em porcentagem e a análise estatística foi realizada através de uma ANOVA, seguida do teste post hoc de *Holm Sidak*. Nosso trabalho sugere que a estimulação de pontos na Anti hélice e no Tragus, relacionados com os mapas de acupuntura auricular, diminuem a ativação do músculo TA. Ainda, a estimulação da Fossa triangular, região de somatotopia do membro inferior nos mapas de auriculoterapia, produz um aumento da força de dorsiflexão do tornozelo. Foram encontrados mais resultados em relação ao MI contralateral ao pavilhão auricular em que foi realizada a acupuntura.

Patologia

PAPEL DOS CARBOIDRATOS E CARACTERIZAÇÃO DE ALTERAÇÕES CELULARES HEPÁTICAS EM MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME DE REALIMENTAÇÃO

Amanda Franceschini Canale

Orientador: Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/12/2012

Introdução: Síndrome da Realimentação (SR) é um termo que descreve um largo espectro de anormalidades bioquímicas e consequências clínicas, presentes em indivíduos desnutridos, ou submetidos ao jejum, e realimentados. O papel dos carboidratos na indução da síndrome não está completamente estabelecido. Entretanto, estudos têm proposto a utilização de módulos lipídicos na renutrição de pacientes com elevado risco de SR. Adicionalmente, apesar do aumento sérico em transaminases, não há descrição das alterações histológicas hepáticas na SR.

Objetivos: Os objetivos deste estudo foram: investigar o papel dos carboidratos na indução de SR e caracterizar as alterações celulares no tecido hepático, na vigência de SR.

Material e Métodos: Quarenta ratos machos Wistar foram alocados em 4 grupos (10 animais/grupo): grupo controle (C), grupo jejum (J), grupo realimentação com carboidrato (RC) ou grupo realimentação com lipídeo (RL). Após o período de adaptação (11 dias) teve início o experimento. O grupo C recebeu dieta AIN-93 *ad libitum* por 96 horas. O grupo J apenas permaneceu em jejum por 48 horas. Os grupos RC e RL, além do jejum por 48 horas, foram realimentados com dieta AIN-93 (RC) ou hiperlipídica (RL) por outras 48 horas. A dieta hiperlipídica era isenta de carboidratos e continha 70% de gordura animal. Ao final do experimento os animais foram decapitados e o sangue, fígado e tecido adiposo epididimal e retroperitoneal foram coletados.

Resultados: Nos animais realimentados com dieta AIN-93 foi verificada SR por meio da redução sérica de fósforo, potássio e magnésio. O peso relativo do fígado, neste grupo, encontrava-se significativamente aumentado. Na análise microscópica do tecido hepático foi averiguado grau leve (1⁺) de esteatose hepática. A degeneração baloniforme foi encontrada em toda a extensão do tecido hepático e classificada como 3U em mais de 50% do grupo. Nos animais realimentados com dieta hiperlipídica não ocorreu indução de SR. Entretanto, havia esteatose hepática, confirmada pelas análises bioquímicas e histológicas. A esteatose hepática, nestes animais, foi acompanhada por aumento do estresse oxidativo e de transaminases hepáticas.

Discussão: Os resultados confirmam o papel dos carboidratos na indução de SR. A principal alteração hepática, em animais com a síndrome, foi a degeneração baloniforme (edema celular) consequente ao mau funcionamento da bomba Na⁺/K⁺. A ocorrência de hipofosfatemia nestes animais acarretou redução nos níveis de adenosina trifosfato (ATP) e consequente comprometimento na função desta bomba. A constatação de SR com dieta AIN-93, e ausência da síndrome com dieta hiperlipídica, sugere que os lipídeos são mais adequados para a realimentação. Entretanto, a indução de esteatose hepática no grupo RL, possivelmente resultante do tipo e proporção de lipídeos dietéticos utilizados, contradiz esta indicação.

Conclusão: A realimentação com dietas com maior proporção de carboidratos induz SR. Apesar dos efeitos negativos da utilização de dieta hiperlipídica na renutrição, a ausência de SR levanta questões quanto à proporção de macronutrientes ideal para evitar a síndrome. Este estudo também concluiu que, em contrapartida aos relatos de casos que sugerem presença de esteatose hepática, a principal alteração hepática na SR foi a degeneração baloniforme.

Saúde da Criança e do Adolescente

ANÁLISE DOS GENES *SHH* E *GLI2* EM PACIENTES COM HIPOPITUITARISMO E/OU DEFEITOS DE LINHA MÉDIA CEREBRAL

Sabrina Soares Paulo

Orientador: Prof. Dr. Sonir Roberto Rauber Antonini

Tese de Doutorado apresentada em 13/11/2012

Introdução: Os genes *Sonic Hedgehog (SHH)* e *Gli-kruppel family member 2 (GLI2)* atuam no desenvolvimento precoce do sistema nervoso central (SNC) e da hipófise. Mutações nos genes *SHH* ou *GLI2* foram encontradas em

pacientes com defeito de linha média cerebral (DLMC). No entanto, há poucos estudos avaliando anormalidades nesses genes em pacientes com hipopituitarismo sem DLMC.

Objetivos: Avaliar a presença de mutações ou variação no número de cópias nos genes *SHH* e *GLI2*, em pacientes com diagnóstico de hipopituitarismo e/ou DLMC atendidos no HCFMRP-USP.

Pacientes e Métodos: 115 pacientes com diagnóstico de hipopituitarismo congênito (n=62), displasia septo-óptica (DSO; n=38) ou holoprosencefalia (HPE; n=15) foram avaliados clínico-laboratorialmente e por ressonância nuclear magnética do SNC. Em todos estes pacientes as regiões codificadoras e de transição íntron-éxon dos genes *SHH* e *GLI2* foram amplificadas por PCR e sequenciadas automaticamente. A variação do número de cópias foi avaliada por *multiplex ligation-dependent probe amplification* (MLPA).

Resultados: Foi encontrada uma nova mutação no gene *SHH* (p. Y175X) em um paciente com HPE alobar, defeitos de linha média facial e hipopituitarismo. Nenhuma outra mutação ou variação do número de cópias no gene *SHH* foi encontrada nos pacientes sem HPE. Entre os pacientes com hipopituitarismo congênito foram observadas duas novas mutações missense no gene *GLI2* (p. V183M e p. A1439T). Foi observado ainda a primeira mutação em heterozigose composta p. [A1439T]; [L788fsX794] em uma paciente com hipopituitarismo e dente incisivo central único. Em pacientes com DSO foram observadas duas novas mutações missense no gene *GLI2* (p. A714T e p. L761F). A mutação p. A714T é o primeiro relato de uma mutação em homozigose e a mutação p. L761F é importante por estar localizada no domínio de acetilação. Não foi identificado variação do número de cópias no gene *GLI2* dos pacientes analisados.

Conclusão: Mutações no gene *SHH* são raras e não foram encontradas em pacientes com hipopituitarismo sem DLMC. Mutações no gene *GLI2*, incluindo a primeira mutação em homozigose a primeira mutação em heterozigose composta, foram encontradas em pacientes com diferentes espectros fenotípicos, como hipopituitarismo congênito e DSO.

ÂNGULO DE FASE E ASSOCIAÇÃO COM PREDITORES DE GRAVIDADE E ÍNDICES ANTROPOMÉTRICOS EM CRIANÇAS CARDIOPATAS

Carolina Reis Bustamante

Orientador: Prof. Dr. José Simon Camelo Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/11/2012

O ângulo de fase (AF) é um índice derivado da relação entre Resistência (R) e Reactância (Xc), parâmetros obtidos pelo exame de Impedância Bioelétrica (IBE). Tal índice tem sido descrito como ferramenta de avaliação nutricional e de prognóstico em diversas situações clínicas, pois seu valor reflete diferentes propriedades elétricas dos tecidos que são afetados pela doença, estado nutricional e hidratação. Além disso, o AF permite avaliação sem necessidade do peso corporal e de equações preditivas de IBE. As cardiopatias congênitas podem prejudicar o crescimento e desenvolvimento da criança e a prevalência de subnutrição nessa população é alta, o que compromete o resultado da cirurgia e a recuperação no pós-operatório, além de ser o fator de risco mais importante para morbidade e mortalidade na infância. Este trabalho teve como objetivo estudar o AF em crianças cardiopatas, comparando seu valor nos períodos pré e pós-operatórios e analisando sua utilidade como ferramenta de avaliação do estado nutricional e de prognóstico, por meio da associação de AF a índices antropométricos e conhecidos preditores de gravidade. Trata-se de um estudo de coorte prospectiva, longitudinal e analítico, conduzido com 66 crianças cardiopatas internadas no HCFMRP-USP com idade entre 0 e 7 anos incompletos, sendo 44% do sexo feminino. Dados gerais, antropométricos e da avaliação de IBE (800 ~ A-50 kHz) foram obtidos. O AF foi associado aos índices antropométricos derivados do peso (P), estatura (E), índice de massa corporal (IMC), circunferência do braço (CB) e idade (I): P/I, E/I, P/E, IMC/I, CB/I. Além disso, AF foi associado ao edema e aos preditores de gravidade: hiper e hipopotassemia, hiperglicemia, hiperlactatemia e níveis séricos elevados de PCR, IL-6 e TNF- α . A comparação entre o AF e as categorias das variáveis de interesse, por período (pré ou pós-operatório), e a comparação entre AF, R e Xc, antes e após a cirurgia, foram feitas através de um modelo de regressão linear. Para verificar associação entre AF e as variáveis de interesse foi utilizado o coeficiente de correlação de Spearman. Entre os 26 participantes avaliados nos períodos pré e pós-cirúrgico, a média do AF foi respectivamente de 3, 41 \pm 0, 95° e 2, 98 \pm 0, 87°, observando-se diferença entre elas (p-valor <0, 05). Tal resultado confirma a hipótese de que o AF diminui após cirurgia cardíaca. Ao investigar a associação entre o AF e as variáveis de interesse entre os 66 pacientes avaliados nos períodos pré e/ou pós-operatório, observou-se que o AF está correlacionado a alguns marcadores do estado nutricional (P/I, E/I, CB/I) e edema, pois seu valor foi menor no grupo da variável de interesse alterada (p-valor <0, 05), porém não foi encontrada relação com marcadores de gravidade utilizados. Os achados do presente estudo reforçam a utilidade do AF como ferramenta complementar na avaliação do estado nutricional.

