

RESUMOS DE DISSERTAÇÕES DE MESTRADO E TESES DE DOUTORADO APRESENTADAS NA  
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP DE OUTUBRO A DEZEMBRO DE 2007

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

ANÁLISE TRANSCRICIONAL DE 10 NOVOS GENES CODIFICADORES DE PROTEÍNAS PREDITAS ANCORADAS POR CAUDA DE GLICOSILFOSFATIDILINOSITOL (GPI) EM *Candida albicans*

**Carol Kobori da Fonseca**

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Rodrigues Coelho  
Dissertação de Mestrado apresentada em 09/10/2007

O fungo *Candida albicans* é um microorganismo comensal que passa a comporta-se como um patógeno oportunista em indivíduos imunocomprometidos. As infecções por *Candida albicans* aumentam ano a ano, e hoje é a quarta causa de infecções em hospitais brasileiros (Agência Brasil, 2005). Dentre os principais fatores de virulência de *Candida albicans*, as adesinas destacam-se pela sua importância na morfogênese e adesão ao hospedeiro. A maior parte das adesinas identificadas até o momento são proteínas localizadas na parede celular e que se ligam à membrana celular por “âncoras” de glicosilfosfatidilinositol (GPI) (De Groot, 2003).

Neste trabalho, caracterizamos dez novas fases abertas de leitura (ORFs) que codificam para proteínas-GPI de *C. albicans* (chamadas de PGAs – glycosylphosphatidyl inositol anchored proteins) com similaridades a adesinas, mas sem homologia a nenhuma proteína já conhecida, que foram obtidas a partir de uma análise de bioinformática realizada por de Groot (2003) do genoma de *C. albicans*. Estas ORFs foram analisadas quanto a sua expressão por Northern Blot em condições de indução das formas leveduriforme e filamentosa e em mutantes para EFG1 e TUP1, que são os principais reguladores transcricionais do crescimento filamentoso. A maioria das PGAs (PGAs 13, 22, 44, 55, 58, 59, 61

e 62) apresentou expressão diferencial nas formas filamentosas quando comparados com a fase leveduriforme, com diferentes níveis de detecção dos seus respectivos RNAs. As PGAs 13, 18, 58 e 62 se mostraram reguladas negativamente por TUP1 (com uma expressão de 2 a 61 vezes), mas não são influenciadas por Efg1. As PGAs 59 e 61 apesar de serem induzidas por soro após 5 horas de indução da filamentação, não tiveram sua expressão alterada frente aos mutantes TUP1 e EFG1.

O gene da PGA55 codifica para uma proteína predita ancorada por GPI, com 1.176 a.a., com um sinal de secreção no N-terminal, um sítio omega para o ancoramento do GPI na região C-terminal e um domínio central rico em serina/treonina. Em uma anotação recente do genoma diplóide de *C. albicans* revelou-se dois alelos para a PGA55, diferindo seu tamanho em 684 bp. Análise por Northern Blot revelou dois transcritos para a PGA55 com seus tamanhos de acordo com os que são expressos presumidamente pelos dois alelos individuais. Efg1 é um fator de transcrição que regula positivamente a transcrição dimórfica de leveduras para a forma filamentosa. Interessantemente, no mutante  $\Delta EFG1$  a expressão do transcrito maior da PGA55 é diminuída e a expressão do transcrito menor é aumentada. Nós também observamos que as células leveduriformes mostram um pico na transcrição da PGA55 quando estão na fase “mid-log”. Visto que a PGA55 não tem homólogos, nós acreditamos que ela pode desempenhar um papel único no comensalismo ou na patogênese, além de responder a vários sinais ambientais.

APOPTOSE E ALTERAÇÕES NA ATIVIDADE DO PROTEASSOMA INDUZIDAS POR VÍRUS  
COXSACKIE B5 EM CÉLULAS HeLa

**Rogério Gomes dos Santos**

Orientador: Prof. Dr. Eurico de Arruda Neto  
Tese de Doutorado apresentada em 19/10/2007

Coxsackievírus B5 (CVB5) é um enterovírus da família Picornaviridae com genoma de RNA de fita simples e polaridade positiva. Apesar de CVB5 e outros enterovírus

não-pólio serem causas frequentes de doença em seres humanos, sua patogênese não é completamente entendida. O sistema ubiquitina/proteassoma desempenha papel importante na degradação de proteínas envolvidas em apoptose pela regulação de moléculas tais como p53, membros da família Bcl-2 de proteínas pró-apoptóticas, IAPs e Smac, que são potenciais substratos do proteassoma. As rela-

ções de infecção por CVB5 com apoptose e atividade do sistema ubiquitina/proteassoma podem exercer papel determinante do destino da célula e, conseqüentemente, da patogenia da infecção para o organismo. Nesse estudo, nós mostramos que CVB5 desencadeia apoptose de células HeLa através da via intrínseca, com liberação de citocromo c e ativação de caspases 9 e 3. A translocação nuclear de p53 também foi observada, juntamente com redistribuição de mitocôndrias para a região perinuclear. Essa redistribuição de p53 pode ser conseqüência da degradação da enzi-

ma ubiquitadora MDM2. A distribuição e UBC9 e SUMO é alterado durante a infecção viral. O CVB5 induz aumento de níveis de proteínas ubiquitinadas até 4 horas de infecção concomitantemente com alterações nas atividades quimotripsina e tripsina do proteassoma em células HeLa. A posterior queda na atividade pode ser explicada pela degradação da subunidade da porção regulatória Rpt5. Um proteassoma funcional é necessário para replicação de CVB5, principalmente nas etapas precoces do ciclo de replicação viral, nas primeiras 2 horas de infecção.

### **EXPRESSÃO E PURIFICAÇÃO DA SEPTINA Cdc12 DE *Paracoccidioides brasiliensis* EM *Escherichia coli***

**Thaila Fernanda dos Reis**

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio Rodrigues Coelho  
Dissertação de Mestrado apresentada em 26/10/2007

Em fungos e animais, as septinas constituem uma família de proteínas conservadas que formam complexos hetero-oligoméricos e que se associam em filamentos na periferia celular. Essas proteínas são caracterizadas pela presença de um domínio de ligação à GTP na região central e um domínio *coiled-coil* na extremidade C-terminal. No fungo leveduriforme *Sacharomyces cerevisiae*, as septinas desempenham função em diversos processos como citocinese, esporulação, ciclo celular e morfogênese.

Atualmente, pouco é conhecido sobre as septinas e suas funções em fungos patogênicos, particularmente *Paracoccidioides brasiliensis*. Sendo assim, nosso principal objetivo foi identificar, clonar e expressar uma ORF que codifica para septina em *P. brasiliensis*, purificar a proteína e produzir anticorpos contra a mesma. Inicialmente, pesquisamos um banco de dados de EST de *P. brasiliensis* e identificamos um clone de cDNA com alta homologia a genes que codificam para septina CDC12 em *Aspergillus fumigatus* (91% de identidade) e *S. cerevisiae* (59% de identidade). Após amplificação por PCR da ORF (sem a seqüência que codifica para o domínio *coiled-coil*), o fragmento foi clonado

em vetor de expressão pQE (Qiagen) que adiciona uma cauda de 6 histidinas na porção N-terminal da proteína expressa, o que possibilita a purificação por afinidade da proteína recombinante. Cepas de *E. coli* M15 foram, então, transformadas com o vetor recombinante e a expressão da proteína foi induzida pela adição de 1mM de IPTG em culturas líquidas. As células foram lisadas por sonicação e a septina expressa foi purificada em resina de Ni<sup>2+</sup> (Qiagen). A proteína purificada foi injetada em múltiplos sítios no dorso de coelhos para a produção de anticorpos. O soro imune foi testado por *western immunoblotting* contra a proteína PbCdc12 imobilizada em membrana de nitrocelulose. Os resultados obtidos revelaram a produção de anticorpos policlonais contra a septina PbCdc12 e que esses anticorpos possuem reação cruzada com septinas de outros fungos como *C. albicans* e *S. cerevisiae*.

A imunomarcação da proteína PbCdc12 em células leveduriformes de *P. brasiliensis* mostrou uma localização na base do broto e no limite entre a célula mãe e o broto. Os anticorpos policlonais produzidos contra PbCdc12 se mostram como importante ferramenta para o estudo do comportamento e organização da septina PbCdc12 durante o ciclo celular, assim como análise do padrão de expressão e localização dessas proteínas no fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*.

### **ESTUDO DA CINÉTICA DE RNAs VIRAIS DURANTE A REPLICAÇÃO DO VÍRUS SINCICIAL RESPIRATÓRIO HUMANO**

**Miriã Ferreira Criado**

Orientador: Prof. Dr. Eurico de Arruda Neto  
Dissertação de Mestrado apresentada em 30/11/2007

O vírus respiratório sincicial humano (HRSV) é o agente viral causador de infecções agudas do trato respiratório inferior de maior impacto em saúde pública infantil, causando grande morbidade e mortalidade em crianças de todo mundo. Apesar da sua grande importância em saúde pública, os mecanismos patogênicos de HRSV são pouco

conhecidos. Um componente importante na regulação da patogenicidade de HRSV é a intensidade da replicação viral, refletida por possíveis marcadores de eficiência replicativa, tais como níveis de RNA(+), quer sejam antígenomas, quer sejam mRNAs de proteínas chave no ciclo viral.

Nesse estudo foi desenvolvido um ensaio de RT-PCR em tempo real para detectar a cinética de acúmulo de diferentes RNAs virais durante o ciclo replicativo de HRSV. No entanto, observamos a presença de cDNAs formados na RT mesmo sem a adição de primers exógenos

(cDNA<sup>primer (-)</sup>), gerando resultados falso-positivos. Para solucionar este problema, desenvolvemos um ensaio de RT-PCR em tempo real específico, utilizando na etapa da RT primers biotinizados que permitem purificar o cDNA no qual se incorporam, por meio de separação magnética. Com isso conseguimos desenvolver método de detecção específico e diferencial para as diversas espécies de RNAs virais (genoma, antígenoma e mRNAs) produzidos durante a replicação do vírus em ciclo replicativo único em células A549.

Dentro da célula, RNAs genômicos e antígenômicos foram encontrados em concentrações crescentes, com predominância do RNA genômico durante todo o ciclo. A maior quantidade de RNAs foi detectada às 24 horas (apro-

ximadamente 5 vezes mais genoma do que antígenoma), seguindo-se de redução nas 24h seguintes. Os níveis de mRNAs dos genes N, F e G de HRSV obtidos estão de acordo com o modelo mais aceito de replicação de paramyxovírus, segundo o qual a expressão se dá em um gradiente de transcrição no qual os genes proximais ao promotor são transcritos mais frequentemente do que os genes mais distais.

Portanto, apesar das perdas de cDNA inerente ao processo de purificação, o método usado trouxe avanço na investigação da cinética de acúmulo dos RNAs de HRSV, por não ignorar a inespecificidade devida à existência de cDNA<sup>primer (-)</sup>.

### **A EXPRESSÃO DO GENE *LmHUS1* (*LmjF23.0290*) CONFERE RESISTÊNCIA A DANOS NO DNA EM *Leishmania major***

**Vinícius Santana Nunes**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Ricardo Orsini Tosi

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/12/2007

A região H de *Leishmania* spp codifica vários genes envolvidos na resistência à droga e na modulação de virulência do parasito e encontra-se amplificado em várias linhagens resistentes a drogas. O locus H codifica também genes de função desconhecida como a ORF *LmjF23.0290* que contém um possível domínio Hus1. A proteína Hus1, que foi caracterizada em levedura e mamíferos, interage com as proteínas Rad1 e Rad9 formando um complexo (complexo 9-1-1) que se ligar ao complexo Rad17-RFC (fator de replicação C), identifica danos no DNA, ativa mecanismos de reparo e, ao mesmo tempo, bloqueia a progressão do ciclo celular. Os mecanismos precisos que controla este processo permanecem desconhecidos.

Os testes realizados com a linhagem selecionada reforçam a hipótese de que o produto do gene *LmHUS1* é a proteína Hus1 de *Leishmania major*. A análise de *northern*

mostrou que após a transfecção do gene, a linhagem selecionada apresentava níveis aumentados dos transcritos *LmHUS1*. Testes de resistência às drogas mostraram que o transfectante é resistente a fleomicina, uma droga radiomimética, e sensível às drogas terbinafina, metotrexato e antimonias, cujas resistências podem ser mediadas pela amplificação do locus H. A resistência a fleomicina observada é relacionada com a integridade dos cromossomos do parasito como demonstrado em análises do cariótipo molecular e em ensaios de TUNEL. O envolvimento deste gene no controle do ciclo celular foi inicialmente investigado por citometria de fluxo em culturas sincronizadas e tratadas com a droga fleomicina. Os resultados obtidos mostraram que o aumento da expressão da *LmHUS1* interfere na progressão do ciclo celular. Além disso, considerando o papel de *LmHUS1* funcione na detecção do dano e controle de defeitos na replicação de DNA, formulamos a hipótese de que o produto deste gene participe no fenômeno de rearranjo do DNA e na formação de amplicons neste parasito.

### **CARACTERIZAÇÃO DE ALELOS ADICIONAIS DE *JAZIGO*: UM NOVO GENE QUE PARTICIPA DA MORTE CELULAR PROGRAMADA EM *Drosophila melanogaster***

**Lucas Anhezini de Araujo**

Orientador: Prof. Dr. Claudio Roberto Simon

Dissertação de Mestrado apresentada em 06/12/2007

Hormônios esteróides regulam fenômenos biológicos distintos incluindo diferenciação e morte celular durante o desenvolvimento dos metazoários. Durante a metamorfose de *Drosophila*, dois pulsos do hormônio esteróide 20-hidroxiecdisona disparam respostas estágio e tecido específicas de crucial importância para o desenvolvimento do inseto. O primeiro pulso estimula a glândula salivar larval a produzir os polipeptídios “glue” e dispara a morte

celular do intestino larval. O pulso subsequente dispara a morte celular programada (MCP) da glândula salivar larval e a diferenciação de vários tecidos. Estudos prévios mostraram que os genes regulados por esteróide *βFTZ-F1*, *BR-C*, *E74A* e *E93* funcionam na MCP da glândula salivar regulando a transcrição de genes tardios de morte celular como *reaper* (*rpr*) e *head involution defective* (*hid*). As similaridades observadas entre a MCP em insetos e humanos e a maior acessibilidade do genoma de *Drosophila* fazem com que esse inseto seja um modelo ideal para a identificação de novos genes. Previamente, a partir de um “screening” de uma coleção de 1475 linhagens “enhancer trap”, verifi-

cou-se que 106 dessas são expressas durante a morte celular de glândulas salivares de *Drosophila*, o que foi validado combinando-se análises de “Northern Blots” e microarranjos de DNA. Essas inserções de elemento-P representam mutações, pois se tratam de inserções únicas e letais em homozigose, portanto, úteis para identificação de genes. Foi identificada uma mutação que afeta a MCP da glândula salivar larval durante o desenvolvimento de *Drosophila*. O gene que flanqueia a inserção do elemento-P foi nomeado *Jazigo* (*jaz*) e codifica uma proteína que compartilha alta homologia com as proteínas FH (“formin homology”) ou forminas. Esse gene é expresso em resposta ao segundo pulso de ecdisona em padrão similar ao de outros genes de morte celular. As forminas participam do remodelamento do citoesqueleto de actina em diferentes processos biológicos. Na tentativa de caracterizar esse gene, foram promovidos 14 eventos independentes de excisão imprecisa do elemento-P original (flanqueando *jazigo*) objetivando gerar alelos adicionais que propiciariam uma me-

lhor análise funcional de *jazigo*. Neste trabalho, demos continuidade à caracterização genética, morfológica e molecular de *jazigo*, através da caracterização dos alelos de excisão do elemento-P originalmente inserido no locus *jazigo*, realizamos análises morfológicas de glândulas salivares (selvagens e mutantes) e construímos vetor de transformação com o intuito de gerar moscas transgênicas para ensaios de silenciamento pós-transcricional *in vivo* (RNA de interferência). Com base nessas análises identificamos três potenciais alelos adicionais de *jaz*, todos apresentando letalidade considerável no período pupal e as maiores penetrâncias do fenótipo defeutivo. As análises morfológicas mostraram um padrão de degeneração glandular no sentido distal-proximal e animais mutantes exibiram modificações nesse padrão de degeneração. Futuras análises funcionais, realizadas tendo as linhagens de excisão como “backgrounds” mutantes devem mostrar a extensão da participação de *jazigo* na MCP de glândulas salivares e validar sua semelhança primária com Forminas.

## INTERFERÊNCIA EXERCIDA PELA ADMINISTRAÇÃO DA LECTINA KM+ NO CURSO DA LISTERIOSE EXPERIMENTAL

**Marina Cavalcanti de Albuquerque da Veiga Conrado**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Maria Cristina R. Antunes Barreira  
Dissertação de Mestrado apresentada em 13/12/2007

*Listeria monocytogenes*, bactéria gram-positiva causadora da listeriose, é um patógeno intracelular facultativo que sobrevive e se multiplica no interior de macrófagos e de várias outras células não fagocíticas. Seu ciclo de vida intracelular envolve escape do vacúolo fagocítico, rápida multiplicação, indução de motilidade e direcionada para as células vizinhas, reiniciando, assim, um novo ciclo de vida.

A resposta imune inata é essencial para o combate à listeriose, envolvendo uma rede complexa da qual participam citocinas, mecanismos efetores bactericidas e múltiplos tipos celulares, incluindo neutrófilos, macrófagos e células NK (PORTNOY, 1992; UNANUE, 1997). A produção precoce das citocinas IFN- $\gamma$  por células NK e TNF- $\alpha$ , associada a ativação dos macrófagos, são fatores essenciais para a resistência do hospedeiro à infecção por *L. monocytogenes* (PAMER, 2004; MIELKE et al, 1997).

Nosso grupo de pesquisa verificou que a administração da lectina KM+ é capaz de recrutar neutrófilos, ativar macrófagos e induzir a produção de IL-12, permitindo a potencialização da resposta imune inata e o desenvolvimento de uma resposta Th1, fundamental para eficiente eliminação de patógenos intracelulares. Tal atividade imunomoduladora da lectina KM+ é capaz de conferir proteção contra infecções por *Leishmania major* e *P. brasiliensis*. Temos ampliado o espectro de modelos de doenças infecciosas estudadas sob influência da administração de KM+. A escolha da infecção murina por *L. monocytogenes* justi-

fica-se pelo fato de causar uma doença de curso agudo, adequada para bem avaliar o efeito de KM+ sobre o componente inato da resposta imunitária. Acrescente-se a isso o acúmulo de conhecimento, disponível na literatura, sobre os eventos que participam de processo de infecção por *L. monocytogenes* e dos mecanismos de defesa desencadeados no hospedeiro.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito exercido pela lectina KM+ na imunidade inata utilizando a infecção por *Listeria monocytogenes* como modelo experimental.

Para tanto, camundongos BALB/c foram pré-tratados com KM+ (3 doses i.v. de 0,5 $\mu$ g de KM+) e desafiados com 10<sup>7</sup> *Listeria monocytogenes*. O curso da infecção foi avaliado através de ensaio de sobrevivência dos animais, recuperação bacteriana (UFC), quadro anátomo-patológico, ocorrência de apoptose e detecção de citocinas no fígado e no baço desses animais.

A administração da lectina KM+ reverteu o quadro de 100% de mortalidade causada pela infecção com *Listeria monocytogenes*, proporcionando sobrevivência de todos os animais tratados. Além disso, o tratamento com a lectina associou-se a menor recuperação bacteriana, principalmente no terceiro dia de infecção, quando o número de colônias recuperadas do fígado e baço dos animais tratados foi quase 10 vezes menor do que o proporcionado por animais somente desafiados.

Alterações hepáticas foram detectadas em ambos os grupos. No entanto, animais tratados com a lectina KM+ apresentaram, no primeiro dia de infecção, abscessos melior delimitados e, no terceiro dia, desenvolveram apoptose

(TUNEL positivo) no centro dos abscessos. Nos animais apenas infectados foram visualizados abscessos mais frouxos e extensos, com células apoptóticas nas áreas periféricas da lesão.

No tecido esplênico de animais de ambos os grupos, foi detectada desorganização da arquitetura do baço, associada à presença de histiócitos sinusiais. Entretanto, essas áreas de desorganização foram encontradas precocemente nos animais tratados com a lectina - já no primeiro dia de infecção - enquanto que os animais apenas infectados só desenvolveram essa desorganização morfológica no terceiro dia. As análises de FACs revelaram apoptose de células esplênicas, mais intensa nos camundongos tratados com a lectina KM+, fato coerente com dados de literatura que demonstram que, na listeriose, o hospedeiro é beneficiado pela ocorrência precoce de apoptose de células T esplênicas.

A comparação do perfil de citocinas produzidas revelou que animais pré-tratados com KM+ produziram o dobro de IL-12 no tecido esplênico, no segundo dia de infecção, do que os camundongos apenas infectados. Foram

detectados também níveis mais elevados de IFN- $\gamma$  no tecido hepático, nos dias 1 e 2 pós infecção. Verificou-se, ainda, que os camundongos pré-tratados apresentaram níveis mais altos de IL-10 no tecido esplênico, no primeiro dia de infecção. Em contrapartida, no tecido hepático, principal alvo da infecção, os níveis de IL-10 foram inferiores aos detectados nos animais apenas infectados, no quarto e quinto dia de infecção.

Quanto à produção de citocinas *in vitro*, verificou-se que macrófagos ou células esplênicas, provenientes de animais tratados com a lectina, produziram, em relação as células provenientes de animais não tratados, níveis mais altos de TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e nitrito, quando cultivadas na presença de antígenos de *Listeria* associados a IFN- $\gamma$ .

Esse conjunto de observações indica que a administração da lectina KM+ interfere de maneira positiva na resolução da infecção por *Listeria monocytogenes* através da potencialização da resposta imune inata e da imunomodulação proporcionada pelo aumento na produção de citocinas chaves para a defesa contra a listeriose.

## BIOQUÍMICA

### EFEITO DOS ÁCIDOS GRAXOS LIVRES E DOS CORPOS CETÔNICOS NO METABOLISMO DE PROTEÍNAS EM RATOS JOVENS

**Lidiany Góis**

Orientadora: Prof<sup>fa</sup> Dr<sup>a</sup> Isis do Carmo Kettelhut  
Dissertação de Mestrado apresentada em 19/10/2007

Existem relatos na literatura, principalmente no homem, que sugerem que os ácidos graxos livres (AGL) e corpos cetônicos podem exercer um efeito anti-proteolítico, poupando as proteínas musculares em situações como jejum e diabetes, podendo, dessa forma, reduzir os processos de degradação das proteínas musculares. Não são conhecidos os efeitos diretos dos ácidos graxos e dos corpos cetônicos no metabolismo de proteínas em músculo esquelético, principalmente de mamíferos como roedores. Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito do ácido palmítico e do  $\beta$ -OH butirato no metabolismo de proteínas em músculo esquelético de ratos jovens, pela facilidade do estudo com músculos isolados *in vitro*, que permitem estimar as atividades das quatro vias proteolíticas (lisossomal, dependente de cálcio, dependente de ATP-Ub-proteassoma e residual) e o processo de síntese de proteínas.

Os resultados do presente trabalho demonstraram o efeito *in vitro* anti-proteolítico do ácido palmítico e do  $\beta$ -OH butirato no músculo esquelético de ratos jovens. Além disso, o ácido palmítico foi capaz de reduzir a atividade proteo-

lítica dependente de cálcio em aproximadamente 50%, bem como o  $\beta$ -OH butirato exerceu seu efeito anti-proteolítico, pela inibição da atividade da via proteolítica dependente de ATP-Ub-proteassoma, em torno de 30%. Foi ainda demonstrado que o ácido palmítico promoveu redução da proteólise em músculo soleus de ratos diabéticos (1, 3, 5 e 10 dias após administração de estreptozotocina) semelhante ao encontrado em animais normais. Por outro lado, não foram observadas alterações no processo de síntese de proteínas totais em *soleus* incubados na presença desses metabólitos. Entretanto, houve redução significativa na velocidade de síntese de proteínas quando a oxidação dos ácidos graxos foi reduzida (~50%) por Etomoxir e Dicloroacetato (inibidores clássicos da  $\beta$ -oxidação). Contudo, a incubação dos músculos *soleus* na presença desses inibidores e de 2-bromopalmitato, um análogo não-metabolizável de ácidos graxos, mostrou um efeito anti-proteolítico na mesma extensão daquele observado com ácido palmítico somente. Tal achado sugere existir um mecanismo diferente da oxidação mitocondrial, responsável por esta ação inibitória do ácido palmítico na degradação de proteínas. Estudos *in vivo* mostraram em ratos adultos diabéticos (5 dias pós administração de aloxana) tratados com ácido nicotínico, cujos níveis plasmáticos de AGL se mantiveram reduzidos por 6 horas, uma

redução na proteólise total em diafragma, indicando que outros fatores, além dos níveis plasmáticos de AGL, poderiam estar envolvidos nesta resposta.

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que o ácido palmítico e o  $\beta$ -OH butirato apresentam um efeito agudo

inibitório na degradação de proteínas em músculo *soleus* de ratos e que estudos adicionais são necessários para se investigar os mecanismos pelos quais eles exercem esse efeito, assim como o papel de outros tipos de ácidos graxos nos processos de síntese e degradação de proteínas musculares.

### **LIBERAÇÃO CONTROLADA DO FATOR DE CRESCIMENTO ANGIOGÊNICO EXTRAÍDO DO LÁTEX NATURAL DA SERINGUEIRA *Hevea brasiliensis*, ENCAPSULADO EM MICROESFERAS DE ÁCIDO HIALURÔNICO PARA UTILIZAÇÃO NA TERAPIA ANGIOGÊNICA E ENGENHARIA TECIDUAL**

**Viviane Ferre de Souza**

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Coutinho Netto

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/12/2007

Os fenômenos que envolvem a cicatrização têm intrigado e fascinado pesquisadores por séculos. Os diferentes tecidos possuem células competentes para a regeneração, capacidade variável conforme o tipo da lesão, idade do indivíduo e tipo celular. O processo cicatricial inicia-se a partir de uma injúria que desencadeia uma cascata complexa e organizada de eventos celulares e moleculares onde um dos principais eventos desse processo é a angiogênese. Os fatores de crescimento são conhecidos como moduladores da cicatrização. A engenharia tecidual combina biomateriais, células e moléculas bioativas para facilitar a recuperação de tecidos doentes ou lesionados oferecendo um potencial para o reparo de defeitos primários. O desenvolvimento de novos biomateriais direcionados a engenharia tecidual, tem acelerado com o maior conhecimento da regeneração tecidual, onde a cicatrização de feridas é a primeira área potencial de terapia. O uso de veículos poliméricos para a liberação controlada de agentes possibilita a distribuição por local e tempo determinados, incluindo a manutenção dos níveis de drogas com alcance desejado, poucas administrações, uso otimizado da droga, aumentando a confiança do paciente e aderência ao tratamento. A matriz ideal para liberação de drogas deve ser inerte, biocompatível, mecanicamente forte, confortável para o paciente, capaz de carregar altas cargas de drogas, simples para administração e remoção, fácil de fabricar e esterilizar, e de baixo custo. O ácido

hialurônico é uma molécula atraente para a produção de novas matrizes biocompatíveis e biodegradáveis com aplicação na liberação de fármacos, engenharia tecidual e viscosuplementação, por sofrer alterações nas suas propriedades físicoquímicas conservando suas características principais de ser biocompatível e biodegradável. Foi proposto no presente trabalho a encapsulação em microesferas de ácido hialurônico reticulado quimicamente para a liberação controlada de uma fração protéica extraída do látex da seringueira *Hevea brasiliensis*, que possui propriedades angiogênicas. O látex natural da seringueira *Hevea brasiliensis* foi extraído por processo tradicional já conhecido, coletado em recipientes contendo amônia, diluído com ácido acético a 2,2% e extraído o soro que foi passado em coluna cromatográfica, separando três frações protéicas. A fração protéica 1, denominada FrHbI, foi a escolhida por apresentar maior atividade angiogênica. O ácido hialurônico foi reticulado quimicamente com dihidrazida adípica e acrescido a FrHbI para a formação de microesferas, que apresentaram geometria esférica e diâmetro médio de 1-7<sup>00</sup>m. A atividade angiogênica foi testada na membrana corioalantóide (MCA) e no tegumento do dorso de camundongos. Foi verificado, nos dois ensaios, aumento da angiogênese nas utilizações de microesferas acrescidas da FrHbI, bem como um discreto aumento com as microesferas vazias, em relação ao controle com água destilada e salina respectivamente. A produção e liberação controlada através das microesferas de ácido hialurônico mostraram-se eficiente no processo de angiogênese podendo ser uma grande estratégia nos processos de terapia angiogênica e engenharia tecidual.