AValiação DA FUNÇÃO ADRENAL EM CRIANÇAS GRAVEMENTE DOENTES

Viviane da Mata Pasti Balbão

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Ana Paula C. P. Carlotti

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/11/2012

A função adrenal tem sido muito estudada em pacientes gravemente doentes, porém, não há consenso sobre as suas definições. Naqueles com hipoproteinemia, há diminuição das concentrações de cortisol sérico total, devido à redução das proteínas carreadoras, mas a fração livre representada pelo cortisol salivar não se altera. O objetivo do estudo foi avaliar a função adrenal em crianças gravemente doentes pela medida das concentrações do cortisol sérico total e salivar, bem como associação de insuficiência adrenal com evolução clínica e mortalidade. Foi realizado estudo de coorte prospectivo, incluindo crianças internadas na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) Pediátrica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Foram avaliadas as concentrações de cortisol salivar e sérico total, antes e após teste com 250 µg de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e os valores foram comparados a um grupo de crianças saudáveis. A associação entre insuficiência adrenal e evolução foi avaliada pelo tempo de ventilação mecânica, necessidade de terapia vasopressora, presença de choque refratário às catecolaminas, necessidade de corticoterapia após a coleta, tempo de internação em UTI, e mortalidade na UTI e em 28 dias. Foram incluídas 49 crianças, sendo 32 doentes (idade entre 0, 7 e 201 meses) e 15 saudáveis (idade entre 49 e 187 meses). O diagnóstico mais prevalente foi Seps/Choque Séptico. A prevalência de insuficiência adrenal foi 32, 3% pelo critério do delta cortisol sérico ≥ 9 µg/dL e este grupo apresentou escore PRISM III mais elevado. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos para as demais variáveis de gravidade ou de desfecho. Uso de hidrocortisona para choque refratário e óbito ocorreram em apenas um paciente do grupo com insuficiência adrenal. As concentrações do cortisol sérico total e salivar pré e pós-ACTH foram significativamente maiores nos doentes do que nos saudáveis ($p < 0,0001$ e $p = 0,0002$; $p < 0,0001$ e $p = 0,0009$ respectivamente). O cortisol sérico total e salivar pré-ACTH foram bem correlacionados em doentes e saudáveis ($r = 0,72$; $p < 0,0001$ e $r = 0,75$; $p = 0,001$ respectivamente). Não houve diferença significativa das concentrações de cortisol sérico e salivar (basal e pós-ACTH) entre pacientes com e sem hipoalbuminemia. Construímos curvas ROC para verificar pontos de corte nos valores do cortisol sérico e salivar que identificassem pacientes graves com e sem insuficiência adrenal definida por escore inotrópico diferente de zero, já que o critério do delta não se associou à evolução clínica e ao desfecho. Apenas o cortisol salivar pós-ACTH teve alta sensibilidade, com especificidade aceitável para identificar pacientes que necessitaram do uso de drogas vasoativas. Concluímos que a função adrenal das crianças doentes foi diferente em relação às crianças saudáveis e discordamos que o critério do delta seja um bom marcador para diagnóstico de insuficiência adrenal em crianças gravemente doentes.

FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À SENSIBILIZAÇÃO ALÉRGICA, RINITE E ECZEMA EM CRIANÇAS DE RIBEIRÃO PRETO/SP E SÃO LUÍS/MA

Eliane Alves Figueiredo

Orientadora: Profa. Dra. Virgínia Paes Leme Ferriani

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/11/2012

A prevalência das doenças alérgicas é alta em muitos países, incluindo o Brasil, e os fatores de risco associados ao desenvolvimento dessas doenças variam de acordo com a população estudada. O objetivo do presente estudo foi avaliar os fatores de risco associados ao desenvolvimento de sensibilização alérgica, rinite alérgica e eczema alérgico em escolares de Ribeirão Preto (SP) e São Luís (MA). As crianças incluídas pertencem a duas coortes de nascimento distintas. A coorte de Ribeirão Preto teve início em 1994 e as crianças foram incluídas no presente estudo com idade entre 10 e 11 anos. A coorte de São Luís iniciou-se em 1997 e as crianças dessa coorte foram incluídas com idade entre 7 e 8 anos. Para identificar a presença de rinite e eczema foram coletadas informações por meio de questionário epidemiológico padronizado sobre doenças alérgicas (ISAAC) aplicados aos responsáveis pelas crianças. A presença de sensibilização alérgica foi avaliada por testes cutâneos para inalantes pela técnica de puntura. Os fatores de risco avaliados por regressão logística foram: escolaridade materna, tabagismo materno, gênero, relação peso/idade gestacional, tempo de aleitamento materno, tipo de parto, antecedente familiar de doenças alérgicas, presença de gato ou cão em casa nos primeiros anos de vida, frequência

a creche, presença de outra criança no quarto e internação por infecção (pneumonia, diarreia ou meningite) antes dos 5 anos de idade. Resultados obtidos em Ribeirão Preto: associação de proteção entre gênero feminino e sensibilização alérgica com *odds ratio* (OR) ajustado de 0,70 (IC 95%: 0,53; 0,91 p=0,009) e rinite alérgica, OR 0,57 (IC 95%: 0,38; 0,85 p=0,006). Crianças amamentadas ao peito por período menor ou igual a 30 dias apresentaram maior risco de sensibilização alérgica (OR 1,45 IC 95%: 1,02; 2,06 p=0,038) e as que nunca foram amamentadas tiveram maior risco de desenvolver rinite alérgica (OR 1,94 IC 95%: 1,24; 3,04 p=0,004). Em São Luís, os fatores de risco para sensibilização alérgica na análise ajustada foram: peso grande para idade gestacional (OR 1,75 IC 95%: 1,09; 2,80 p=0,020), internação por infecção (OR 1,58 IC 95%: 1,40; 2,20 p=0,006) e presença de cão no domicílio no primeiro ano de vida (OR 1,52 IC 95%: 1,08; 2,14 p=0,017). Para rinite alérgica, foram identificados como fatores de risco a alergia familiar (OR 2,85 IC 95% 1,43; 5,66 p=0,003), presença de cão na casa (OR 2,05 IC 95% 1,20; 3,49 p=0,008) e internação por infecção (OR 1,91 IC 95%: 1,14; 3,19 p=0,014). Para o eczema alérgico os fatores de risco identificados foram peso grande para idade gestacional (OR 2,76 IC 95%: 1,31; 5,81 p=0,007), não ter frequentado creche (OR 2,08 IC 95% 1,03; 4,18 p=0,041) e internação por infecção (OR 1,88 IC 95%: 1,04; 3,40 p=0,037). A baixa escolaridade materna esteve associada com proteção contra o desenvolvimento de eczema alérgico nessas crianças (OR 0,24 IC 95%: 0,07; 0,87 p=0,030 e OR 0,28 IC 95%: 0,07; 0,98 p=0,046).

ANÁLISE DOS NÍVEIS DE IMUNOGLOBULINAS, INTERLEUCINAS E COLONIZAÇÃO BACTERIANA EM AMOSTRAS SALIVARES NOS PRIMEIROS MESES DE VIDA EM NASCIDOS A TERMO E PRÉ-TERMO

Maria Lúcia Talarico Sesso

Orientadora: Profa. Dra. Ruchele Dias Nogueira Geraldo Martins.

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/12/2012

O sistema imune de mucosas representa uma importante ferramenta de defesa contra a colonização da cavidade oral, especialmente pela presença das imunoglobulinas salivares no início da vida. Além das imunoglobulinas, as citocinas salivares também possuem funções importantes, pois utilizam células linfóides para amplificar ou deprimir a resposta inflamatória e podem ser consideradas biomarcadores proteicos. No entanto, pouco se sabe sobre a ontogenia dos componentes do sistema imune de mucosas em recém-nascidos a termo (AT) e especialmente em pré-termo (PT, com gestação inferior a 37 semanas) que reconhecidamente apresentam imaturidade imunológica. O objetivo do presente estudo foi o de analisar os níveis de imunoglobulinas (Ig) A (IgA) e M (IgM), citocinas: interleucinas (IL) IL-6, IL-10, IL-12 e interferon (IFN) (IFN- γ) e 20 tipos distintos de bactérias orais em amostras de salivas de crianças ao nascer (T0) e após 3 meses de vida (T3) em PT e AT. Para isto, 123 amostras de saliva (70 AT e 53 PT) foram coletadas e os níveis de IgA e IgM foram quantificadas por ensaios ELISA. Em um subgrupo de 50 amostras (25 AT e 25 PT) foram analisadas a presença de 20 tipos diferentes de espécies bacterianas através de *Checkerboard* e os níveis de citocinas através de ensaio Luminex®. Dados socioeconômicos e do nascimento foram avaliados através de questionários. Os resultados do *Checkerboard* mostraram que nenhuma criança apresentou níveis detectáveis das bactérias testadas. Houve diferenças estatisticamente significantes (p<0,05) nos níveis de IgA em T0, sendo que PT apresentaram níveis inferiores aos AT, o que não aconteceu em T3. Diferentemente, não houve diferenças nos níveis de IgM entre os grupos e visitas (p>0,05). A análise prospectiva mostrou que houve um aumento dos níveis de IgA de T0 para T3 em ambos os grupos. Quanto à citocinas, houve diferenças somente em T0 entre PT e AT, nos níveis de IL-6 e IL-10 que foram significativamente superiores em PT (p<0,05). Desta maneira, os dados sugerem que a prematuridade pode levar a algumas diferenças no status da resposta imunológica de mucosas no nascimento o que não acontece após 3 meses.