### **AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-TUMORAL DA PROTEÍNA DE CHOQUE TÉRMICO HSP65 FORMULADA EM LIPOSSOMAS CATIONICOS**

**Domingos Alexandre Ciccone Botte**

Orientador: Prof. Dr. Célio Lopes Silva

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/12/2007

Atualmente um dos principais problemas de saúde pública no mundo, e em particular nos países em desenvolvimento, é o câncer. Desde a descoberta dos antígenos associados a tumores, uma das metodologias terapêuticas que

mais se destacam é a imunoterapia. A terapia imunológica fundamenta-se na possibilidade de modular, induzir e/ou suprimir determinados segmentos da resposta imune gerando uma resposta anti-tumoral efetiva, de modo a erradicar as células tumorais sem causar danos nos tecidos saudáveis. Diversos procedimentos para a vacinação imunoterápica de indivíduos que possuem ou tiveram câncer vêm sendo desenvolvidos, incluindo o uso de células tumorais autó-

logas ou alogeneicas, lisados tumorais, peptídeos, proteínas purificadas e vacinas de DNA. Infelizmente, os resultados são variáveis e em muitos casos a resposta imune tumor-específica encontrada é pequena. Com o avanço da imunologia, cada vez mais se aceita que para se formular vacinas eficazes é necessária a associação do antígeno a dois tipos de adjuvantes, os imunostimuladores e os sistemas carreadores. O presente trabalho propôs-se a avaliar o efeito anti-tumoral da proteína de choque térmico (HSP) de 65 kDa recombinante encapsulada em lipossomas. HSPs são estimuladoras da produção de citocinas pro-inflamatórias por monócitos, macrófagos e células dendríticas e/ou aumentam da expressão de moléculas co-estimulatórias por essas células. Lipossomas são capazes de proteger biomoléculas da degradação por proteases, sustentar uma liberação controlada do material encapsulado, atóxico e capaz de interagir com as células, pela similaridade de composição das suas membranas. Os resultados mostraram-se promissores, observou-se que as células CJCL transfectadas com o gene da HSP65 de *M. leprae* derivada das células tumo-

rais parentais J774 têm seu potencial em desenvolver tumores reduzido, quando inoculadas em camundongos BALB/c. Posteriormente, animais imunizados com HSP65 recombinante com lisado de células CJCL apresentaram 16,7% de sobrevivência. Desse modo encapsulou-se a HSP65 recombinante para protegê-la de proteases, obter uma liberação sustentada e direcioná-la para via de degradação endógena. Os lipossomas catiônicos construídos apresentaram diâmetro hidrodinâmico de aproximadamente 1,0  $\mu$ m e encapsularam 100% da proteína HSP65 recombinante. Quando se imunizou camundongos BALB/c por via intradérmica com 100  $\mu$ g do lisado de células CJCL em conjunto com 50  $\mu$ g da proteína HSP65 recombinante encapsulada em lipossomas e os desafiou com a linhagem parental J774, o grupo apresentou retardo no crescimento tumoral e 33,3% sobrevivência. Além disso, a proteína HSP65r encapsulada em lipossomas ativa macrófagos derivados de precursores de medula óssea a produzirem IL-6, IL-12 e óxido nítrico de maneira mais sustentada ao longo do tempo.

## CLÍNICA MÉDICA

### VARIANTES DA MANOBRA DE EPLEY NO TRATAMENTO DA VERTIGEM POSTURAL PAROXÍSTICA BENIGNA DE CANAL POSTERIOR EM IDOSOS

**Ana Paula do Rego André**

Orientador: Prof. Dr. Júlio César Moriguti

Tese de Doutorado apresentada em 26/10/2007

A Vertigem Postural Paroxística Benigna (VPPB) é a mais comum das vestibulopatias periféricas, principalmente em idosos e apresenta como etiologia mais comum nessa população a degeneração da mácula utricular. Caracteriza-se por tontura rotatória e nistagmo posicional à mudança de posição da cabeça ou por determinada posição do corpo e, como consequência, pode ocorrer quedas e limitações na qualidade de vida dos mesmos, e torná-los limitados físico e emocionalmente. O presente estudo teve como objetivo comparar a eficácia das variantes da manobra de Epley, para que se possa promover ao paciente, cada vez mais, tratamentos rápidos, eficazes e confortáveis. Participaram do estudo 53 voluntários com hipótese diagnóstica otorrinolaringológica de VPPB de canal semicircular posterior por ductolitíase, com faixa etária entre 60 e 91 anos, com média de 67,19 anos. Quanto ao gênero, 38 (71,7%) eram do sexo feminino. Os pacientes foram distribuídos de forma aleatória em três grupos, conforme tratamento pré-estabelecido, ou seja, no Grupo A, 23 pacientes foram submetidos à manobra de Epley associada ao uso do colar cervical e orientações pós-manobra, enquanto no Grupo B, 15 paci-

entes foram submetidos à manobra de Epley sem uso do colar cervical e/ou restrições pós-manobra. Por fim, no Grupo C, 15 pacientes foram submetidos à manobra de Epley associada com o uso de um mini vibrador, aplicado na mastóide durante a manobra, sem uso de colar cervical e/ou restrições pós-manobra. No tratamento da VPPB por meio da reabilitação vestibular o número de manobras de Epley variou de uma a três, sendo que este número não foi diferente entre os Grupos estudados. Aplicou-se o questionário (*Dizziness Handicap Inventory* – DHI brasileiro) pré e pós RV para quantificar a tontura quanto aos aspectos: físico, emocional, funcional e geral. Sobre estes aspectos observou-se diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ) entre todos os escores pré e pós RV para os três grupos avaliados, embora não se encontrou diferença significativa dos escores entre os grupos estudados, com exceção da diferença média entre o Grupo A e o Grupo B dentro do tempo pós ( $p = 0,009$ ). Concluímos que os escores dos aspectos avaliados no DHI brasileiro melhoraram após intervenção fonoaudiológica pela RV nos pacientes idosos com VPPB de canal semicircular posterior, o que ocasionou impacto na qualidade de vida dos voluntários idosos estudados. Conclui-se ainda que o tratamento realmente válido para a VPPB neste estudo foi à manobra de Epley, sem restrições associadas.

## COMPARAÇÃO ENTRE TREINAMENTO COM EXERCÍCIOS FUNCIONAIS E NÃO FUNCIONAIS NA RECUPERAÇÃO DE PACIENTES COM SEQÜELA MOTORA POR ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL

**Maristela Carla Xavier Pelicioni**

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos

Tese de Doutorado apresentada em 30/10/2007

O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a recuperação funcional e a reorganização cerebral de pacientes após infarto cerebral reabilitados com dois tipos de seqüências: uma baseada em exercícios funcionais (SF) e outra baseada em exercícios não funcionais (SNF), através de escalas clínicas e de Ressonância Magnética Funcional (RMf). Foram selecionados doze pacientes hemiparéticos por infarto do território da artéria cerebral média de no mínimo um ano. Métodos: Dois treinamentos foram comparados: uma seqüência não funcional (grupo A, n=6) e outra funcional (grupo B, n=6), com repetição tanto da mão parética como da mão não-parética. Todos os pacientes foram avaliados por escalas clínicas; Fugl-Meyer, ARA teste e Barthel modificado em quatro períodos: o pré-treino (P1), o pós-treino (P2), após um mês (P3) e após três meses (P4) do término do tratamento. Os pacientes foram tratados com trinta sessões de 90 minutos cada. Além disso, analisamos o número de repetições que os pacientes realizaram na primeira e na última sessão de treinamento. Todos os pacientes foram submetidos aos exames de RMf em que uma tarefa motora foi solicitada (abrir e fechar a mão). Dos 12 pacientes, 6 tiveram que ser excluídos, principalmente por apresentar artefatos de movimento no P1, totalizando uma amostra final de 6 pacientes. Nossos resultados mostraram que o grupo A melhorou suas pontuações na escala de Fugl-

Meyer nos quatro períodos e na escala de Barthel Modificada no P4 quando comparado com o P3. O grupo B melhorou suas pontuações nas escalas de Fugl-Meyer e no ARA teste em todos os períodos de análise. Quando comparamos os índices dos dois grupos não encontramos diferenças significativas em nenhum momento tanto para as escalas de Fugl-Meyer, ARA e Barthel modificada. Nossos resultados também mostraram que os dois grupos aumentaram significativamente o número de repetições em relação à primeira sessão. Os resultados da RMf mostraram uma ativação circunscrita em áreas vizinhas ao infarto e áreas motoras primárias ipsilaterais à lesão após a reabilitação. Diminuição da ativação de áreas motoras primárias do hemisfério contralateral à lesão e ativação da área motora suplementar pós-treino. Foi verificado, ainda, que quando os pacientes ficaram sem o treinamento (P3 e P4) a ativação voltou a ter o mesmo padrão de antes da reabilitação. Nossos resultados nos permitiram concluir que os dois treinamentos melhoraram os pacientes, principalmente nas escalas de Fugl-Meyer e ARA. Além disso, a análise entre os dois grupos mostrou que as mudanças na pontuação das escalas parecem não ser dependentes do tratamento aplicado refletindo que os dois treinos são semelhantes quanto à eficácia. Este trabalho ainda nos proporcionou visualizar os padrões de ativação encefálica presentes dos pacientes do estudo antes e depois da reabilitação, como também, o melhor conhecimento das dificuldades metodológicas e limitações da RMf, fornecendo informações para futuras investigações.

## REATIVIDADE BRÔNQUICA À BRADICININA NA ASMA ASSOCIADA AO REFLUXO GASTROESOFÁGICO

**Ana Carla Sousa de Araújo**

Orientador: Prof. Dr. Elcio dos Santos Oliveira Vianna

Tese de Doutorado apresentada em 06/12/2007

O aumento da hiperreatividade brônquica é um dos possíveis mecanismos que explicam a piora da asma devido ao refluxo gastroesofágico (RGE). Os efeitos do RGE na hiperreatividade brônquica de pacientes asmáticos ainda não foram estudados com detalhe significativo. O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da infusão ácida no esôfago sobre a reatividade brônquica à bradicinina em pacientes asmáticos com RGE. O estudo compreendeu 20 pacientes com asma e RGE (definido por critérios clínicos, endoscópicos, ou pHmetria). O pH esofágico foi monitori-

zado através de pHmetria e a reatividade brônquica foi mensurada pela inalação de bradicinina durante a infusão ácida no esôfago e, com intervalo de 24 horas, os pacientes eram submetidos à outro teste broncoprovocativo sem infusão ácida. Não houve mudança significativa no  $VEF_1$ ,  $FEF_{25-75\%}$ , CVF ou PFE durante a infusão ácida. Não houve diferença na resposta do teste de broncoprovocação entre o dia controle e o dia de infusão ácida ( $p = 0,61$ ). A concentração provocadora de queda de 20% no  $VEF_1$  (média  $\pm$  d.p.) foi de  $2,67 \pm 2,79$  mg/ml no dia da infusão ácida e  $2,40 \pm 2,57$  mg/ml no dia controle. Concluímos que não há evidência de que a infusão ácida esofágica mude a reatividade brônquica. Esforços de pesquisa devem levar em consideração o limite da acidificação esofágica como método de reproduzir a associação asma e RGE.



## DOSE ADICIONAL DE ÁCIDO FÓLICO EM PACIENTES RENAIIS CRÔNICOS E HOMOCISTEINEMIA COM GENÓTIPOS DA ENZIMA MTHFR

**Fernanda Aparecida Domenici**

Orientador: Prof. Dr. Hélio Vannucchi

Tese de Doutorado apresentada em 06/12/2007

As mutações no gene da enzima metilenotetrahidrofolato redutase (MTHFR), entre elas a C677T, A1298C e G1793A, têm sido associadas à hiperhomocisteinemia e possivelmente ao risco elevado para doenças vasculares. O ácido fólico é essencial na regulação desse aminoácido e é recomendado em pacientes renais crônicos. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da suplementação com dose adicional de 2 mg/dia de ácido fólico sobre as concentrações de homocisteína nos diferentes genótipos da enzima MTHFR em 90 pacientes renais crônicos em hemodíalise e diálise peritoneal em tratamento contínuo com ácido fólico, nos quais realizou-se estudo de caracterização genotípica. Foi coletado sangue em jejum para a dosagem de homocisteína e extração do DNA para a verificação das mutações C677T, A1298C e G1793A. Foram encontrados 85,4% de hiperhomocisteinemia ( $>12\mu\text{mol/L}$ ) e as frequências alélicas para as mutações C677T, A1298C e G1793A foram 34,3%, 25,8% e 3,4%, respectivamente. Assim, dos 90 pacientes estudados, 53 que apresentaram hiperhomocisteinemia foram divididos em 4 grupos de acordo com o tipo de mutação e um grupo que não apresentou mutação, os quais receberam suplemento com dose adicional de 2 mg/dia de ácido fólico, durante 45 dias. Coletas de sangue

em jejum antes das sessões de diálise foram realizadas nos pacientes antes e após a suplementação para a quantificação de homocisteína, ácido fólico, peroxidação lipídica e danos no DNA. DNA para a verificação da forma mutada da proteína p53 foi coletado apenas antes da suplementação. O Grupo Controle foi constituído por 29 indivíduos aparentemente saudáveis para a comparação com os pacientes renais crônicos. Após a suplementação com dose adicional de ácido fólico não foi observada diminuição das concentrações plasmáticas de homocisteína em nenhum grupo de pacientes ( $p>0,05$ ). O estresse oxidativo e o dano oxidativo no DNA foram observados em todos os grupos de pacientes estudados e, após a suplementação, o estresse oxidativo diminuiu em todos os grupos que apresentavam mutações no gene da enzima MTHFR, porém o dano oxidativo no DNA diminuiu somente no grupo de pacientes que apresentou apenas a mutação C677T. A forma mutada da proteína p53 foi observada com maior frequência no grupo de pacientes com a presença da mutação C677T ( $n=3$ ). Concluiu-se que a incidência de hiperhomocisteinemia é alta em pacientes renais crônicos mesmo após o tratamento contínuo com ácido fólico e que a dose adicional de 2 mg/dia não normalizou essas concentrações. A hiperhomocisteinemia não mostrou relação com a presença de mutações no gene da enzima MTHFR mostrando uma provável contribuição da insuficiência renal crônica sobre os níveis aumentados de homocisteína.

## AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA E DO SIGNIFICADO FUNCIONAL DA ISQUEMIA MIOCÁRDICA QUANTIFICADA PELA CINTILOGRAFIA DE ESFORÇO ANTES E APÓS A REABILITAÇÃO CARDIOVASCULAR

**Maurício Milani**

Orientador: Prof. Dr. Lourenço Gallo Júnior

Tese de Doutorado apresentada em 18/12/2007

A reabilitação cardiovascular (RCv) proporciona diversos benefícios aos pacientes com coronariopatia estável. São prescritos exercícios físicos principalmente aeróbicos, de leve a moderada intensidade, realizados abaixo do limiar isquêmico, o qual é identificado, no teste ergométrico, por alterações clínicas, eletrocardiográficas e/ou hemodinâmicas. Entretanto, a cintilografia miocárdica de perfusão (CMP) apresenta maior acurácia para detecção de alterações isquêmicas e sua utilização seriada possibilita a identificação de modificações perfusionais, especialmente com a análise quantitativa. Assim, o objetivo deste trabalho foi quantificar a perfusão miocárdica, antes e após 12 semanas de treinamento físico aeróbico, nas condições de repouso e exercício físico dinâmico, em potências máximas e submáximas, sendo estas últimas semelhantes às utilizadas nas

sessões de RCv. Foram incluídos 21 pacientes com coronariopatia estável, os quais realizaram CMP com  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -sestamibi, em repouso (R1) e esforço físico máximo (M1), com presença de alterações perfusionais reversíveis. A RCv foi prescrita em 50 a 70% da frequência cardíaca (FC) de reserva, abaixo do limiar isquêmico, o qual foi identificado pelo teste ergométrico. Durante a sessão de treinamento físico foram realizadas CMP, com injeção do radiofármaco em FC próxima ao limite superior da FC prescrita, na primeira (T1) e na décima segunda semana (T2) de treinamento. Após este intervalo de 12 semanas, foram repetidas as CMP em repouso (R2) e esforço máximo (M2). Foi realizada análise quantitativa das imagens, por meio de mapas polares gerados por cortes radiais, com utilização do *software Myoquant-Liege* e modelo de 17 segmentos miocárdicos. A definição de segmento isquêmico foi realizada pela identificação de redução dos valores de captação percentual segmentar (VCPS) maior que 10% no estresse, em relação ao repouso. Além disso, foi calculada a média dos VCPS na área em risco, definida pelos

segmentos com isquemia em M1. Pela análise quantitativa da CMP em T1, houve indução de isquemia pelo treinamento físico em 81% dos pacientes, sem que ocorresse qualquer evidência de isquemia no eletrocardiograma e com presença de discretas alterações clínicas em poucos pacientes. Após 12 semanas de treinamento, não foram observadas diferenças no número de segmentos isquêmicos em T1 e T2. A análise das imagens em R1 e R2 não evidenciou modificações perfusionais significativas. A análise das CMP nos esforços máximos documentou redução do número de segmentos isquêmicos e aumento da perfusão na área em risco, após 12 semanas de treinamento físico. A redução dos segmentos isquêmicos após a RCv apresentou correlação com

a extensão da isquemia durante o treinamento físico, com maiores reduções da isquemia, em esforço máximo, nos pacientes que apresentaram maior extensão de isquemia no treinamento. Concluímos que a isquemia miocárdica induzida durante o treinamento físico apresentou prevalência elevada no início da RCv e permaneceu persistente após 12 semanas. Além disso, a RCv proporcionou melhora da perfusão miocárdica no esforço máximo e não houve modificações perfusionais em repouso. A extensão da isquemia no treinamento físico apresentou indícios de ter sido um estímulo à obtenção de benefícios na melhora perfusional em esforço máximo, após 12 semanas de RCv, o que pode denotar um possível efeito benéfico da isquemia.

## FARMACOLOGIA

### MECANISMOS ENVOLVIDOS NA INIBIÇÃO DA HIPERNOCICEPÇÃO POR CANABINÓIDES

**Cristiane Isabel Silva**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Amilcar Parada

Dissertação de Mestrado apresentada em 04/10/2007

Os endocannabinóides, como a anandamida (AEA), reduzem a dor em diversos modelos estudados. Entretanto, os mecanismos envolvidos neste efeito não estão claros. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar os mecanismos envolvidos na inibição acarretada por endocannabinóides sobre a hipemocicepção induzida em ratos machos Wistar que receberam injeções intraplantar (i.pl.) de carragenina (100µg/pata) ou prostaglandina E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>- 100ng/pata). A intensidade de hipemocicepção foi avaliada pelo método de pressão crescente na pata de ratos (von Frey eletrônico). A hipemocicepção induzida por carragenina foi inibida pelo pré-tratamento (30 min antes do estímulo) com AEA (i.pl.) nas doses de 0,3 ou 0,9 ng. De forma semelhante, o pós-tratamento com anandamida (2 h e 30 m após o estímulo) inibiu a hipemocicepção induzida por carragenina ou PGE<sub>2</sub>, em 69,19% e 86,06%, respectivamente. Interessantemente, injeções de anandamida na pata contralateral (50µg/pata) não alteram a hipemocicepção na pata ipsilateral tratadas com os agentes lesivos. Todos os efeitos analgésicos obtidos com a anandamida (pré ou pós-tratamento) sobre a hi-

pemocicepção induzida por carragenina são revertidos pela administração i.pl. de AM251 (antagonista CB1) ou AM630 (antagonista CB2). Em contraste, os efeitos da anandamida sobre a hipemocicepção induzida por PGE<sub>2</sub> são prevenidos por AM251, mas não por AM630. Além disso, injeções i.pl. de naloxona ou antagonistas seletivos para os receptores µ ou 'capa'-opióides previnem os efeitos da anandamida. O pré-tratamento com ACEA (agonista CB1 seletivo, 1µg ou 10µg por pata) inibe a hipemocicepção induzida por carragenina ou bradicinina, mas não altera a hipemocicepção induzida por TNF-α ou IL-1β ou CINC-1 ou PGE<sub>2</sub>. O pós-tratamento com ACEA reduz a hipemocicepção induzida por carragenina, mas não altera os níveis de citocinas. Estes efeitos são revertidos por AM251, mas não por naloxona. O pós-tratamento com AM1241 (agonista CB2 seletivo - 3 ou 10 µg/pata) inibe a hipemocicepção induzida por carragenina ou PGE<sub>2</sub>. Além disso, administração de AM630 ou naloxona previnem os efeitos analgésicos do AM1241. Os resultados obtidos sugerem que a anandamida inibe a hipemocicepção por ativação de receptores CB1 e CB2. Os efeitos resultantes da ativação do receptor CB1 envolvem mecanismos que, pelo menos em parte, não alteram os níveis de citocinas. Por outro lado, os mecanismos mediados pelo receptor CB2 envolvem a ativação subsequente de receptores opióides.

### FALÊNCIA DA MIGRAÇÃO DE NEÚTRÓFILOS PARA O PULMÃO DURANTE A SÉPSE : EFEITO DA ALFA-1 GLICOPROTEÍNA ÁCIDA (AGP)

**Michel Antunes de Carvalho**

Orientador: Prof. Dr. Fernando de Queiróz Cunha

Tese de Doutorado apresentada em 11/10/2007

Sepsé é uma resposta inflamatória sistêmica que resulta da inabilidade do sistema de defesa em controlar o crescimento bacteriano local durante uma infecção. Recentes

estudos do nosso laboratório demonstram que uma falência na migração de neutrófilos (FMN) para o foco infeccioso é observada na sepse grave em diferentes modelos experimentais. Entretanto, nenhum estudo ainda investigou se esse fenômeno ocorre também no pulmão, uma das principais fontes de infecção na sepse. Para testar nossa hipótese, padronizamos em nossas condições experimentais um modelo de sepse induzida por pneumonia através da administração intratraqueal de *Klebsiella pneumoniae* em camundongos Swiss machos. Através da administração de diferentes inóculos bacterianos, dois perfis distintos de infecção foram caracterizados: um sub-letal ( $1,0 \times 10^8$  UFC/cav) e outro letal ( $2,0 \times 10^9$  UFC/cav). No primeiro, foi observada intensa migração de neutrófilos para o lavado broncoalveolar (BAL) e tecido pulmonar. No segundo caso, houve FMN para o pulmão, intensa bacteremia, aumento dos níveis

sistêmicos de citocinas e alta mortalidade em comparação com os animais que foram submetidos à infecção pulmonar sub-letal. Em modelos de sepse por ligadura e perfuração do ceco (CLP) esta FMN parece ser causada pela liberação sistêmica de citocinas com resultante produção de óxido nítrico (NO) e monóxido de carbono (CO). Todavia, em nosso modelo, a inibição da enzima óxido nítrico sintase (NOS) e heme oxigenase (HO), responsáveis pela produção de NO e CO, respectivamente, não reverteu a FMN para o pulmão, descartando a participação desses gases na FMN aqui observada. A  $\alpha$ -1 glicoproteína ácida (AGP), é uma das proteínas de fase aguda aumentadas durante a sepse e descrita como também tendo participação no fenômeno de FMN na sepse por CLP. Foi investigado também que a  $\alpha$ -1 glicoproteína ácida (AGP) administrada endovenosamente agravou a sepse. Sugere-se que este efeito da AGP seja mediado pelo CO.

### **MODULAÇÃO FARMACOGENÉTICA DE EFEITOS DA ATORVASTATINA SOBRE PARÂMETROS RELACIONADOS AO ÓXIDO NÍTRICO EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS**

**Sabrina Nagassaki**

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos  
Tese de Doutorado apresentada em 18/10/2007

Os inibidores da enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, compõem a classe das estatinas, e são drogas reconhecidas pela inibição da síntese hepática de colesterol. Além desse efeito, as estatinas apresentam uma série de efeitos pleiotrópicos independentes da redução de colesterol, entre eles o aumento da expressão e atividade da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). Entretanto, o polimorfismo T<sup>-786</sup>C da região promotora do gene da eNOS mostrou reduzir esta atividade, sendo portanto associados a doenças cardiovasculares. Estudos anteriores mostraram associações entre redução na síntese de óxido nítrico com doenças cardiovasculares, bem como com alterações de membrana de eritrócito, que também pode levar ao desenvolvimento dessas doenças. Sendo assim, foi suposto que os efeitos das estatinas poderiam ser modulados pelo polimorfismo T<sup>-786</sup>C da eNOS. Portanto, neste estudo, procuramos avaliar se os efeitos da atorvastatina sobre a produção de NO e propriedades biofísicas de hemácias seriam diferentes entre os genótipos desse polimorfismo. Para isso, genotipamos 200 indivíduos saudáveis para este polimorfismo, sendo que 15 indivíduos com genótipo TT e 15 com genótipo CC foram selecionados para receber placebo ou atorvastatina (10 mg/kg v.o. por 14 dias). A

biodisponibilidade de NO foi determinada pelas concentrações de produtos da degradação do NO, tais como nitrato plasmático, bem como nitrito plasmático, eritrocitário e no sangue total, pelo método de quimioluminescência. Os níveis de estresse oxidativo foram medidos pela determinação de espécies reativas do ácido barbitúrico (TBARS) e as propriedades biofísicas dos eritrócitos foram avaliadas pela medida da fluidez de membrana pelo método da Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE). O tratamento com atorvastatina não produziu significativas alterações das concentrações de nitrato, nitrito e cGMP plasmáticos em nenhum dos genótipos estudados, porém aumentou as concentrações de nitrito no sangue total e diminuiu significativamente as concentrações de TBARS em indivíduos CC (mas não em TT). No que se refere à fluidez de membrana, a ANOVA de duas vias mostrou efeitos significativos da atorvastatina em indivíduos "TT" mas não em "CC" sobre os valores do tempo de correlação rotacional ('tau'). Não foram observadas alterações quanto ao parâmetro S. As concentrações de TBARS da membrana eritrocitária mostraram-se reduzidas antes do tratamento com atorvastatina em indivíduos CC quando comparados com o genótipo TT, porém após o tratamento com atorvastatina tais diferenças não foram mais observadas. Estes resultados sugerem que o tratamento com atorvastatina possa ser modulados pelo polimorfismo T<sup>-786</sup>C sobre a biodisponibilidade de NO sobre a fluidez de membrana.

### **O PAPEL DOS NEURÔNIOS AFERENTES PRIMÁRIOS NA SÍNTESE E LIBERAÇÃO DE PROSTA-GLANDINA E<sub>2</sub> NO DESENVOLVIMENTO DA HIPERALGESIA INFLAMATÓRIA**

**Dionéia Araldi**

Orientador: Prof. Dr. Carlos Amílcar Parada  
Dissertação de Mestrado apresentada em 23/10/2007

O objetivo deste estudo foi avaliar se o neurônio nociceptivo primário é responsável pela síntese e liberação de PGE<sub>2</sub> durante o processo inflamatório do tecido periférico e

qual isoforma da enzima ciclooxigenase (COX-1 ou COX-2) estaria envolvida neste processo. Também verificamos a importância da IL-1 $\beta$  produzida no gânglio da raiz dorsal (GRD) para o estabelecimento da hipernociceção inflamatória. Os resultados demonstraram que tanto o inibidor seletivo para COX-1 quanto para COX-2, administrados diretamente no GRD (L5) inibiram a hipernociceção mecânica inflamatória induzida pela carragenina ou IL-1 $\beta$ , mas não pela PGE<sub>2</sub>, administrados localmente no tecido periférico da pata traseira ipsi-lateral de ratos (i.pl.). O tratamento intraganglionar (i.gl.) com ODN antisense (AS), desenhados especificamente contra a expressão de COX-1 ou COX-2, reduziu a expressão destas enzimas no GRD e inibiu a hipernociceção induzida pela administração local de IL-1 $\beta$  na pata. Confirmando a participação dos neutrófilos na hipernociceção induzida pela IL-1 $\beta$  no tecido periférico, demonstramos que o pré-tratamento dos ratos com fucoidina preveniu a hipernociceção induzida pela IL-1 $\beta$  na pata, mas não pela PGE<sub>2</sub> ou IL-1 $\beta$  no GRD. Verificamos também que o pré-tratamento

do tecido periférico com antagonistas de receptores EP (receptores de PGs, EP<sub>2</sub> e EP<sub>4</sub>) reduziu a hipernociceção induzida pela administração no GRD-L5 de IL-1 $\beta$ , mas não pela PGE<sub>2</sub>. Em um outro bloco de experimentos, demonstramos que a administração periférica de CFA e/ou carragenina (Cg) aumentou a concentração de IL-1 $\beta$  no GRD e a hipernociceção induzida por estes agentes inflamatórios foi inibida pela administração no GRD do antagonista natural do receptor de IL-1 (IL-1Ra), demonstrando, desse modo, a importância da liberação endógena de IL-1 $\beta$  no GRD para o desenvolvimento da hiperalgesia inflamatória. Finalmente, a administração de IL-1 $\beta$  no GRD-L5 aumentou a expressão de COX-2 e TRPV1 no mesmo. Estes dados sugerem uma nova função dos neurônios aferentes primários: a síntese e liberação de PGE<sub>2</sub> possui uma ação autócrina no desenvolvimento das hiperalgesias inflamatórias periféricas. Além disso, os resultados apresentados indicam um papel para a IL-1 $\beta$  produzida no GRD durante o estabelecimento da hiperalgesia induzida por inflamação do tecido periférico.

### INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS FUNCIONAIS DA MMP-9 NAS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DA ENZIMA EM PACIENTES COM AIDS EM TRATAMENTO ANTI-RETROVIRAL

**Caroline Demacq Souza Tarlá**

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Tanus dos Santos  
Tese de Doutorado apresentada em 22/11/2007

O uso da terapia anti-retroviral altamente ativa (HAART) em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) tem reduzido significativamente a mortalidade e morbidade associadas à doença. Porém, este tratamento tem sido associado a alterações metabólicas, incluindo dislipidemia, resistência à insulina e distribuição alterada de gordura (lipodistrofia). Estas complicações podem aumentar o risco de doenças cardiovasculares nesses pacientes.

A modulação da estrutura vascular pelas metaloproteínas da matriz (MMPs) poderia ser um dos principais determinantes de eventos cardiovasculares agudos em indivíduos em alto risco. Ainda, vários estudos recentes demonstram a participação desta enzima na fisiopatologia de complicações relacionadas à infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV).

Esta enzima apresenta polimorfismos funcionais na região promotora associados à susceptibilidade a doença cardíaca coronariana, aneurismas, severidade de arteriosclerose, aterosclerose da carótida e aumento do risco de infarto do miocárdio. Portanto, alterações da expressão e atividade da MMP-9 em pacientes soropositivos para o HIV, juntamente com as alterações verificadas no quadro de lipodistrofia, poderiam funcionar como marcadores de risco cardiovascular aumentado nestes pacientes.

Desta maneira, este estudo avaliou se os polimorfismos genéticos funcionais presentes na região promotora, individualmente ou combinados em haplótipos, alteram as

concentrações plasmáticas da MMP-9, em voluntários saudáveis e em pacientes com aids antes do início de tratamento. Ainda, avaliamos também se as concentrações plasmáticas desta enzima estão alteradas comparadas com indivíduos saudáveis. Finalmente, avaliamos se a HAART afeta as concentrações da MMP-9 e se os polimorfismos genéticos modulam as mudanças associadas ao tratamento.

Os resultados mostraram uma associação entre o alelo T e concentrações plasmáticas de MMP-9 aumentadas em pacientes com aids antes do início do tratamento. Finalmente, a HAART produziu diminuição significativa nas concentrações de MMP-9 somente em portadores do alelo T.

Estes resultados sugerem que o tratamento anti-retroviral de pacientes portadores do alelo T resulta em melhora no perfil de MMP-9, o que pode ser particularmente benéfico neste grupo de pacientes, tendo em vista o aumento do risco de eventos cardiovasculares associados a este tratamento.

No presente estudo, avaliamos também alguns aspectos metodológicos controversos relacionados a técnica de zimografia. Avaliamos se existe correlação linear entre o volume de plasma aplicado em cada poço do gel e as atividades gelatinolíticas das MMPs-2 e 9. Nossos resultados mostraram que diferentes volumes de plasma devem ser estudados para determinação das concentrações plasmáticas de MMP-2 e MMP-9. Ainda, estudamos também como amostras de plasma comparam-se com amostras de soro. Encontramos concentrações maiores de MMP-9 nas amostras de soro do que de plasma. Esses achados sugerem que a utilização de amostras de soro para determinação de MMP-9 provavelmente não é recomendada pois seriam determinadas concentrações artificialmente aumentadas.

## FISIOLOGIA

### **PARTICIPAÇÃO DA VIA DA HEME OXIGENASE-MONÓXIDO DE CARBONO-GMPc, NO LÓCUS COERULEUS, NA RESPOSTA TERMORREGULATÓRIA À ENDOTOXINA E AO ESTRESSE**

**Maria Ida Bonini Ravanelli**

Orientador: Prof. Dr. Luíz Guilherme de Siqueira Branco  
Tese de Doutorado apresentada em 24/10/2007

O monóxido de carbono (CO) é um mensageiro gasoso na sinalização central capaz de difundir-se das células onde é produzido e regular a temperatura corporal por meio da ativação da GCs, uma hemoproteína citosólica que catalisa a produção de GMPc. A heme oxigenase (HO, enzima que catalisa o metabolismo de heme em CO, biliverdina e ferro em quantidades equiulares) é a enzima responsável pela produção endógena de CO e é induzida por uma variedade de estímulos como estresse oxidativo e nitrosativo, lipopolissacarídeo/endotoxina (LPS) e glicocorticóides. No entanto, o sítio de ação no qual o CO exerce seus efeitos termorregulatórios no sistema nervoso central ainda não foi identificado. O locus coeruleus (LC) é um grupo bem delineado de células adjacente ao assoalho do quarto ventrículo na região pontina do tronco encefálico e é o princi-

pal núcleo noradrenérgico do SNC. O LC contém grande quantidade de GCs e HO. Recentemente, foi demonstrado que os neurônios noradrenérgicos do LC são muito importantes para o desenvolvimento da febre induzida por LPS, bem como para as respostas fisiológicas ao estresse. Em vista disso, o possível envolvimento da via HOCO-GMPc no LC no controle termorregulatório após o estímulo com LPS e estresse de contenção foi investigada. A indução da via da heme oxigenase utilizando heme-lisinato (7,6 nmol, intra-LC) atenuou a resposta febril ao LPS e aumentou a resposta hipotérmica ao estresse, e esses efeitos foram prevenidos pela administração de ODQ (inibidor da enzima GCs, administrado intracerebroventricularmente, 1.3 nmol). Além disso, ZnDPBG (inibidor da HO; 5 nmol, intra-LC) aumentou a resposta febril ao LPS e atenuou a hipotermia induzida pela contenção. Em conjunto, os dados indicam que o CO endógeno no LC, produzido pela HO e atuando via GMPc apresenta efeito antipirético durante a febre induzida por LPS e um efeito criogênico na hipotermia induzida pelo estresse de contenção em ratos.

### **PAPEL DA VIA HEME OXIGENASE-MONÓXIDO DE CARBONO-GMPc, NA NOCICEPÇÃO INFLAMATÓRIA**

**Carlos Giovani de Oliveira Nascimento**

Orientador: Prof. Dr. Luíz Guilherme de Siqueira Branco  
Tese de Doutorado apresentada em 30/10/2007

Com a crescente confirmação da importância dos mediadores gasosos nos mecanismos moduladores de diversas funções biológicas e processos celulares e neuronais, o papel fisiológico desempenhado pela via da enzima heme oxigenase-monóxido de carbono (HO-CO) tem sido intensamente investigado. O monóxido de carbono é um mediador gasoso cujos níveis celulares e tissulares dependem diretamente da atividade da enzima heme oxigenase. Em sua atividade endógena, essa enzima promove a clivagem do grupo heme, levando à formação de quantidades equimolares de CO, biliverdina e Fe<sup>++</sup>. Sendo o CO o produto mais ativo e provavelmente de aspectos funcionais mais amplos e relevantes, faz-se necessário avaliar o potencial neuromodulador da via HO-CO na nocicepção inflamatória. Dessa forma, o objetivo geral aqui focado foi o de investigar o papel da via HO-CO na resposta nociceptiva de ratos no modelo de dor bifásico da formalina podal. De modo mais específico, manipulou-se farmacologicamente

a atividade da heme oxigenase, com o uso de drogas capazes de inibir (ZnDPBG) ou fornecer substrato (heme-lisinato) para a enzima alvo. Foram desenvolvidas três abordagens experimentais distintas, periférica podal e localmente restrita, espinhal, e foi avaliado o potencial sinérgico entre essas duas primeiras. O modelo nociceptivo adotado foi o da formalina podal, onde 50<sup>00l</sup> de uma solução de formalina a 1% era injetado por via subcutânea na região dorsal da pata posterior direita, induzindo-se assim uma hiperalgesia bifásica persistente caracterizada por sacudidas da pata injetada (*flinching*) e com aspectos inflamatórios evidentes. Constatou-se que o pré-tratamento tanto podal quanto espinhal com o ZnDPBG fora capaz de aumentar a resposta nociceptiva de *flinching*, levando a hipernocicepção nas duas fases do teste. De modo oposto, o uso prévio do substrato heme-lisinato reduziu a frequência do comportamento de *flinching*, demonstrando seu papel antinociceptivo no modelo estudado. Uma vez demonstrado que a ativação da via HO-CO é antinociceptiva, foram avaliados os três produtos da enzima, a biliverdina, o Fe<sup>++</sup> (indiretamente pelo quelante deferoxamina) e o CO. Observou-se então que somente o monóxido de carbono era o produto respon-

sável pelo efeito observados com a ativação da via, não havendo qualquer função antinociceptiva que pudesse ser atribuída à biliverdina ou o  $Fe^{++}$ . Baseando-nos no fato de grande parte das funções reguladoras da via da HO-CO depender da ativação da guanilato ciclase solúvel e do GMPc, foi utilizado o azul de metileno como inibidor da formação de GMPc. A administração do azul de metileno previamente ao heme-lisinato e CO foi capaz de reduzir os efeito antinociceptivos desses dois agentes tanto na abordagem periférica podal quanto na espinhal (heme-lisinato).

Demonstrando-se que o mecanismo pelo qual a atividade da via HO-CO promove antinocicepção depende, pelo menos parcialmente, da guanilato ciclase solúvel e conseqüente formação de GMPc. Uma vez demonstrada a função antinociceptiva da via, investigou-se o possível sinergismo entre as abordagens central espinhal e periférica podal. Nesse estudo utilizaram-se doses dos agentes ZnDPBG e Heme-lisinato não efetivas por si quando injetadas espinhal ou podalmente, mas que por ação sinérgica periférico-central tiveram seus efeitos somados.

### **EFEITOS DA INTERAÇÃO DO ESTADO ALIMENTAR E DA AÇÃO ESTROGÊNICA SOBRE O SISTEMA OCITOCINÉRGICO**

**Fabiana Lúcio de Oliveira**

Orientador: Prof. Dr. Celso Rodrigues Franci

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/11/2007

O aumento da osmolalidade plasmática ativa mecanismos de sede bem como mecanismos inibidores do consumo adicional de soluto e indutores da excreção de sódio mediada, principalmente, pela ocitocina (OT) e pelo peptídeo natriurético atrial (ANP). A osmolaridade plasmática aumenta em conseqüência da alimentação, provocando elevação diretamente proporcional da concentração plasmática de ocitocina (OT) e de vasopressina (AVP). A OT liberada para a circulação sistêmica, estimula a excreção renal de sódio, diretamente e indiretamente por induzir a liberação de ANP pelo coração. Os esteróides ovarianos também podem

influenciar o balanço de líquidos indiretamente, bem como agir diretamente em neurônios OT e AVP do hipotálamo. Vários estudos verificaram a presença de ER- $\beta$  em neurônios OT do PVN e SON. Assim, o objetivo deste trabalho foi analisar a ativação dos neurônios ocitocinérgicos do PVN e SON na presença de esteróides gonadais e de estímulo osmótico. Nossos estudos mostram que animais tratados com estrógeno e realimentados após jejum de 48 horas tiveram diminuição da ativação dos neurônios OT do PVN e SON. O efeito inibitório do estrógeno nos neurônios OT pode também ter influenciado a secreção de OT. Os animais tratados com estrógeno tiveram concentração plasmática de OT menor quando comparado dos animais tratados com veículo. Assim, parece existir uma interação do sistema ocitocinérgico, com a condição estrogênica e a osmolalidade.

### **CO-EXPRESSION DE LEPTINA E RECEPTORES PARA ESTRÓGENO NA REGIÃO PREOPTICA-HIPOTALÂMICA**

**Bruno Del Bianco Borges**

Orientador: Prof. Dr. Celso Rodrigues Franci

Dissertação de Mestrado apresentada em 30/11/2007

O eixo reprodutivo tem como principal controlador o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). O estrógeno age em neurônios sintetizadores de GnRH, direta e indiretamente, modulando a secreção deste, por meio de seus receptores do tipo- $\alpha$  (ER- $\alpha$ ) ou - $\beta$  (ER- $\beta$ ). Há interação do eixo reprodutivo com o balanço energético e um possível mediador desta interação é a leptina, hormônio que age na regulação do metabolismo, do comportamento alimentar e da reprodução. Animais homocigotos para o gene "ob" (ob/ob) são incapazes de produzir leptina, tornando-se obesos e inférteis, efeitos que são revertidos após administração sistêmica de leptina. Além disso, o estrógeno pode modular a secreção de leptina pelos adipócitos. Assim, os objetivos deste trabalho foram verificar: 1) se neurônios que expressam leptina também expressam ER- $\alpha$  ou ER- $\beta$  na área preóptica medial (MPOA) e nos núcleos hipotalâmicos ar-

queado (ARC), dorsomedial (HDM) e ventromedial (HVM); 2) se há variação da expressão gênica e protéica da leptina nessas regiões durante o ciclo estral ou em animais ovariectomizados (OVX) tratados com estrógeno e da expressão gênica da leptina na hipófise e no tecido adiposo dos animais OVX tratados com estrógeno ou veículo. Ratas Wistar (250-280g) com 3 ciclos regulares e OVX tratadas com estrógeno ou veículo foram utilizadas. Para verificar uma possível co-expressão realizou-se imunofluorescência para dupla marcação, com confirmação da coexpressão por meio de microscopia confocal. Para analisar expressão gênica e protéica foram utilizadas as técnicas de *Real Time PCR* e *Western Blot*, respectivamente. Nossos resultados mostraram co-expressão de leptina e ER- $\alpha$  na MPOA e HDM, e leptina e ER- $\beta$  na MPOA, HDM e ARC. Houve expressão gênica de leptina em metaestro, diestro e proestro na MPOA; metaestro e proestro no ARC; diestro, proestro e estro no HDM, mas não houve diferença estatística entre as expressões detectadas em cada área. Também, não houve diferença estatística da expressão gênica de leptina, na MPOA, no ARC, no HDM, na hipófise e no tecido adiposo entre animais OVX

tratados com estrógeno e com veículo. Não foi possível detectar a leptina na MPOA, no ARC e no HDM. Em conclusão, os resultados do presente trabalho indicam que: há expressão de leptina na MPOA, ARC e HDM e o estrógeno

pode modular a síntese de leptina diretamente nestas áreas relacionadas ao controle da função reprodutiva, possivelmente modulando a síntese de leptina por meio de mecanismos pós-transcricionais.