CONCENTRAÇÃO DE CHUMBO METÁLICO NO SANGUE DE ESCOLARES E A SUA RELAÇÃO COM AS VARIÁVEIS DE EXPOSIÇÃO, COGNITIVAS E DE QUALIDADE DE VIDA

Sidney Marcel Domingues

Orientador: Prof. Dr. Antônio Luiz Rodrigues-Júnior / Co-orientadora: Profa. Dra. Heloísa Bettiol

Tese de Doutorado apresentada em 17/12/2012

A exposição de crianças ao chumbo tem preocupado os especialistas, na medida em que, nessa fase da vida, são construídas as habilidades físicas, mentais e intelectuais. Dessa forma, o contato com qualquer agente nocivo repercutirá

no curso da vida desse indivíduo, com efeitos de modelação, latência e cumulação, interferindo no seu desenvolvimento e determinando/condicionando o seu bemestar. Assim, o presente trabalho teve o intuito de estudar a relação entre a concentração de chumbo metálico no sangue de escolares e as variáveis de exposição, cognitivas e de qualidade de vida. Tratou-se de um estudo transversal, descritivo, exploratório, cuja unidade de observação foi a criança, supostamente, exposta ao chumbo metálico, usando questionários como instrumentos de coleta de informações, com amostragem por conveniência, caracterizando uma abordagem quantitativa. A geocodificação dos endereços dos informantes permitiu realizar uma abordagem local da exposição, utilizando-se, adicionalmente, da observação informal nos respectivos domicílios, caracterizando uma abordagem qualitativa do espaço geográfico. Foram estudadas 155 crianças, provenientes de quatro instituições públicas de ensino, localizadas em Ribeirão Preto-SP, e que foram submetidas à dosagem de chumbo em estudo prévio. A análise estatística dos dados foi realizada, primeiramente, pelo método de correlação de Pearson, para estudar a correlação entre a concentração de chumbo no sangue e os escores do Critério de Classificação Econômica Brasil (CCEB); entre a concentração de chumbo no sangue e os escores de cognição, e entre a concentração de chumbo no sangue e os escores de qualidade de vida. Em seguida, o Teste Exato de Fisher, para estudar a associação entre as classes de concentração de chumbo no sangue ($< 2 \mu\text{g/dl}$ – normal; $\geq 2 \mu\text{g/dl}$ – alterada) e a estratificação do CCEB, entre as classes de concentração de chumbo no sangue e a estratificação cognitiva, e entre as classes de concentração de chumbo no sangue e a estratificação da qualidade de vida. E, posteriormente, o método multivariado de agrupamentos (análise de *clusters*), usando o conjunto temático construído “indicadores de exposição”, o qual continha o indicador-gradiente de exposição, o indicador-meio ambiente e o indicador-hábito, para descrever os resultados encontrados; o método de Alfa-Cronbach foi utilizado para a verificação da consistência interna dos instrumentos e indicadores construídos; tabelas, gráficos e medidas descritivas foram usados. A presente investigação encontrou, na análise de *clusters*, dois grupos distintos, WA e WB, dos quais, em relação ao CCEB, a média de concentração de chumbo no sangue foi maior no grupo WA, estando as classes econômicas centradas nas classes B2 e C1; em relação à cognição, os dois grupos tiveram condições similares, sendo que, nos dois grupos, quando a condição de cognição era normal, as médias das concentrações de chumbo foram maiores ou iguais a $2 \mu\text{g/dl}$; já em relação à qualidade de vida, o grupo WB obteve a maior porcentagem; no entanto, as crianças do grupo WA, independentemente da condição de qualidade de vida, normal ou alterada, apresentaram as médias das concentrações de chumbo no sangue maiores ou iguais a $2 \mu\text{g/dl}$. Adicionalmente, apesar dos desafios operacionais que permearam este estudo e a ausência de correlação e/ou associação entre as concentrações de chumbo no sangue e as variáveis de exposição, cognitivas e de qualidade de vida, os indicadores de exposição construídos (“indicador-gradiente de exposição”, “indicador-meio ambiente” e “indicador-hábito”), apontaram indícios de relação entre as concentrações de chumbo no sangue e os graus de exposição dos respectivos indicadores de exposição e relação entre o grau de exposição e a percepção dos pais ou responsáveis quanto ao rendimento escolar das crianças. As hipóteses existentes na literatura não puderam ser efetivadas nem indicaram uma força de associação evidente, que fornecesse um norte para as futuras pesquisas sobre o tema; contudo, o presente estudo mostrou que as técnicas estatísticas, os instrumentos tecnológicos e os métodos científicos devem ser usados com coerência, para abordar o assunto de maneira consistente e fundamentada.

ESTUDO DAS BASES MOLECULARES DA PUBERDADE PRECOCE DEPENDENTE DE GONADOTROFINAS IDIOPÁTICA

Ana Claudia Silva Reis

Orientador: Prof. Dr. Sonir Roberto Rauber Antonini

Tese de Doutorado apresentada em 29/12/2012

A etiopatogênese da puberdade precoce dependente de gonadotrofinas (PPDG) é desconhecida na maioria dos casos, especialmente em meninas. A demonstração da ocorrência frequente de casos familiares sugere uma determinação genética, entretanto, apenas duas mutações ativadoras na kisspeptina e no seu receptor, KISS1R, foram descritas até o momento. Além deste sistema, considerado um dos principais reguladores da secreção de GnRH, outros genes candidatos surgiram nos últimos anos. Mutações inativadoras na neurokinina B (NKB), codificada pelo gene *TAC3*, e no seu receptor NK3R, codificado pelo gene *TACR3*, são causa de hipogonadismo hipogonadotrófico isolado (HHI). Desta forma, alterações neste sistema poderiam ser causa de PPDG. Outro candidato a regulador puberal é o gene *LIN28B*, pois polimorfismos no *locus* deste gene foram relacionados com a idade de menarca e menopausa em estudos populacionais de associação

genética em larga escala. No presente estudo avaliamos a presença e o papel de mutações e/ou polimorfismos nos genes *KISS1*, *KISS1R*, *TAC3*, *TACR3* e *LIN28B* na ocorrência de PPDG idiopática. A casuística foi composta por 105 pacientes com PPDG idiopática confirmada (95% do sexo feminino). A pesquisa de mutações e polimorfismos foi feita por meio de sequenciamento automatizado de toda a região codificadora e de transição íntron-éxon destes genes, seguida pelo estudo funcional *in vitro* das variantes genéticas identificadas. A nova variante *KISS1R* Pro37Ser (c. 109 T>C) foi identificada em heterozigose em uma paciente que apresentava telarca desde o nascimento e não foi observada em 110 controles com puberdade fisiológica nem em bancos de dados genéticos. *In vitro*, não houve diferença entre o mutante *KISS1R* Pro37Ser e o receptor nativo na produção e acúmulo de inositol fosfato (IP) e quinase regulada por sinal extracelular (ERK), nem na afinidade ao ligante. Duas novas variantes no gene *TACR3* foram identificadas em heterozigose em outras duas pacientes, mas não nos controles analisados. A variante *NK3R* Arg441Cis foi encontrada em paciente com telarca aos 6, 7 anos. *In vitro*, comparado ao receptor *NK3R* nativo, a variante *NK3R* Arg441Cis apresentou redução significativa do acúmulo de IP após estímulo com o ligante, ligação à NKB muito reduzida e expressão celular da proteína significativamente diminuída. A variante *NK3R* Met306Ile foi encontrada em paciente com telarca aos 6, 8 anos. O estudo *in vitro* não evidenciou diferenças entre esta variante e o receptor nativo. Nos genes *TAC3*, *KISS1* e *LIN28B* não foram encontradas novas mutações. A frequência observada nos pacientes de diversos polimorfismos previamente descritos nestes genes foi semelhante aos dados populacionais. Em conclusão, descrevemos a primeira variante com perda de função no gene *TACR3* em uma paciente com PPDG. A nova variante *NK3R* Arg441Cis prejudica significativamente a via de sinalização intracelular do receptor. O exato papel da NKB na fisiologia da secreção do GnRH ainda não é inteiramente conhecido; entretanto, nossos resultados ampliam o 7 espectro dos fenótipos humanos associados a mutações com perda de função no gene *TACR3*, incluindo a PPDG em adição ao HHI. Além disso, nossos resultados sugerem que mutações ativadoras nos principais genes reguladores puberais conhecidos são causa rara de PPDG.

Saúde Mental

ESTUDO DA VALIDADE E FIDEDIGNIDADE DA ESCALA DE ANSIEDADE SOCIAL DE LIEBOWITZ.

Larissa Forni dos Santos

Orientadora: Profa. Dra. Flávia de Lima Osório

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/10/2012

O Transtorno de Ansiedade Social (TAS) é caracterizado pelo medo acentuado ou persistente de situações nas quais o indivíduo poderia sentir vergonha, levando ao comportamento de esquiva fóbica. Contudo, ainda é pouco diagnosticado, devido às dificuldades em perceber suas características como sintomas. Desse modo, a validação de instrumentos para rastreamento do TAS são de grande importância para auxiliar no diagnóstico e conduta. Dentre os instrumentos disponíveis na literatura, a Escala de Ansiedade Social de Liebowitz (LSAS) tem sido a mais utilizada mundialmente, seja em situações clínicas ou de pesquisa, porém para uso no contexto brasileiro, este instrumento não foi consistentemente validado. Assim, o objetivo deste estudo é aferir as qualidades psicométricas de validade (concorrente, divergente e discriminativa) e fidedignidade da LSAS-SR, traduzida para o português do Brasil, em sua versão auto-aplicada, em uma amostra de universitários da população geral (N=413) e em uma amostra clínica de TAS (N=252). Para tanto, foram coletados dados com universitários de duas instituições do interior do estado de São Paulo. Foram utilizados instrumentos para avaliação específica do TAS e de seus subtipos e outros para avaliação de constructos correlacionados ao TAS, tais como, ansiedade geral, prejuízos funcionais, depressão e abuso de álcool, além da LSAS-SR e um questionário de identificação. A LSASSR apresentou excelente consistência interna ($\alpha=0,90-0,96$). A validade convergente com escalas específicas para avaliação do TAS apresentou correlações que variam de 0,33 a 0,84. Com a escala que avalia aspectos específicos do TAS (falar em público) as correlações foram fracas e pouco significativas, sendo que com a escala de ansiedade geral esses valores foram de 0,21 a 0,57, classificada como fraca a moderada. Apresentou correlações moderadas, na maioria dos casos, com construtos correlacionados, tais quais depressão (0,36-0,52) e prejuízo funcional (0,30-0,72). Foi observada também adequada capacidade de discriminação da escala no que tange a diferenciação casos e não-

casos (S=0, 96, E=0, 80). Na análise fatorial exploratória apontou inicialmente uma solução de 12 fatores. Testaram-se também soluções de três, quatro e cinco fatores, sendo que os mesmos foram compostos por agrupamentos de itens diferentes dos estudos prévios. A análise fatorial confirmatória também não replicou os achados prévios, sinalizando, tal como encontrado na literatura, a dificuldade em conseguir-se uma estrutura fatorial de consenso, comum às diversas culturas nas quais o instrumento foi estudado. Para avaliação da fidedignidade teste-reteste, foi calculado o Coeficiente de Correlação Intraclasse (0, 81) e de Pearson (0, 82) os quais mostram-se satisfatórios. Os presentes achados vão ao encontro de estudos internacionais que certificam às excelentes qualidades psicométricas da LSAS-SR.

CARACTERIZAÇÃO DO PADRÃO DE SOLICITAÇÕES PSIQUIÁTRICAS EM UM HOSPITAL GERAL: ESTABILIDADE E MUDANÇAS EM UM PERÍODO DE 30 ANOS DE UM SERVIÇO DE INTERCONSULTA

Tatiana Iuriko Kawasaki Nakabayashi

Orientador: Prof. Dr. José Alexandre de Souza Crippa

Tese de Doutorado apresentada em 17/10/2012

A Interconsulta Psiquiátrica é considerada por muitos pesquisadores como sendo a área prática e aplicada da Medicina Psicossomática, de conhecimento concernente à investigação da interação entre fatores biológicos e psicossociais no desenvolvimento, curso e resultado de todas as doenças. A prevalência de transtornos psiquiátricos em hospitais gerais pode variar de 20 a 40% entre pacientes internados, porém uma reduzida parcela é assistida pela Interconsulta e conseqüentemente recebe tratamento psiquiátrico. Sendo assim, o presente estudo teve por objetivos: a) obter informações dos dados sociodemográficos dos pacientes e seus históricos em saúde mental (tratamentos anteriores e tentativa de suicídio); b) analisar o uso do serviço de Interconsulta Psiquiátrica, tais como as clínicas solicitantes, função dos profissionais solicitantes, motivos de solicitação, tempo de internação dos pacientes assistidos, tempo de solicitação do PI e de sua resposta, e o número de atendimentos realizados; c) descrever os diagnósticos clínicos e psiquiátricos dos pacientes avaliados através dos critérios estabelecidos pela CID-10; d) analisar intervenções farmacoterapêuticas e não medicamentosas, tais como as condutas sugeridas pelo interconsultor, profissionais solicitados durante a internação, as medicações psicotrópicas em uso e prescritas; e) caracterizar aspectos relacionados aos médicos clínicos, aos profissionais de saúde e aos interconsultores; e f) avaliar a qualidade estrutural da solicitação psiquiátrica realizada pelo profissional clínico e a resposta dada pelo interconsultor. Para tanto, foi realizada uma análise retrospectiva de todas as solicitações consecutivas realizadas entre janeiro de 1981 a dezembro de 2010 para a Psiquiatria do Serviço de Interconsulta em Saúde Mental do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo assim como a consulta dos prontuários de todos os pacientes assistidos pelo serviço para obter outras informações. Foram realizadas 4882 solicitações psiquiátricas e a taxa de encaminhamento variou de 0,7 a 1,1%. Dados sociodemográficos dos pacientes que foram atendidos com mais frequência relacionados ao sexo, cor e/ou etnia, estado civil, com quem os pacientes residiam (somente para os homens), situação laboral (somente para as mulheres), escolaridade e procedência tenderam a permanecer relativamente estáveis ao longo dos anos. As mulheres apresentaram idade média menor que os homens e foram atendidos com mais frequência: homens e mulheres casados (e mais homens solteiros quando comparados com as mulheres), homens que residiam com seus pais e mulheres que residiam com seus cônjuges e filhos, homens afastados de seus trabalhos e mulheres responsáveis pelos cuidados da casa, e também pacientes de ambos os sexos com idades entre 21 e 50 anos, pacientes caucasianos, pacientes procedentes do estado de São Paulo e pacientes com escolaridade até ensino fundamental completo. As mulheres foram mais frequentemente assistidas pelo serviço de Interconsulta Psiquiátrica ao longo de todos os anos, assim como ficaram menos tempo internadas e também tiveram solicitações psiquiátricas realizadas em um menor intervalo de tempo após a admissão hospitalar. Em trinta anos, a Clínica Médica Geral foi a clínica que mais realizou solicitações psiquiátricas, o motivo de solicitação mais frequente foi a presença de sintomas psiquiátricos e o tempo de internação dos pacientes assistidos pela Interconsulta foi maior quando comparado aos pacientes internados no hospital de modo geral. Os transtornos neuróticos, somatoformes e relacionados ao estresse foram os diagnósticos psiquiátricos mais comuns entre as mulheres e homens atendidos pelo SISMen, seguido pelos transtornos de humor e transtornos mentais orgânicos nas mulheres e transtornos mentais orgânicos e transtornos devido ao uso de substâncias nos homens. Já em relação ao diagnóstico clínico, foram atendidos com mais frequência mulheres com doenças endócrinas, metabólicas e nutricionais e homens com doenças infecciosas e parasitárias; e casos de múltiplas comorbidades clínicas se tornaram mais frequentes com o passar dos anos. As principais condutas sugeridas pelos interconsultores

foram: atendimento individual, orientação à equipe e prescrição de psicofármacos para ambos os pacientes, permanecendo frequentes ao longo dos anos, com destaque para um aumento progressivo de casos em que medicações psicotrópicas foram prescritas a partir de meados dos anos 90. E com o passar dos anos, os planos de tratamento se tornaram mais complexos e abrangentes e houve um aumento progressivo no número de encaminhamentos para atendimento psiquiátrico ambulatorial. Em relação à qualidade estrutural das solicitações psiquiátricas e das respostas dadas pelos interconsultores, ambas foram consideradas aceitáveis ou boas na maioria dos casos, sendo um indicativo positivo na qualidade de comunicação entre os profissionais. Pode-se dizer que este foi o primeiro estudo longitudinal a analisar consecutivamente trinta anos e também toda a população assistida por um serviço de Interconsulta Psiquiátrica.

CARACTERIZAÇÃO DE FUNÇÕES NEUROCOGNITIVAS EM PACIENTES COM TRANSTORNO DEPRESSIVO MAIOR COM E SEM SINTOMAS PSICÓTICOS

Aline Gerbasi Balestra

Orientadora: Prof^a Dr^a Cristina Marta Del Ben

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/10/2012

Introdução: Transtornos Depressivos (TDM) manifestam-se de maneiras distintas, sendo que a presença de sintomas psicóticos é uma característica clínica importante. Alguns estudos sugerem que o Transtorno Depressivo Maior com sintomas psicóticos (TDM-P) deva ser considerada uma categoria específica de Depressão Maior.