### CORRENTES DE $Cl^-$ ATIVADAS POR VOLUME CELULAR E POR HIPERPOLARIZAÇÃO EM CÉLULAS DE LEYDIG DE CAMUNDONGOS

**Luiz Artur Poletto Chaves**

Orientador: Prof. Dr. Wamberto A. Varanda  
Tese de Doutorado apresentada em 03/12/2007

A produção e secreção de testosterona em células de Leydig é controlada principalmente pelo hormônio luteinizante (LH) via receptor acoplado à adenilato ciclase, levando a aumentos nas concentrações intracelulares de AMPc e  $Ca^{2+}$ . Embora evidências bioquímicas sugiram que canais para  $Cl^-$  modulem o processo esteroidogênico e correntes para  $Cl^-$  tenham sido descritas em células de Leydig, ainda permanece a questão relacionada a identidade dos canais responsáveis pelas mesmas. Este estudo descreve correntes para  $Cl^-$  ativada por variação de volume celular ( $I_{CL,SWELL}$ ) e também por hiperpolarização (canais CIC) em células de Leydig de camundongos (50 – 60 dias).  $I_{CL,SWELL}$  foi ativada de modo reversível e dependente da intensidade por estímulo osmótico, com um  $EC_{50}$  de  $\sim 75$  mOsm. Estas correntes apresentam assinatura biofísica típica dos canais VRAC e são dependentes do ATP intracelular. O inibidor não específico de proteínas quinase estaurosporina (200 nM) não inibiu a ativação destas correntes pelo estímulo hiposmótico. NPPB (128 mM), SITS (200 mM), ATP (500 mM), suramina (0.5 – 1000 mM) e PPADS (100 mM) bloquearam  $I_{CL,SWELL}$  de modo dependente de voltagem. O bloqueio por NPPB foi descrito pelo modelo de Woodhull e

resultou em um valor da constante de dissociação aparente em 0 mV ( $0 dK$ ) e da distância fracional (d) de 359 mM e 42 %. O bloqueio por ATP, SITS e PPADS foi descrito pelo modelo do bloqueador permeante, resultando em valores de  $0 dK$  e d de 634 mM e 42 %, 699 mM e 46 %, 168 mM e 39 %, respectivamente. Suramina bloqueou as correntes com um  $IC_{50}$  de 1 mM e coeficiente de Hill igual a 1. A ativação de VRAC em células de Leydig por estímulo hiposmótico foi bloqueada diretamente pelos antagonistas purinérgicos e não secundariamente à ativação de receptores purinérgicos P2Y. As correntes de  $Cl^-$  ativadas por hiperpolarização foram medidas em meio isosmótico. A ativação destas correntes é lenta e foi descrita por duas constantes de tempo ( $t_1 = 240$  ms e  $t_2 = 33$  ms) em -160 mV. A desativação também é lenta e descrita por duas constantes de tempo ( $t_1 = 454$  ms e  $t_2 = 71$  ms) em +40mV. Ambas as cinéticas apresentam pequena dependência de voltagem. Estas correntes ativadas por hiperpolarização são retificadoras de entrada e a curva de ativação descrita pela equação de Boltzmann resultou em um  $V_{0.5}$  de -116 mV e um fator de coeficiente angular de 31 mV (“slope factor”). DIDS (1000 mM) e  $Zn^{2+}$  (30 - 1000 mM) bloquearam estas correntes e a análise pela equação de Hill do bloqueio por  $Zn^{2+}$  resultou em um  $IC_{50}$  de 276 mM e coeficiente de Hill igual a 1. Estes dados sugerem que existem pelo menos dois tipo de canais para  $Cl^-$  em células de Leydig, um similar ao CIC-2 e outro similar ao VRAC.

### MORFOLOGIA DOS NEURÔNIOS GRANULARES NOVOS DO HIPOCAMPO NO MODELO DE EPILEPSIA DO LOBO TEMPORAL INDUZIDA POR PILOCARPINA

**Gabriel Maisonave Arisi**

Orientador: Prof. Dr. Norberto Garcia Cairasco  
Tese de Doutorado apresentada em 13/12/2007

A epilepsia do lobo temporal é a síndrome epiléptica humana mais comum e a mais difícil de controlar com o uso de fármacos. Muitos desses pacientes farmacorresistentes têm que ser submetidos a drásticas intervenções cirúrgicas para a ressecção de grandes áreas cerebrais. A epilepsia do lobo temporal associada à esclerose do hipocampo, denominada epilepsia do lobo temporal mesial, é alvo de intensos estudos clínicos e experimentais. O hipocampo esclerótico é caracterizado pela morte de neurônios piramidais e pelo brotamento de terminais sinápticos aberrantes ricos em zinco na camada molecular interna e no

*hilus* do giro denteado. Esse brotamento resulta do crescimento de colaterais axonais dos neurônios granulares do giro denteado. Outra mudança fundamental no hipocampo na condição epiléptica é o aumento da neurogênese que ocorre no giro denteado. Essas alterações afetam o padrão de conectividade da formação hipocampal e, portanto, o funcionamento desta rede neuronal. Modelos animais experimentais foram desenvolvidos para auxiliar na elucidação da patofisiologia dessa condição. O modelo da pilocarpina induz um estado convulsivo sustentado denominado *status epilepticus* e após um período silencioso, crises recorrentes espontâneas e esclerose hipocampal. A proteína *doublecortin* tem sido utilizada recentemente como um marcador de neurônios granulares novos no giro denteado de animais adultos. Sua distribuição citoplasmática

permite a visualização e o estudo da arborização dendrítica dos novos neurônios. O objetivo desse estudo foi quantificar e visualizar em três dimensões, através de estereologia e reconstruções digitais, alterações na quantidade dos novos neurônios granulares e em sua morfologia no hipocampo de animais experimentais com epilepsia do lobo temporal. Ratos Wistar adultos foram tratados com pilocarpina e a ocorrência de *status epilepticus* registrada. Os animais foram monitorados diariamente para o registro de crises recorrentes espontâneas. Um mês após o *status epilepticus* induzido por pilocarpina os animais foram profundamente anestesiados e perfundidos com solução fixadora. Os neurônios positivos para *doublecortin* eram duas vezes mais numerosos no hipocampo dos animais epiléticos e apresentavam arborização dendrítica apical com o mesmo número de bifurcações e terminações e também o mesmo comprimento total que os animais controles. Porém, a distribuição da árvore dendrítica apical era bastante diferente nos animais epiléticos. As bifurcações dendríticas eram mais numerosas na camada granular e as terminações den-

dríticas se concentraram na camada molecular interna do giro dentado. Havia mais comprimento dendrítico nas camadas granular e molecular interna e menos comprimento dendrítico nas camadas molecular média e externa no giro dentado dos animais epiléticos. Essa mudança na distribuição da arborização dendrítica apical em conjunto com a maior frequência de dendritos basais nos novos neurônios granulares dos animais epiléticos causou uma concentração dos dendritos nas regiões onde ocorreram brotamentos das fibras musgosas. Essas alterações morfológicas indicam que os novos neurônios granulares que são adicionados ao giro dentado após o *status epilepticus* não se desenvolvem normalmente. Isso poderia ser causado por mudanças de níveis extracelulares de neurotrofinas como o *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF). A coincidência espacial entre os dendritos dos novos neurônios granulares e os terminais sinápticos aberrantes que resultam do brotamento das fibras musgosas poderia facilitar a formação de sinapses recorrentes que contribuiriam para a epileptogênese no hipocampo.

#### **PARTICIPAÇÃO DO TETO ÓPTICO NA RESPOSTA DE ORIENTAÇÃO DE UM PEIXE ELÉTRICO DE CAMPO FRACO *Gymnotus carapo*: PRINCIPAIS NEUROTRANSMISSORES E VIAS ENVOLVIDAS**

**Terence Teixeira Duarte**

Orientadora: Profa. Dra. Anette Hoffmann

Tese de Doutorado apresentada em 13/12/2007

Nos vertebrados o teto óptico (TeO) e o seu homólogo nos mamíferos o colículo superior são responsáveis pelas tarefas integrativas multisensoriais orientacionais, assim como pelas respostas defensivas e de captura de presas. Nos peixes elétricos de campo fraco, apesar de alguns trabalhos já terem demonstrado que estímulos visuais em movimento, apresentados sozinhos ou combinados com eletrosensoriais, ativam as células tectais, ainda hoje pouco se sabe sobre quais as vias neuronais, os tipos de neurotransmissores envolvidos e os estímulos usados na indução das diferentes respostas comportamentais. Assim o presente estudo teve por objetivo avaliar a participação do TeO e dos sistemas GABAérgico e Glutamatérgico na modulação de respostas comportamentais de *Gymnotus carapo*. Nossos dados demonstraram que microinjeções de diferentes concentrações do antagonista GABAA bicuculina (0,49 mM, 0,98 mM e 1,96 mM) nas camadas intermediárias e profundas do TeO provocaram episódios de aumentos abruptos na frequência da descarga. As microinjeções prévias de 15,35 mM de muscimol nestas mesmas camadas do TeO foram capazes de bloquear os aumentos na frequência da descarga observados após as microinjeções de 0,98 mM de bicuculina neste mesmo sítio. Observamos ademais que as microinjeções de NMDA (100 mM) no TeO provocaram episódios de aumentos na frequência da DOE similares àqueles observados após a microinjeção da maior

concentração de bicuculina. Como nos nossos resultados foi possível observar que as diferentes concentrações de bicuculina ou NMDA provocavam aumentos na frequência da descarga sem modulações da amplitude, aventamos que tais respostas podem ser evocadas durante a eletrolocalização ativa destes animais e consideradas como uma resposta de orientação à um estímulo novo. Também aventamos também que os episódios de aumentos na frequência da DOE apresentados após a maior concentração de bicuculina ou NMDA no TeO podem estar envolvidos com a atenção. Nossos achados neuroanatômicos demonstraram que após deposição do BDA nas camadas intermediárias e profundas do TeO, fibras varicosas foram marcadas na porção lateral do complexo formado pelo núcleo central posterior (CP) e prémarcapasso (PPn CP/PPn) e na camada VIII do toro semicircular dorsal (TSd) assim como neurônios retrogradamente marcados foram encontrados na região dorsocentral do telencéfalo dorsal (Dc). Assim sugerimos possíveis substratos neurais que poderiam estar envolvidos nas modulações da DOE observadas nos nossos experimentos com *Gymnotus carapo*. Um possível substrato envolveria a conexão direta entre o TeO e o CP/PPn; um outro, a conexão bidirecional entre o TeO e o TSd. As microinjeções de bicuculina ou NMDA no TeO de *Gymnotus carapo* além das modulações da DOE, induziram respostas motoras. O aparecimento de terminais na formação reticular rombencefálica, núcleo tegmental mesencefálico rostral e na medula espinal após o depósito de BDA no TeO, indica que várias vias podem estar envolvidas no controle de tais respostas motoras.



## GENÉTICA

### DINÂMICA DA MISTURA ÉTNICA EM COMUNIDADES REMANESCENTES DE QUILOMBO BRASILEIRAS

**Marcelo Rizzatti Luizon**

Orientador: Prof. Dr. Aguinaldo Luíz Simões

Tese de Doutorado apresentada em 24/10/2007

Apesar da intensa mistura étnica na formação da população Brasileira, pequenos grupos isolados ainda podem ser encontrados, principalmente representados pelas tribos indígenas e comunidades remanescentes de quilombo. As comunidades de Barra (BA), São Gonçalo (BA) e Valongo (SC) apresentam diferentes histórias demográficas de formação. Os AIMs (Marcadores Informativos de Ancestralidade) são capazes de revelar essas diferenças pois apresentam grandes diferenciais de frequência ( $\delta$ ) entre os principais grupos populacionais parentais (africanos, ameríndios, europeus) e, por esta razão, constituem polimorfismos com maior poder discriminante em estimativas de mistura étnica. No presente trabalho, foram testados oito AIMs na análise de três remanescentes de quilombo, comparados a duas amostras de população urbana brasileira. Um destes marcadores, o alelo *CYP11A1\*2C*, foi testado em sete aldeias de quatro tribos da Amazônia Central Brasileira, completando a análise dos outros sete marcadores previamente realizados nestas populações ameríndias. Os objetivos, além da descrição formal de tais populações, incluíam comparar eventuais diferenças entre as comunidades quilombolas e verificar a eficiência relativa destes marcadores em estudos deste tipo. A comparação das frequências do alelo *CYP11A1\*2C* entre os ameríndios e populações mundiais confirma este alelo como um excelente AIM para diferenciar ameríndios de europeus e africanos, informação importante em estimativas de mistura em populações tri-híbridas Brasileiras. As frequências de oito AIMs (FY-Null, RB, LPL, AT3, Sb19.3, APO, PV92 e *CYP11A1\*2C*) foram então estimadas nas comunidades remanescentes de

quilombo de Barra (n=47), São Gonçalo (n=51) e Valongo (n=25) e nas populações urbanas de Jequié (n=47) e Hemosc (Hemocentro de Santa Catarina, n=25) a partir dos fenótipos determinados por PCR e PCR-RFLP. As análises estatísticas empregaram programas já descritos (GENEPOP, DISPAN, GDA, STRUCTURE, MVSP e ADMIX 2 e 3). As frequências alélicas e genotípicas diferenciam todas as comunidades remanescentes e urbanas, fato corroborado pelos valores de  $F_{ST}$  ( $p < 0,01$ ) par a par entre elas. Outros valores de  $F_{ST}$  mostram similaridades da comunidade de Barra com africanos e da amostra Hemosc com Europeus, o que é confirmado pelas estimativas do componente africano em Barra (95%) e europeu no Hemosc (83%), como também pelas análises de componente principal. Nestas últimas, o locus FY foi a variável de maior peso ('loading') sobre o primeiro componente principal e o PV92 o locus de maior peso sobre o segundo componente principal. Este método demonstrou-se particularmente adequado, pois, em ambas as análises, os dois componentes principais explicaram mais do que 95% da variância total. As estimativas dos componentes africano, europeu e ameríndio em São Gonçalo (68%, 22% e 10%) e JQ (52%, 31% e 17%) mostram que os AIMs geram estimativas de contribuição africana maiores do que as obtidas por STRs autossômicos, Y-STRs e marcadores clássicos nas mesmas populações. A estimativa do componente africano em Valongo (68%) foi menor que a obtida a partir dos marcadores clássicos. Isto poderia ser considerado como evidência da maior eficiência destes marcadores na quantificação do componente africano, uma vez que o aumento das estimativas não foi generalizado e, portanto, provavelmente não viciado. Conclui-se que os AIMs seriam mais eficientes para o cálculo da proporção relativa dos diferentes componentes formadores destas populações, pois conduziriam a estimativas mais realistas.

### MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DE GENES DE REPARO DO DNA EM CÉLULAS HUMANAS IRRADIADAS COM RAIOS GAMA SOB DIFERENTES TAXAS DE DOSE

**Igor Magela Merchi**

Orientadora: Profa. Dra. Elza Tiemi Sakamoto Hojo

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/12/2007

As radiações ionizantes (RI) são amplamente utilizadas na área médica, principalmente para diagnóstico e

terapia. Uma vez que a exposição às radiações implica em sérias complicações para a saúde humana e para o meio ambiente, torna-se relevante a compreensão dos mecanismos moleculares que coordenam as respostas em diferentes tipos celulares, especialmente em células normais.

A taxa de dose (TD) é um importante fator a ser

considerado em radiobiologia, com base em alguns estudos sobre a sua influência nas respostas celulares. Nesse contexto, duas TD distintas (0,5 e 2,0Gy/min) foram testadas para verificar a influência da TD na expressão gênica e protéica em fibroblastos e linfócitos humanos. Fibroblastos primários em estado de confluência foram irradiados com 4Gy e linfócitos com 2 Gy, sob as TDs de 0,5 e 2,0 Gy/min. Em fibroblastos, o RNA foi coletado 6 h após a irradiação, tempo em que foram analisados os níveis de expressão gênica pelo método de microarranjos de cDNA e, para alguns genes de reparo do DNA e algumas proteínas ( $\gamma$ H2AX, PCNA e FEN1) a expressão foi analisada por qPCR e Western blot, respectivamente, em ambos os tipos celulares, 2 e 6 h após a irradiação.

A análise de expressão gênica por microarranjos de cDNA efetuada pelo programa SAM revelou 94 genes (FDR < 0,05) induzidos sob a TD de 0,5 Gy/min. Os principais processos biológicos associados aos genes modulados foram metabolismo, reparo do DNA, apoptose e resposta ao estresse. Por outro lado, 34 genes foram modulados nas células irradiadas sob a taxa de dose de 2,0 Gy/min. Nesta TD, os processos biológicos de maior importância foram: metabolismo, reparo do DNA, replicação, resposta ao estresse e apoptose.

Na análise por qPCR, alguns genes de reparo (ERCC1, ERCC3 (ou XPB), XPF, XPA, FEN1) e ATM (sensor de dano) apresentaram uma ampla diferença na modulação

gênica detectada em resposta à variação na TD, principalmente nos fibroblastos analisados 2 h após a irradiação. Entretanto, essa diferença foi menor nos linfócitos. Em linfócitos houve um maior número de genes do NER reprimidos relativamente aos fibroblastos, principalmente quando se consideram as células analisadas 2 h após a irradiação, sugerindo que em linfócitos irradiados sob a menor TD, outras vias alternativas de reparo do DNA podem ter ocorrido, possivelmente para lesões do tipo quebra dupla, que são eficientemente induzidas por 2 Gy.

A análise protéica de expressão da proteína PCNA indicou que esta se mostrou reprimida nos fibroblastos irradiados com a maior TD, enquanto que a expressão de  $\gamma$ H2AX nos linfócitos diminuiu 6 h após a irradiação. A proteína PCNA apresentou potencial como um bom indicador dos efeitos de diferentes TDs em fibroblastos irradiados.

Em conjunto, os resultados do presente trabalho mostraram uma ampla variedade de processos biológicos envolvidos na resposta ao estresse gerado pela irradiação sob duas diferentes TDs em células humanas (linfócitos e fibroblastos) demonstrando que a TD realmente é capaz de influenciar as respostas celulares em nível transcricional e protéico, o que ainda não foi descrito na literatura. Assim, os resultados constituem informações relevantes que podem contribuir para o esclarecimento das respostas moleculares e vias de sinalização em células normais irradiadas.

## GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

### AVALIAÇÃO DO VOLUME ENDOMETRIAL PELA ULTRA-SONOGRAFIA TRIDIMENSIONAL EM PROCEDIMENTOS DE REPRODUÇÃO ASSISTIDA

**Wellington de Paula Martins**

Orientador: Prof. Dr. Rui Alberto Ferriani

Tese de Doutorado apresentada em 07/11/2007

**Objetivos:** Verificar se a avaliação do crescimento do endométrio durante a primeira semana após a transferência de embriões, através da ultra-sonografia tridimensional, pode detectar o processo de implantação.

**Métodos:** Vinte mulheres submetidas à transferência de embriões foram avaliadas no dia anterior e uma semana após a transferência de embriões.

**Resultados:** Nas oito pacientes grávidas um incremento significativo do volume endometrial foi observado por dois observadores (média de 1,61cm<sup>3</sup> e 1,6cm<sup>3</sup>; varian-

do entre 0,7cm<sup>3</sup> até 3,07cm<sup>3</sup> e entre 0,79cm<sup>3</sup> até 3,05cm<sup>3</sup>; observador 1 e 2 respectivamente). Nas outras doze pacientes não foi notado incremento no volume endometrial (média de -0,12cm<sup>3</sup> e -0,14cm<sup>3</sup>; variando -1,61cm<sup>3</sup> até 0,21cm<sup>3</sup> e entre -1,41cm<sup>3</sup> até 0,18cm<sup>3</sup>; observador 1 e 2 respectivamente). Considerando o incremento no volume endometrial, qualquer ponto de corte entre 0,21cm<sup>3</sup> e 0,69cm<sup>3</sup> obteve sensibilidade e especificidade de 100% quando comparado ao teste de  $\beta$ -hCG. Nenhuma diferença significativa foi observada para as medidas de espessura endometrial.

**Conclusões:** A medida do incremento do volume endometrial na primeira semana após a transferência de embriões pode ser uma ferramenta útil na detecção precoce da gravidez.

## SISTEMA INTRA-UTERINO DE LEVONORGESTREL COMPARADO A AGONISTA DO GnRH NO TRATAMENTO DA ENDOMETRIOSE: EFEITOS SOBRE O ESTADIAMENTO LAPAROSCÓPICO E ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS DO ENDOMÉTRIO EUTÓPICO E ECTÓPICO

**Mariana Kefalás Oliveira Gomes**

Orientador: Prof.Dr. Rui Alberto Ferriani

Tese de Doutorado apresentada em 21/11/2007

O objetivo desse estudo prospectivo e controlado foi avaliar a ação do SIU-LNG no endométrio eutópico e ectópico de mulheres com algia pélvica crônica e endometriose, utilizando, como controle, pacientes tratadas com agonista do GnRH (aGnRH).

**Método:** Vinte e duas mulheres entre 18 e 40 anos, com dor pélvica crônica, foram randomizadas para receber tratamento com SIU-LNG (n = 11) ou injeções mensais de aGnRH (n = 11) por 6 meses. Foi realizado “second-look” laparoscópico e o estadiamento da endometriose segundo os critérios da *American Society for Reproductive Medicine* (ASRM) foi comparado àquele da cirurgia pré-tratamento. Amostras de endométrio eutópico e ectópico obtidas pré- e pós tratamento foram analisadas por imuno-histoquímica. Modificações na expressão do marcador de apoptose Fas, receptor de progesterona tipo A (PRA) e receptor de estrogênio- $\alpha$  (ER- $\alpha$ ) foram quantificadas por *H-score* (um método microscópico quantitativo que avalia o número e a intensidade de células marcadas). Também foi quantificado o número de células marcadas pelo *proliferating cell nuclear antigen* (PCNA) (em 1000 células contadas), sendo expresso em índice de proliferação celular (IPC). A análise estatística foi realizada pelo teste bicaudal de Mann-Whitney.

**Resultados:** Quatro pacientes (1 no grupo SIU-LNG

e 3 no grupo aGnRH) foram excluídas por terem se recusado a realizar a laparoscopia de revisão. Após 6 meses de tratamento, o estadiamento reduziu em 6/10 pacientes (60%) no grupo SIU-LNG e em 3/8 pacientes no grupo aGnRH (p=0,1698). O IPC reduziu após tratamento com SIU-LNG e com aGnRH, no epitélio (EP) e estroma (ST) do endométrio eutópico e ectópico (p<0,05). Apenas as usuárias de SIU-LNG apresentaram aumento do *H-score* para Fas no EP do endométrio eutópico e do ectópico (p<0,05). No ST, não houve modificação. A expressão de ER- $\alpha$  e PRA pelo EP glandular foi menor no endométrio eutópico após ambos os tratamentos, mas no EP glandular do endométrio ectópico houve redução apenas após o uso de SIU-LNG (p<0,05). No ST, observou-se menor expressão de ER- $\alpha$  no endométrio eutópico e ectópico das usuárias de SIU-LNG e somente no endométrio eutópico das pacientes tratadas com aGnRH (p<0,05). Houve menor expressão de PRA no ST do endométrio eutópico e ectópico apenas nas usuárias de SIU-LNG (p<0,05). Para todos os marcadores avaliados, nenhuma diferença foi encontrada entre os grupos.

**Conclusões:** Ambos os tratamentos apresentaram tendência a reduzir a extensão das lesões endometrióticas em pacientes com algia pélvica crônica. De maneira semelhante ao aGnRH, o SIU-LNG reduziu a proliferação celular, a expressão de PRA e ER- $\alpha$  e aumentou a apoptose no endométrio eutópico e ectópico de pacientes com endometriose. Este mecanismo possivelmente explica a ação do SIU-LNG na redução da algia pélvica.

## PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM GESTANTES INFECTADAS OU NÃO PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV) TIPO 1 EM RIBEIRÃO PRETO, SP

**Emília Moreira Jalil**

Orientadora: Profa. Dra. Silvana Maria Quintana

Dissertação de Mestrado apresentada em 03/12/2007

A infecção genital pelo Papilomavírus Humano (HPV) é considerada a doença sexualmente transmissível mais frequente em todo o mundo, representando importante problema de saúde pública devido à sua alta prevalência e transmissibilidade. Estima-se que cerca de 75% da população sexualmente ativa entre em contato com um ou mais tipos de HPV durante sua vida, com prevalência mais elevada entre mulheres jovens. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) está associada a elevadas prevalências da infecção pelo HPV. A literatura acerca da infecção pelo

HPV em gestantes é escassa e controversa. O objetivo do trabalho foi identificar a prevalência da infecção pelo HPV em gestantes e identificar a possível influência da infecção pelo HIV-1 nesta prevalência. Foi realizada amostragem de pacientes do Ambulatório de Pré-natal do Setor de Moléstias Infecto-contagiosas e do Pré-natal de Baixo Risco do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Todas as pacientes foram informadas sobre o estudo e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram coletados lavados cervicovaginais, que foram submetidos à extração do DNA utilizando a técnica de *salting out*. Realizou-se a detecção do HPV nas amostras de DNA através da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR), e as amostras positivas para o

HPV foram testadas para os tipos 6, 11, 16 e 18. Foram arroladas ao todo 97 pacientes, sendo 44 portadoras do HIV e 53 sem esta infecção. Do total de pacientes avaliadas, 66 foram positivas para o HPV. A prevalência para a infecção pelo HPV foi de 79,5% e 58,5% nas pacientes portadoras ou não do HIV, respectivamente. A infecção pelo HIV aumentou o risco de ser portadora do HPV, principalmente do tipo

oncogênico. Contagem de linfócitos T CD<sub>4</sub>+ abaixo de 200 células/mm<sup>3</sup> e carga viral do HIV maior que 10000 cópias aumentaram o risco de infecção pelo HPV. Este estudo mostrou haver maior prevalência da infecção pelo HPV em grávidas portadoras do HIV, permitindo inferir que a infecção por esse retrovírus seja um fator de risco significativo para o aumento da infecção pelo HPV em gestantes.

### **AVALIAÇÃO DE MARCADORES DE PROLIFERAÇÃO CELULAR E APOPTOSE EM TECIDO ENDOMETRIAL EUTÓPICO E ECTÓPICO EM MODELO EXPERIMENTAL DE ENDOMETRIOSE EM COELHAS**

**Júlio César Rosa e Silva**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Alberto Nogueira  
Tese de Doutorado apresentada em 10/12/2007

**Objetivo:** Caracterizar o padrão de homeostase (proliferação celular e apoptose) de tecido endometrial eutópico e ectópico de coelhas submetidas à indução de lesões de endometriose por modelo experimental já conhecido, quatro e oito semanas após o procedimento de implantação endometrial.

**Material e Métodos:** Estudo experimental animal sendo utilizado 20 coelhas adultas Nova Zelândia, fêmeas e virgens, submetidas à laparotomia para indução da lesão de endometriose, através da ressecção de um corno uterino e fixação no peritônio pélvico de fragmento de 5mm. As coelhas foram divididas em dois grupos de 10 animais, sendo os animais do grupo 1, sacrificados após 4 semanas da indução da lesão endometrial ectópica e os do grupo 2 após 8 semanas. A lesão foi excisada para análise histológica juntamente com o corno uterino contralateral, comprovando a presença de tecido endometrial glandular e estromal. Reações de imunohistoquímica foram realizadas, no tecido endometrial eutópico e ectópico, para proliferação celular através do PCNA e para apoptose através do *fas*, na glân-

dula e estroma, sendo obtido o índice de proliferação celular (IPC) e de apoptose (IA) através do número de células marcadas por 1000 contadas, e o índice de homeostase tecidual através do coeficiente entre o IPC e IA.