Objetivo: investigar as diferenças de desempenho neurocognitivo e paradigmas experimentais de pacientes com TDM-P e Transtorno Depressivo Maior Não Psicótico (TDM-NP) comparados a controles saudáveis. Metodologia: Pacientes com TDM-NP (n=21) e pacientes com TDM-P (n=15) foram avaliados com o uso de uma bateria neurocognitiva (CNS-VS7), paradigmas experimentais (tarefas de memória verbal e visual afetiva e Go/No-Go afetiva) e avaliação de estilos explicativos. O mesmo procedimento foi realizado com controles (27). Após seis meses os pacientes e controles foram reavaliados utilizando os mesmos instrumentos adicionando uma avaliação de capacidade intelectual (WAIS).

Resultados: Na avaliação inicial foi verificado que as características sócio-demográficas de sexo, idade, e estado civil não apresentaram diferenças significativas entre os três grupos. Quanto à escolaridade, os controles apresentaram maior número de anos de estudo e encontravam-se mais ativos profissionalmente do que os deprimidos. As escalas de avaliação de gravidade demonstraram que TDM-P e TDM-NP encontravam-se gravemente deprimidos e ansiosos. A avaliação neurocognitiva demonstrou um prejuízo maior no grupo de TDM-P que no TDM-NP e controles, em várias funções (memória composta, memória verbal, velocidade de processamento, funções executivas, velocidade psicomotora, tempo de reação, atenção complexa e flexibilidade cognitiva). Nos paradigmas experimentais, diferenças significativas foram evidenciadas em que TDM-P e TDM-NP demonstraram maior dificuldade de controle do impulso diante de palavras e imagens negativas e maior erro diante de palavras e imagens positivas do que os controles. Na fase de reavaliação, TDM-P e TDM-NP apresentaram diminuição significativa em seus escores nas escalas BDI, BAI e BHS, porém não representativas de remissão do transtorno. No desempenho neurocognitivo, a análise longitudinal apontou diferenças significativas intragrupo para os pacientes psicóticos, com melhora nos escores em várias funções neurocognitivas (memória composta, velocidade de processamento, funções executivas, velocidade psicomotora, tempo de reação, atenção complexa e flexibilidade cognitiva). Nos paradigmas experimentais, os resultados não apontaram melhora longitudinal no controle do impulso diante de palavras de valência afetiva, assim como nas tarefas de memória verbal. Na tarefa de memória visual afetiva, poucas diferenças significativas foram identificadas. Quanto aos estilos atributivos, todos os grupos apresentaram alguma diferença no padrão, no sentido positivo.

Conclusão: Os resultados demonstraram concordância com a literatura sendo que TDM apresentam maiores prejuízos no desempenho neuropsicológico e em paradigmas experimentais com valência afetiva, comparados a controles. Reforçam ainda a hipótese de que os pacientes com TDM-P apresentam um desempenho pior do que o grupo TDM-NP, além de serem clinicamente diferentes na apresentação dos sintomas, apesar do mesmo nível de gravidade de depressão. O desenho longitudinal refletiu uma melhora discreta nas tarefas neurocognitivas e paradigmas experimentais. Estima-se que, com um tempo maior de acompanhamento no tratamento e evolução destes pacientes, novos panoramas se abrirão, oferecendo uma visão mais ampla sobre a comparação dos dois subtipos de depressão.

IMAGEM MENTAL DE CENÁRIOS DE AMEAÇA COESPECÍFICA: UM ESTUDO DE NEUROIMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL

Rosana Shuhama

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Marta Del Ben

Tese de Doutorado apresentada em 19/10/2012

A abordagem teórica adotada nesse estudo foi a da evolução por seleção natural de Charles Darwin. Ela prevê que, uma vez que todos os organismos estão sujeitos a pressões de ameaça comuns, há a inscrição inata de disposições emocionais de ação com o fim último de sobrevivência. Estudos baseados na literatura com animais não humanos indicam a existência de cinco estratégias básicas de defesa, a avaliação de risco, a fuga, a imobilização tensa, a ameaça e o ataque defensivos. O foco de interesse do presente estudo incide justamente sobre esse repertório básico de respostas e sobre a possibilidade de investigá-lo em humanos com o uso de cenários hipotéticos de ameaça. Assim, este estudo teve como objetivo geral adaptar e avaliar a validade de construto de tarefa de imagem mental de cenários narrativos de ameaça coespecífica e níveis de defesa preconizados pela literatura animal como paradigma de ativação neuronal em amostras de adultos saudáveis. As hipóteses consideradas eram as de que houvesse a referência de respostas defensivas previstas para ameaças distais e proximais, a alteração fisiológica e ativação de regiões de processamento de emoções. Pelo estímulo da visualização dos cenários e pela hipótese de simulacro da experiência real, aguardava-se um recrutamento mínimo de regiões cerebrais de processamento sensorial. Foram realizadas, na validação dos cenários, cinco fases distintas. Duas avaliações qualitativas intercaladas com três experimentos. Nesses últimos foram testadas diferentes configurações de pareamento dos estímulos narrativos e empregados registros de verbalizações das imagens mentais visuais elaboradas, registros de alterações fisiológicas (pressão arterial, frequência cardíaca e condutância elétrica da pele) e técnica de neuroimagem funcional. Como resultado de análise exploratória dos dados, foi observado que os cenários narrativos se distinguiram nas dimensões investigadas. As imagens mentais dos cenários foram avaliadas, em geral, com valências e ativação emocionais esperadas e descrição de comportamentos diferentes. Assim como apresentaram, dos contrastes feitos entre cenários mais e menos aversivos, conjunto de ativação cerebral distintos. Conclui-se pela validade do modelo experimental proposto como ecologicamente válido e sugerindo que a imagem mental guarda aspectos similares com o seu correspondente real.

RE-INTERNAÇÕES PSIQUIÁTRICAS - INFLUÊNCIA DE VARIÁVEIS SÓCIODEMOGRÁFICAS, CLÍNICAS E DE MODALIDADES DE TRATAMENTO

Régis Eric Maia Barros

Orientadora: Profa. Dra. Cristina Marta Del-Ben

Tese de Doutorado apresentada em 07/11/2012

As re-internações psiquiátricas são consequência de uma complexa combinação de situações que vão além da severidade do próprio transtorno mental. Vários fatores relacionados ao paciente, comunidade e ao sistema de saúde têm sido associados com admissões psiquiátricas recorrentes. A Reforma Psiquiátrica determinou uma mudança da base assistencial fortalecendo modalidades de tratamento comunitário. Neste contexto, a análise das readmissões assumiu um papel de destaque para a organização das redes de saúde mental, pois a dinâmica das re-internações poderá ser um indicador de qualidade dos serviços hospitalares e comunitários possibilitando a compreensão das relações entre estes serviços. Como a região de Ribeirão Preto passou a enfrentar problemas pelo aumento do número de internações e pela falta de leitos psiquiátricos disponíveis para admissão de novos pacientes, organizamos esta pesquisa objetivando verificar eventuais mudanças nas características clínicas e sócio-demográficas dos pacientes admitidos pela primeira vez além de analisar possíveis fatores preditores de re-internações psiquiátricas. Nesse estudo, todos os pacientes admitidos nos serviços de internação entre os anos de 2000 e 2007 foram analisados utilizando banco de dados único criado para a pesquisa de modo que todas as admissões e readmissões do período pudessem ser estudadas. A análise dos pacientes internados no decorrer dos anos foi realizada utilizando a razão dos pacientes em relação ao ano índice para cada variável e com análise bivariada utilizando o teste do qui-quadrado. Para analisar o risco de readmissão, foi utilizada regressão

logística para estimar as razões de risco relativo com seus respectivos intervalos de confiança. A análise do tempo entre a primeira e a segunda internação (readmissão) foi executada com curvas de sobrevivência. Durante o período estudado, 6.261 pacientes foram admitidos sendo verificado aumento na proporção de pacientes com algumas características sócio-demográficas (jovens, idosos e inativos profissionalmente) e clínicas (internações breves e com diagnósticos de transtornos depressivos, transtornos de personalidade e os transtornos relacionados ao uso de substâncias psicoativas). Cerca de 1/3 dos pacientes admitidos sofreram readmissões durante o estudo e os principais preditores para re-internação foram faixas etárias menores, internações prolongadas e diagnósticos transtornos psicóticos e afetivos bipolares. O risco de re-internação precoce esteve relacionado com fatores de desproteção social (menor faixa etária e ausência de vínculos conjugais e ocupacionais) e de gravidade clínica (diagnósticos mais severos, tempo de permanência prolongado e internação nas enfermarias do hospital geral e do hospital psiquiátrico). Nossos dados alcançaram os objetivos propostos e novas pesquisas são necessárias para definição de preditores para reinternações, pois usuários frequentes do sistema hospitalar geram custos para a rede de saúde. Portanto, as políticas de saúde mental devem priorizar estes pacientes.

CRIANÇAS QUE CONVIVEM COM A DEPRESSÃO MATERNA: INDICADORES COGNITIVOS, COMPORTAMENTAIS E DE PSICOPATOLOGIA INFANTIL

Ana Vilela Mendes

Orientadores: Profa. Dra. Sonia Regina Loureiro e co-orientação Prof. Dr. José Alexandre de Souza Crippa
Tese de Doutorado apresentada em 14/11/2012

O interesse pelos problemas de saúde mental na infância é crescente em função da dimensão epidemiológica dos transtornos e do reconhecimento de uma diversidade de condições de riscos associadas ao impacto para o desenvolvimento infantil. Dentre essas condições de risco se insere a convivência com a depressão materna. Objetiva-se caracterizar as condições de saúde mental de crianças que convivem com mães com depressão, identificadas na atenção primária, focalizando fatores de riscos biológicos, sociais e familiares e o seu valor preditivo para problemas cognitivos, comportamentais e de psicopatologia infantil. Participaram do estudo uma amostra de conveniência, de 120 mães e seus respectivos filhos biológicos, com idade entre seis e 12 anos, de ambos os sexos. As mulheres foram identificadas ao buscarem atendimento clínico para si, em uma Unidade Básica de Saúde de Uberaba-MG, sendo sistematicamente diagnosticadas por meio do Questionário Sobre a Saúde do Paciente (PHQ-9) e da Entrevista Clínica Estruturada (SCID). Com base no diagnóstico psiquiátrico das mães, as crianças foram distribuídas em dois grupos: Grupo 1 (G1): 60 crianças filhas de mães com transtorno depressivo, e Grupo 2 (G2): 60 crianças filhas de mães sem história psiquiátrica. Procedeu-se a avaliação com as mães quanto ao comportamento das crianças (Questionário de Capacidades e Dificuldades-SDQ), aos indicadores de psicopatologia infantil (DAWBA) e aos fatores de riscos biológicos, sociais e familiares, por meio de um Questionário Complementar. Com as crianças procedeu-se a avaliação cognitiva (Teste das Matrizes Progressivas Coloridas de Raven). Os dados foram tratados por procedimentos estatísticos ($p \leq 0,05$). Na amostra total, foram identificadas as seguintes taxas: 67,5% de crianças com problemas internalizantes; 62,5% com problemas externalizantes; 45,8% com diagnóstico de pelo menos um transtorno mental, sendo o Transtorno de Atenção e Hiperatividade (TDAH) o mais frequente, seguido dos Transtorno de Ansiedade Generalizada (TAG), Transtorno Depressivo (TD) e Transtorno de Conduta (TC). Na comparação dos grupos, verificou-se com significância estatística: a presença para G1 de mais problemas comportamentais internalizantes, dos diagnósticos de TD, TAG e dos fatores de riscos antecedentes médicos e conflito conjugal. Os grupos não diferiram quanto aos indicadores cognitivos. Nas análises de predição, verificou-se que: a) a depressão materna foi preditora de problemas comportamentais internalizantes e de TD; b) a depressão materna, a presença de conflito conjugal e de antecedentes obstétricos foram preditores de TD; c) a depressão materna, o nível socioeconômico e os antecedentes médicos foram preditores de TAG; e) o gênero masculino, família monoparental, antecedentes médicos e problemas econômicos foram preditores de TDAH. O rebaixamento cognitivo, a capacidade pró-social e o diagnóstico de TC não se associaram a nenhuma variável preditora. Quanto aos riscos acumulados verificou-se que quanto maior número de riscos mais chance de problemas cognitivos, comportamentais e de psicopatologia. Constatou-se que a depressão materna e variáveis contextuais se combinaram, configurando-se como condições de riscos aos desfechos das crianças, o que tem implicações para as práticas de saúde mental e para a pesquisa.

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE INTERVENÇÕES BREVES COM GESTANTES NA REDUÇÃO DO CONSUMO DE ÁLCOOL

Poliana Patrício Aliane

Orientador: Prof. Dr. Erikson Felipe Furtado

Tese de Doutorado apresentada em 14/12/2012

O uso de álcool na gestação traz sérios riscos à saúde da mãe e do bebê. As prevalências do uso de álcool entre gestantes encontradas em estudos nacionais giram em torno de 20%. Nos EUA, estudos sobre avaliação das intervenções breves têm mostrado uma redução do uso de álcool em gestantes. O objetivo deste estudo foi elaborar um protocolo de intervenção breve (IB) para gestantes e avaliar sua eficácia na redução do consumo de álcool comparativamente ao recebimento de um folheto informativo sobre os riscos do uso de álcool na gestação. Foi realizado um ensaio clínico, cego, comparativo e prospectivo, com distribuição randômica das participantes em dois grupos (IB e folheto), com dois tempos de coleta de dados (T1 e T2). Foram recrutadas 86 gestantes em serviços de saúde de Ribeirão Preto e Araraquara com uso de álcool utilizando o instrumento T-ACE (pontuação maior ou igual a dois). As gestantes eram maiores de 18 anos e possuíam até 16 semanas de gestação. Todas responderam a um questionário incluindo avaliação do padrão de uso de álcool e receberam IB ou um folheto informativo sobre os riscos do uso de álcool na gestação. Foram excluídas gestantes com diagnóstico prévio de dependência de álcool ou drogas, as que pontuaram acima de 20 no instrumento AUDIT, as que declararam uso, nos últimos três meses, de outras drogas, exceto tabaco e aquelas incapazes de compreender e fornecer informações aos pesquisadores. No segundo tempo da pesquisa (a partir da 25ª semana gestacional) compuseram a amostra 80 gestantes, sendo 39 do grupo folheto e 41 do grupo IB. As gestantes do grupo IB apresentaram menor média de doses consumidas e maior prevalência de abstinentes. Contudo, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos em relação ao padrão de consumo de álcool. A avaliação intra-grupos também não detectou diferenças no padrão de consumo de álcool entre T1 e T2 seja para o grupo folheto ou para o grupo IB. Apesar disso, a autoavaliação das gestantes tanto no grupo folheto quanto no grupo IB sobre a mudança no comportamento de consumo de bebidas alcoólicas indicou uma diminuição estatisticamente significativa do consumo (Grupo folheto, Wilcoxon, $Z=-2,74$; $p<0,01$; $r=0,31$) (Grupo IB, Wilcoxon, $Z=-4,43$; $p<0,001$; $r=0,49$).

DESENVOLVIMENTO E QUALIDADE DE VIDA DE CRIANÇAS NASCIDAS PRÉ-TERMO: ESTUDO LONGITUDINAL DA FASE NEONATAL À IDADE PRÉ-ESCOLAR

Martina Estevam Brom Vieira

Orientadora: Profª Dra. Maria Beatriz Martins Linhares

Dissertação de Mestrado apresentada em 26/12/2012

A prematuridade é um importante indicador de risco para o desenvolvimento infantil. Essa condição comumente associa-se a outros fatores que potencializam a chance de um desfecho desfavorável. Problemas na trajetória de desenvolvimento podem gerar repercussões negativas em aspectos multidimensionais da vida, como a funcionalidade e a qualidade de vida. O presente estudo prospectivo-longitudinal teve por objetivo examinar modelos de predição do desenvolvimento psicomotor, do desempenho funcional, da independência e da qualidade de vida de crianças nascidas pré-termo na fase pré-escolar, considerando-se as variáveis predictoras da fase neonatal (indicadores biológicos, socioeconômicos e neurocomportamentais), da fase de primeiro ano pós-natal (desenvolvimento psicomotor) e da idade pré-escolar (indicadores de saúde e socioeconômicos). A amostra constituiu-se de 24 crianças nascidas pré-termo (idade gestacional média de 33 semanas) e com baixo peso (média de 1.692 g), que foram avaliadas na fase neonatal, durante o primeiro ano e aos cinco anos de idade. Na fase neonatal, foram identificados os indicadores clínicos, socioeconômicos e do neurocomportamento (NAPI-*Neurobehavior Assessment of Preterm Infant*). No primeiro ano, foi avaliado o desenvolvimento psicomotor pelo Teste Denver II, TIMP-*Teste of Infant Motor Performance* e AIMS-*Alberta Infant Motor Scale*. Aos cinco anos, o desenvolvimento psicomotor foi novamente avaliado pelo Teste Denver II, a qualidade de vida foi avaliada pelo CHQ-PF50-*Child Health Questionnaire-50 Parent Form* e o PEDI-*Pediatric Evaluation of Disability Inventory* foi utilizado para avaliar o desempenho funcional e a independência. Nessa mesma idade foi analisada a história de saúde das crianças e as condições socioeconômicas atuais de suas famílias. Foram realizadas Análises de Regressão

Linear Múltipla para os desfechos qualidade de vida e funcionalidade (escores), e Análise de Regressão Logística Binária para o desfecho desenvolvimento psicomotor (risco ou normal), com nível de significância de $p \leq 0,05$. Verificou-se que o desenvolvimento psicomotor global de 96% da amostra mostrou-se com risco na fase pré-escolar e que a maioria das crianças nessa idade apresentou as subáreas pessoal-social (83%), motor fino (71%) e linguagem (63%) classificadas como risco pelo Teste Denver II. Não foi possível realizar a análise de predição do desenvolvimento psicomotor na fase pré-escolar, pois quase todas as crianças apresentaram risco nessa avaliação. Quanto à avaliação da funcionalidade na fase pré-escolar, 96% da amostra foi classificada pelo PEDI com desempenho funcional adequado nas habilidades funcionais de autocuidado e mobilidade, porém 42% das crianças exibiram desempenho abaixo da média na função social. As crianças apresentaram independência funcional adequada para sua idade no autocuidado, mobilidade e função social. Os fatores de risco para problemas na funcionalidade foram: menor número de consultas maternas durante o pré-natal, idade gestacional menor do que 32 semanas, não realização de transfusão sanguínea na fase neonatal, história de doença respiratória nos últimos três anos da fase pré-escolar, risco no pessoal-social e motor amplo na idade pré-escolar e maior impacto emocional e no tempo dos pais da avaliação de qualidade de vida na idade pré-escolar. O fato de a mãe trabalhar fora do lar desde a fase neonatal foi o fator de proteção da funcionalidade. Constatou-se que as crianças na fase pré-escolar apresentaram problemas em sua qualidade de vida segundo o CHQ-PF50, especialmente nos aspectos relacionados ao comportamento, saúde mental e saúde física. Os fatores de risco associados à pior qualidade de vida foram: na fase pré-natal, presença de doença sexualmente transmissível na mãe; na fase neonatal, sexo masculino, tempo prolongado de internação na enfermaria, uso de corticoterapia e recém-nascidos menos alertas e orientados durante a avaliação neurocomportamental; no primeiro ano pós-natal, risco no desenvolvimento psicomotor global ou no motor amplo aos 4-6 meses de idade cronológica corrigida; na fase pré-escolar, presença de doença respiratória, uso de medicamentos, história de acidentes graves, não uso de aparelho auditivo, risco no pessoal-social, pior desempenho funcional nas habilidades de função social, menor escolaridade ou desemprego do pai, menor número de cômodos na residência da família, pais separados, classe econômica menos favorecida e mães muito jovens. Os achados do estudo mostraram que a qualidade de vida e a funcionalidade de pré-escolares nascidos pré-termo podem ser influenciadas por múltiplos fatores biológicos, socioeconômicos e de desenvolvimento verificados em diferentes fases da trajetória de vida da criança. Recomenda-se, em programas de follow-up de prematuros, a identificação desses indicadores de risco e manejo preventivo para neutralizar os efeitos negativos desses no desenvolvimento das crianças.

Saúde na Comunidade

FATORES ASSOCIADOS À PROCURA POR SERVIÇOS DE SAÚDE: DIFERENÇAS ENTRE MULHERES E HOMENS

Cleice Daiana Levorato

Orientador: Prof.Dr. Altacilio Aparecido Nunes

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/10/2012

Introdução: Os valores da cultura masculina envolvem comportamentos de risco à saúde, sendo que a forma como os homens constroem e vivenciam a sua masculinidade torna-se uma das matrizes masculinas dos modos de adoecer e morrer.

Objetivos: Considerando-se a relevância para o planejamento de políticas de saúde, este estudo abarcou, enquanto objetivo geral: Descrever e analisar os fatores associados à procura dos serviços de saúde por pessoas do sexo masculino e sexo feminino. Os objetivos específicos visaram: Descrever o perfil sócio-demográfico e clínico-epidemiológico de homens e mulheres que procuram os serviços de saúde nos níveis de complexidade primário e secundário; Descrever variáveis relacionadas à procura e aderência aos serviços de saúde entre homens e mulheres e entre os níveis de complexidade primário e secundário; Comparar a procura e aderência aos serviços de saúde entre homens e mulheres considerando-se os níveis de complexidade primário e secundário; Caracterizar os serviços de saúde que apresentam aspectos considerados adequados relacionados à procura e aderência entre o sexo masculino e o feminino.

Métodos: Trata-se de um estudo transversal, no qual se utilizou roteiro estruturado de entrevista, aplicado mediante seleção aleatória de homens e mulheres que se encontravam, no momento da coleta de dados, nos seguintes serviços de

saúde do município de Ribeirão Preto: Núcleos de Saúde da Família I e IV da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, além de ambulatórios e enfermarias clínicas e cirúrgicas do Hospital Estadual de Ribeirão Preto. As variáveis dependentes deste estudo foram: o sexo do usuário (considerado como indicador cultural) e a procura pelo serviço de saúde (considerada como indicador do uso de serviços de saúde). As variáveis independentes do estudo incluíram: características sócio-demográficas e clínico-epidemiológicas. A amostra do estudo foi composta por 320 pessoas. Para a análise de associação entre variáveis empregou-se a Razão de Prevalência e seu Intervalo de Confiança a 95%.

Resultados: Os resultados sugerem como fatores de risco para a não procura: ser do sexo masculino, o horário de funcionamento das unidades de saúde versus o horário de trabalho do usuário e a referência de não possuir nenhuma doença. Em contrapartida, os fatores de proteção contra a não procura, ou seja, de favorecimento da procura foram: ser usuário de Unidades com Equipe de Saúde da Família, ser do sexo feminino e do lar, estar situado na faixa etária de 50 a 65 anos, possuir domicílio próprio, juntamente, com uma renda individual e familiar maior que quatro salários mínimos, ser aposentado/pensionista, comparecer aos retornos e ser acompanhante de algum familiar ou outros aos serviços de saúde.

Conclusão: É relevante a efetiva consolidação de um modelo de atenção à saúde que questione a contradição existente entre os dados epidemiológicos quanto à saúde masculina e a posição dos serviços de saúde de permanecerem no senso comum da invulnerabilidade dos homens ao adoecimento.

PREVALÊNCIA DE EXCESSO DE PESO EM ADULTOS SEGUNDO A PERCEPÇÃO DO AMBIENTE PARA A PRÁTICA DE ATIVIDADE FÍSICA EM UM MUNICÍPIO PAULISTA DE PEQUENO PORTE

Marília Augusta Sousa Nascimento

Orientadora: Profa. Dra. Daniela Saes Sartorelli

Dissertação de Mestrado apresentada em 06/11/2012

O objetivo do presente estudo foi investigar a relação entre a prevalência de obesidade e percepção do ambiente para a prática de atividades físicas em adultos de Itirapuã - SP. Desenvolveu-se um estudo do tipo transversal de base populacional com 216 adultos. Dados sócio demográficos e comportamentais foram obtidos por meio de um questionário estruturado. A percepção do ambiente para a prática de atividade física foi avaliada por meio de um questionário estruturado adaptado da Neighborhood Environmental Walkability Scale (NEWS), previamente validado para a população brasileira. As prevalências de excesso de peso e obesidade (IC 95%) foram estimadas. Para avaliar a associação entre o excesso de peso (sobrepeso e obesidade) e a percepção do ambiente para a prática de atividade física foram empregados modelos de regressão logística bivariados e ajustados por sexo e idade. Dentre os 216 adultos avaliados, 55% eram do sexo feminino e a média de idade foi de 37 (12) anos. Elevada proporção de sobrepeso (31%) e obesidade (25, 5%) foi observada. Em modelos de regressão ajustados por sexo e idade, verificou-se que os indivíduos que residiam em locais mais distantes de escolas de ensino fundamental [OR 1, 99 (IC95% 1, 13; 3, 47)], locadoras de filmes [OR 2, 33 (IC95% 1, 29; 4, 19)] e praças ou locais ao ar livre onde pudessem praticar atividade física [OR 2, 05 (IC95% 1, 15; 3, 66)] apresentaram maior chance de ocorrência de excesso de peso. Quanto ao nível de satisfação com o bairro, observou-se que a satisfação com a qualidade e quantidade de supermercados no bairro de residência estava inversamente associada à ocorrência de excesso de peso [OR 0, 14 (IC95% 0, 03; 0, 69)]. Os dados sugerem que os adultos residentes em municípios de pequeno porte também são influenciados pelo ambiente para a prática de atividade física e que este está associado à ocorrência do excesso de peso.

EGRESSOS DE PROGRAMAS DE RESIDÊNCIA EM MEDICINA DE FAMÍLIA E COMUNIDADE DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2000-2009

Elisa Toffoli Rodrigues

Orientadora: Profa. Dra. Aldaísa Cassanho Forster

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/12/2012

No Brasil, a qualificação dos recursos humanos para trabalhar na Estratégia Saúde da Família é baixa. Considerando a importância do Estado de São Paulo como pólo formador de recursos humanos para a área da saúde, estudou-se a

situação dos egressos dos Programas de Residência em Medicina de Família e Comunidade (PRMFC) do Estado de São Paulo (ESP), que finalizaram a residência entre 2000 e 2009. Foi caracterizado o perfil sociodemográfico desses médicos e suas trajetórias profissionais após o término da residência médica, além da satisfação com o trabalho. Os dados foram coletados em 2012, por meio de um questionário eletrônico, dividido nos seguintes blocos: perfil sócio-econômico, atuação profissional, e atividades de Medicina de Família e Comunidade (MFC). Do universo de 234 egressos de 17 PRMFC do ESP, foram incluídos no estudo 129 pessoas de 14 instituições. A maior parte é do sexo feminino (58, 1%) e está na faixa etária de 30 a 34 anos (55, 8%). Moram predominantemente no ESP (79, 1%) e em municípios de grande porte ou em metrópoles (89, 1%). A graduação em medicina foi realizada principalmente na região sudeste (92, 3%), sendo majoritária a participação do ESP (72, 1%). Dos egressos respondentes, 98, 4% atuam na área da saúde, sendo que 74, 6% atuam na Medicina de Família e Comunidade e 48, 1% atuam na docência. Referiram trabalhar em um posto de trabalho 33, 9%, dois postos 33, 9% e três postos 15, 0%, estes não relacionados à docência. O local de trabalho atual mais frequente foi a Estratégia Saúde da Família (49, 6%), seguida da Urgência e Emergência (26, 7%), consultório particular e Unidade de Saúde Tradicional, com 19, 7% cada e, por último, a gestão/gerência (18, 9%). Em relação à trajetória acadêmica após a residência de MFC, 10, 1% dos egressos fizeram outra residência médica, 57% realizaram especialização lato sensu e 31, 8% stricto sensu. Possuem título de especialista em MFC 41, 9% dos entrevistados. Mais da metade dos egressos participam da formação de médicos de família (52, 7%), sendo que 83, 7% têm interesse em realizar esse tipo de atividade. Dos médicos de família que atuam na área da MFC, a maioria está satisfeita ou muito satisfeita e 44, 8% deles estão motivados. Conclui-se que os médicos de família egressos de PRMFC do ESP são predominantemente jovens e mulheres e moram em grandes centros urbanos, tendendo a se fixar mais no próprio ESP, local onde fizeram a residência médica. O local de atuação dos egressos é bastante diverso, já que a formação em MFC é ampla. Muitos egressos participam de atividades relacionadas à formação dos médicos de família sendo, portanto, peças fundamentais para a formação de novos profissionais capacitados para atuarem na Atenção Primária à Saúde. Além disso, a maioria deles está satisfeita com o trabalho na MFC, mas ainda faltam reconhecimento e valorização da especialidade.

ASSOCIAÇÃO ENTRE TEMPESTADES GEOMAGNÉTICAS E INTERNAÇÕES POR INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Andressa Kutschenko

Orientador: Prof.Dr. Edson Zangiacomi Martinez

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/12/2012

Os diversos fenômenos solares mostram que a sua atividade não é constante, sendo as manchas solares observadas em sua fotosfera um indicador de atividade do Sol. Os números dessas manchas seguem um ciclo de 11 anos que alterna entre máximos e mínimos; quanto maior o número de manchas, maior o número de erupções no Sol. A literatura médica vem mostrando algumas evidências de que a atividade solar possui alguma relação com a predisposição das pessoas a algumas doenças. As tempestades geomagnéticas são associadas a doenças cardiovasculares, mudanças na pressão arterial sistólica, gravidade da crise de enxaqueca, distúrbios psiquiátricos. As condições da atividade geomagnética são classificadas segundo Batista (2003) em uma escala de "Calma", "Transição", "Ativo", "Tempestade fraca", "Tempestade intensa" ou "Tempestade muito intensa". No presente projeto de pesquisa, objetiva-se investigar a associação entre atividade geomagnética e internações diárias por infarto nos hospitais de Ribeirão Preto e região, no período de 1998 a 2007. A hipótese em estudo é que em dias de condições de atividade geomagnética muito perturbada, o número médio de internações por doenças isquêmicas do coração é maior. Para a análise dos dados foi utilizado o modelo de regressão de Poisson com função logarítmica com o auxílio do software SAS 9. 2, utilizando o procedimento PROC GENMOD. Observa-se que há evidências de associação entre tempestades geomagnéticas e internações por IAM.

DISTRIBUIÇÃO EXPONENCIAL GENERALIZADA: UMA ANÁLISE BAYESIANA APLICADA A DADOS DE CÂNCER

Juliana Boleta

Orientador: Prof.Dr. Jorge Alberto Achcar

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/12/2012

A técnica de análise de sobrevivência tem sido muito utilizada por pesquisadores na área de saúde. Neste trabalho foi usada uma distribuição em análise de sobrevivência recentemente estudada, chamada distribuição exponencial generalizada. Esta distribuição foi estudada sob todos os aspectos: para dados completos e censurados, sob a presença de covariáveis e considerando sua extensão para um modelo multivariado derivado de uma função cópula. Para exemplificação desta nova distribuição, foram utilizados dados reais de câncer (Leucemia Mielóide Aguda e Câncer gástrico) que possuem a presença de censuras e covariáveis. Os dados referentes ao Câncer gástrico tem a particularidade de apresentar dois tempos de sobrevida, um relativo ao tempo global de sobrevida e o outro relativo ao tempo de sobrevida livre do evento, que foi utilizado para a aplicação do modelo multivariado. Foi realizada uma comparação com outras distribuições já utilizadas em análise de sobrevivência, como a distribuição Weibull e a Gama. Para a análise bayesiana adotamos diferentes distribuições a priori para os parâmetros. Foi utilizado, nas aplicações, métodos de simulação de MCMC (Monte Carlo em Cadeias de Markov) e o software Winbugs.

MODELAGEM BAYESIANA DOS TEMPOS ENTRE EXTRAPOLAÇÕES DO NÚMERO DE INTERNAÇÕES HOSPITALARES: ASSOCIAÇÃO ENTRE QUEIMADAS DE CANA-DE-AÇÚCAR E DOENÇAS RESPIRATÓRIAS

Mayara Piani Luna da Silva Sicchieri

Orientador: Prof.Dr. Jorge Alberto Achcar

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/12/2012

As doenças respiratórias e a poluição do ar são temas de muitos trabalhos científicos, porém a relação entre doenças respiratórias e queimadas de cana-de-açúcar ainda é pouco estudada. A queima da palha da cana-de-açúcar é uma prática comum em grande parte do Estado de São Paulo, com especial destaque para os dados da região de Ribeirão Preto. Os focos de queimadas são detectados por satélites do CPTEC/INPE (Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais) e neste trabalho consideramos o tempo entre dias de extrapolação do número de internações diárias. Neste trabalho introduzimos diferentes modelos estatísticos para analisar dados de focos de queimadas e suas relações com as internações por doenças respiratórias. Propomos novos modelos para analisar estes dados, na presença ou não da covariável, que representa o número de queimadas. Sob o enfoque Bayesiano, usando os diferentes modelos propostos, encontramos os sumários a posterioridade de interesse utilizando métodos de simulação de Monte Carlo em Cadeias de Markov. Também usamos técnicas Bayesianas para discriminar os diferentes modelos. Para os dados da região de Ribeirão Preto, encontramos modelos que levam à obtenção das inferências a posteriori com grande precisão e verificamos que a presença da covariável nos traz um grande ganho na qualidade dos dados ajustados. Os resultados a posteriori nos sugerem evidências de uma relação entre as queimadas e o tempo entre as extrapolações do número de internações, ou seja, de que quando observamos um maior número de queimadas anteriores à extrapolação, também observamos que o tempo entre as extrapolações é menor.

RELAÇÃO ENTRE APTIDÃO FÍSICA, FATORES DE RISCO PARA DOENÇAS CARDIOVASCULARES E ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS EM ADULTOS E IDOSOS

Átila Alexandre Trapé

Orientador: Prof.Dr. Laercio Joel Franco

Dissertação de Mestrado apresentada em 20/12/2012

Introdução: A diminuição da aptidão física e a maior vulnerabilidade para o surgimento de doenças crônicas, em especial para as doenças cardiovasculares (DCVs), destacam-se dentre as alterações associadas ao processo natural de envelhecimento. Nesse contexto, a prática regular de exercícios físicos pode ser considerada como uma das principais medidas que contrapõem esses fatores. Entretanto, a frequência de sedentarismo é elevada e parece estar associada com aspectos socioeconômicos, indicando que a escolha pelo estilo de vida ativo não depende somente de atitudes individuais.

Objetivos: investigar a relação existente entre a aptidão física e os fatores de risco para DCVs; verificar se o tempo de prática de exercícios físicos e a supervisão de um professor de educação física estão relacionados à melhores resultados; e, investigar a relação entre as características socioeconômicas e demográficas e a aptidão física.

Método: Estudo transversal realizado em Ribeirão Preto, SP, com adultos (50 a 59 anos) e idosos. As variáveis estudadas foram: as relacionadas aos fatores de risco para DCVs; aspectos socioeconômicos e demográficos; nível habitual de atividade física (NHAF); aptidão física de duas formas: VO₂max indireto; e bateria de testes motores que permitiu o cálculo índice de aptidão funcional geral (IAFG). O tratamento dos dados deu-se por estatística descritiva; coeficiente de correlação de Pearson; ANOVA (tempo de prática e supervisão); modelo linear generalizado de comparação de grupos (NHAF e IAFG); e, modelo de regressão linear múltipla (variáveis dependentes: IAFG e VO₂max; variáveis independentes: aspectos socioeconômicos).

Resultados: 213 participantes com média de idade de 61, 4 (8, 4) anos. O coeficiente de correlação de Pearson evidenciou associação negativa entre o IAFG e IMC ($r=-0,44^*$), PAS ($r=-0,31^*$) e PAD ($r=-0,33^*$); entre VO₂max e IMC ($r=-0,46^*$) e PAS ($r=-0,31^*$); e, entre a idade e o IAFG ($r=-0,44^*$) e o VO₂max ($r=-0,56^*$). E associação positiva entre IAFG e VO₂max ($r=0,77^*$). O modelo linear generalizado de comparação de grupos evidenciou diferença quanto ao NHAF para o IAFG e VO₂max; e, quanto ao IAFG, para o IMC, TG, PAS e PAD. Os grupos com maior NHAF e IAFG apresentaram melhores resultados nestas variáveis. Por meio da ANOVA foi evidenciada diferença entre os grupos quanto ao tempo de prática e supervisão com a renda, anos de estudos, IAFG, VO₂max, IMC e PAD. Os grupos com tempo de prática superior a 6 meses apresentaram melhores resultados, com alguns resultados ainda melhores para o grupo supervisionado. O modelo de regressão linear múltipla evidenciou associação do IAFG com a cor da pele, a escolaridade, a renda e a idade, bem como, associação entre o VO₂max e renda, gênero e a idade.

Considerações finais: Os dados apontam para a existência de relação entre aptidão física e fatores de risco para DCVs, e, indicam associação entre aptidão física e aspectos socioeconômicos. O tempo de prática e a supervisão de um professor de educação física apresentaram associação com os fatores de risco para DCVs e os aspectos socioeconômicos. Desta forma, baseado nos resultados deste estudo, sugere-se o desenvolvimento de políticas públicas visando a melhoria da saúde deste segmento populacional.