**Resultados:** Observou-se maior índice de proliferação no tecido ectópico, tanto glandular como estromal, quando comparado com o endométrio eutópico, com 4 e 8 semanas após a indução da lesão. Contudo, quando as lesões ectópicas foram comparadas entre si, com 4 e 8 semanas, não foi observada diferença significativa. Quando comparamos o índice de apoptose, observamos que não houve diferença entre o tecido ectópico e o eutópico, tanto glandular como estromal nas lesões induzidas e analisadas com 4 semanas, porém no tecido glandular das lesões analisadas com 8 semanas houve diferença significativa entre a lesão ectópica e o tecido endometrial eutópico  $0,0819 \pm 0,0213$  e  $0,0995 \pm 0,01336$ , respectivamente ( $p=0,04$ ). A homeostase tecidual foi calculada e observou-se uma tendência destes tecidos a proliferação, sempre com índices de homeostase tecidual (IPC/IA) acima de 1.

**Conclusão:** As lesões ectópicas parecem ter uma proliferação celular maior que o endométrio eutópico levando a uma tendência ao crescimento tecidual descontrolado nas lesões de endometriose induzidas.

### **REPRODUTIBILIDADE DA AVALIAÇÃO ULTRA-SONOGRÁFICA BI E TRIDIMENSIONAL DA ESPESSURA DO SEGMENTO UTERINO INFERIOR EM GESTANTES COM CESÁREA PRÉVIA**

**Daniela de Abreu Barra**

Orientador: Prof. Dr. Francisco Mauad Filho  
Dissertação de Mestrado apresentada em 12/12/2007

**Objetivos:** Comparar a reprodutibilidade intra e inter-observador da medida do segmento uterino inferior (SUI) em gestantes com cesárea prévia, próximas do termo da gestação utilizando ultra-sonografia bi (US 2D) e tridimensional (US 3D).

**Métodos:** Trinta gestantes com pelo menos uma cesárea anterior entre 36 e 39 semanas de gestação única, em

apresentação cefálica foram avaliadas. Os exames ultrasonográficos foram realizados por dois observadores usando transdutores volumétricos de 4-7MHz (abdominal) e de 5-8MHz (vaginal). As medidas do SUI foram feitas de 8 diferentes formas, 4 usando US 2D e 4 usando US 3D. Essas 4 formas foram as medidas da espessura total e da camada muscular do SUI por abordagens vaginal e abdominal. Cada observador mediu o SUI 4 vezes usando cada método. A reprodutibilidade foi avaliada pela comparação da média das diferenças absolutas das medidas (DA), do coeficiente de correlação intra-classe (ICC), do limites de

concordância de 95% (LC) e da proporção de diferenças de medidas menores que 1 mm (PD).

**Resultados:** A variação da espessura média do SUI por via abdominal bidimensional foi de 3,5 a 7,4mm e vaginal 2,7 a 5,9mm e tridimensional foi 3,7 a 7mm abdominal e 2,3 a 5,3mm vaginal. Reprodutibilidade intra e inter-observador da via abdominal *versus* vaginal: menor DA ( $p<0,0001$ ), maior PD ( $p<0,0001$ ), maior ICC ( $>0,83$ ) e LC menores para via vaginal. Medida da espessura total *ver-*

*sus* muscular: menor DA ( $p<0,0003$ ), maior PD ( $p<0,04$ ) e menor LC para espessura muscular e maior ICC ( $>0,69$ ) para total. US 2D *versus* US 3D: menor DA ( $p$  NS), maior PD ( $p$  NS) e menor LC para US 3D e maior ICC ( $>0,69$ ) para US 2D.

**Conclusão:** A avaliação ultra-sonográfica do SUI é mais reprodutível quando a camada muscular é medida por via vaginal. O uso da ultra-sonografia tridimensional melhora a reprodutibilidade da medida da espessura do SUI.

## FARMACOCINÉTICA E ANÁLISE DA TRANSFERÊNCIA PLACENTÁRIA DA METFORMINA EM GESTANTES COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS

### Cláudia de Oliveira Baraldi

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Carvalho Cavalli  
Dissertação de Mestrado apresentada em 13/12/2007

A Síndrome dos Ovários Policísticos (SOP) é a endocrinopatia ginecológica mais freqüente no menacne, com prevalência variando entre 3 e 17%. A metformina pertence ao grupo das biguanidas, uma classe de drogas antidiabéticas orais e tem sido utilizada com freqüência no tratamento de pacientes com SOP com obtenção de benefícios relevantes.

O uso de metformina durante toda a gestação, por gestantes com SOP, reduz significativamente o número de abortos espontâneos de primeiro trimestre, a taxa de ocorrência de diabetes gestacional e de síndromes hipertensivas. O objetivo deste trabalho foi investigar a farmacocinética e a análise da transferência placentária da metformina em gestantes com síndrome dos ovários policísticos.

Foram avaliadas nove gestantes com SOP, em uso de metformina 850mg via oral de 12/12 horas e foram submetidas à avaliação da concentração plasmática por um período de oito horas no terceiro trimestre da gestação e submetidas a avaliação no momento do parto.

Foram coletadas amostras sanguíneas maternas nos tempos 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 420 e 480 minutos e amostras de sangue materno e do cordão umbili-

cal no momento do parto para determinação das concentrações de metformina por cromatografia. Determinadas as concentrações, foram traçadas as curvas de concentração em função do tempo e análise farmacocinética monocompartimental por intervalo de dose para a metformina, determinando-se  $t^{1/2}$ ,  $t_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $AUC^{0-12}$ ,  $C_{média}$ , Flutuação,  $Cl/f$  e  $Vd/f$ . Com base nas concentrações maternas e fetais no momento do nascimento, foi determinada a relação feto/materna desse fármaco.

Os parâmetros farmacocinéticos encontrados foram: mediana do  $t^{1/2}$  foi de 4,1 h e da  $t_{max}$  foi de 2,66 h. A mediana da  $C_{max}$  foi de 1,17  $\mu\text{g/mL}$  e da  $C_{média}$  de 0,51  $\mu\text{g/mL}$ . A mediana da  $AUC^{0-12}$  foi de 6,15  $\mu\text{g.h/mL}$ , do  $Cl/f$  foi de 138,12 L/h, do  $Vd/f$  foi de 755,82 L e da flutuação de 140,01%. No momento do parto, a concentração plasmática materna foi de 0,37  $\mu\text{g/mL}$  e a fetal de 0,33  $\mu\text{g/mL}$ , com relação feto/materna mediana de 0,74. O  $C_{max}$  da metformina apresentou diminuição em relação a pacientes não gestantes, provavelmente em função do aumento do volume de distribuição e aumento da excreção renal decorrentes da gestação. Estes dados nos levam a atentar para a possível necessidade de aumento de dose durante a gestação.

O estudo evidenciou transferência placentária da metformina de aproximadamente 75%, alertando para a elevada transferência deste fármaco através da barreira placentária.

## O EFEITO DO SISTEMA INTRA-UTERINO DE LEVONORGESTREL (SIU-LNG) NO FLUXO DAS ARTÉRIAS UTERINAS, VOLUME UTERINO E ESPESSURA ENDOMETRIAL EM PACIENTES COM ENDOMETRIOSE PÉLVICA: ESTUDO COMPARATIVO COM O ANÁLOGO DE GnRH

### Luíz Alberto Manetta

Orientador: Prof Dr Rui Alberto Ferriani  
Tese de Doutorado apresentada em 13/12/2007

**Objetivos:** O objetivo deste estudo foi comparar os índices de Pulsatilidade (IP) e Resistência (IR) das artérias

uterinas, volume uterino e espessura endometrial após o uso de Sistema Intra-uterino de Levonorgestrel (SIU-LNG) ou agonistas do GnRH (GnRH $\alpha$ ) em pacientes portadoras de endometriose pélvica.

**Pacientes e métodos:** Setenta e nove mulheres voluntárias, com idade entre 18 e 40 anos, foram incluídas

neste ensaio clínico comparativo, prospectivo, randomizado e controlado. Dezoito foram excluídas baseadas nos critérios de exclusão, As 61 pacientes remanescentes foram divididas em dois grupos: 31 pacientes fizeram parte do grupo SIU-LNG (uma foi excluída antes da inserção por apresentar-se grávida) e 30 fizeram parte do grupo GnRHa. Foram submetidas a exame ultra-sonográfico transvaginal bidimensional no dia em que iniciaram o tratamento (inserção do SIU-LNG ou administração de uma ampola de 3,75 mg de GnRHa intra-muscular) e seis meses após a inserção, avaliando a espessura endometrial, volume uterino e IR e IP das artérias uterinas.

**Resultados:** Ambos tratamentos promoveram redução da espessura endometrial ( $6.08 \pm 3.00$  mm para  $2.70 \pm 0.98$  mm e  $6.96 \pm 3.82$  mm para  $3.23 \pm 2.32$  mm - média  $\pm$  SD, grupo SIU-LNG e grupo GnRHa, respectivamente). O volume uterino teve redução no grupo usuário do GnRHa ( $86.67 \pm 28.38$  cm<sup>3</sup> para  $55.27 \pm 25.52$  cm<sup>3</sup>) mas não teve alteração significativa nas usuárias do SIU-LNG ( $75.77 \pm 20.88$  cm<sup>3</sup> para  $75.97 \pm 26.62$  cm<sup>3</sup>). Em relação à vascularização uterina, notamos incremento dos IP das artérias uterinas em ambos

os grupos (grupo SIU-LNG: artéria uterina direita de  $2.38 \pm 0.72$  para  $2.76 \pm 0.99$  (média  $\pm$  SD) e artéria uterina esquerda  $2.46 \pm 0.70$  para  $2.87 \pm 0.96$ , e grupo GnRHa: artéria uterina direita  $2.04 \pm 0.59$  para  $3.12 \pm 0.98$  e artéria uterina esquerda  $2.24 \pm 0.59$  para  $3.15 \pm 0.89$ ). Em relação ao IR das artérias uterinas, observamos incremento no grupo GnRHa em ambas artérias e somente na artéria uterina esquerda no grupo SIU-LNG (grupo SIU-LNG - artéria uterina direita de  $0.85 \pm 0.08$  para  $0.88 \pm 0.07$  e artéria uterina esquerda de  $0.86 \pm 0.07$  para  $0.89 \pm 0.06$ , e grupo GnRHa: artéria uterina direita de  $0.81 \pm 0.07$  para  $0.93 \pm 0.09$  e artéria uterina esquerda  $0.84 \pm 0.06$  para  $0.93 \pm 0.09$ ). No entanto, ao compararmos as diferenças, a elevação foi significativamente maior nas usuárias do GnRHa.

**Conclusões:** Ambos GnRHa e SIU-LNG promoveram redução na espessura endometrial e aumento no IP das artérias uterinas. O volume uterino reduziu nas usuárias do grupo GnRHa, mas não se alterou no grupo SIU-LNG. Em relação ao IR, houve incremento em ambas as artérias nas usuárias de GnRHa e somente na artéria uterina esquerda nas usuárias do SIU-LNG.

## USO DO ANÁLOGO DO GnRH PARA DIAGNÓSTICO DE PUBERDADE PRECOCE

**Flávia Raquel Rosa Junqueira**

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Maria dos Reis

Dissertação de Mestrado apresentada em 17/12/2007

**Introdução:** A puberdade precoce verdadeira ou dependente de GnRH apresenta importante morbidade: a baixa estatura, conseqüência da rápida progressão da idade óssea, além das seqüelas psico-emocionais do desenvolvimento sexual secundário precoce. Daí a importância da realização de um diagnóstico precoce e preciso, a fim de que a terapêutica adequada seja instituída o quanto antes. O uso do análogo do GnRH (aGnRH) em teste diagnóstico vem sendo utilizado com este objetivo. Neste estudo avaliou-se os valores de corte para o diagnóstico de puberdade precoce verdadeira, usando-se o teste do aGnRH.

**Material e métodos:** Estudo prospectivo, com 44 meninas, com desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários antes dos 8 anos de idade, atendidas no Ambulatório de Ginecologia Infanto-Puberal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Realizou-se, em todos os casos, o teste do aGnRH, que consistiu na coleta de amostra sanguínea basal para dosagem de FSH e LH, seguida da aplicação subcutânea de 500 µg de acetato de leuprolida (Lupron®). Novas amostras sanguíneas foram realizadas após 3 horas, para dosagem de FSH e LH, e após 24 horas da aplicação, para dosagem de estradiol

Compararam-se os níveis de LH e FSH basais, de 3 horas e a relação LH/FSH obtida, além do estradiol de 24h, com a evolução clínica das pacientes. Este foi o padrão ouro utilizado para análise do teste, sendo que, após 6 meses, as pacientes foram divididas em 2 grupos: puberdade progressiva (puberdade precoce verdadeira) e não-progressiva. Para análise estatística, utilizou-se curvas ROC, estabelecendo-se sensibilidade, especificidade e melhor nível de corte para o diagnóstico de puberdade precoce verdadeira, para os diferentes critérios analisados. Além disso, avaliou-se a concordância entre os diversos tipos de análise do teste, através do coeficiente kappa.

**Resultados:** O LH de 3 horas apresentou valor de corte  $> 4,5$  mUI/mL, sensibilidade 59,1% e especificidade 86,4%, com área sobre a curva de 0,723. O valor de kappa foi de 0,45, com concordância de 0,73. O estradiol de 24 horas apresentou valor de corte  $> 40,6$  pg/mL, sensibilidade 70% e especificidade 73,7%, com área sobre a curva de 0,703. O valor de kappa foi de 0,436, com concordância de 0,718. Dentre todos os critérios analisados, o melhor deles foi a relação LH/FSH de 3 horas, com valor de corte  $> 0,14$ , sensibilidade 72,7% e especificidade 77,3%, com área sobre a curva de 0,771. O valor de kappa foi de 0,5, com concordância de 0,75.

**Conclusões:** Em nossa avaliação, a relação LH/FSH de 3 horas foi superior ao valor de LH de 3 horas ou estradiol de 24 horas, que haviam sido os melhores critérios diagnósticos no trabalho pioneiro na utilização deste teste.

**IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA****DA ATIVAÇÃO DE NEUTRÓFILOS PELA LECTINA MNCF DECORREM TRANSCRIÇÃO GÊNICA E SECREÇÃO DE MEDIADORES SUSTENTADAS EM AMBIENTE ANTI-INFLAMATÓRIO****Karina Alves de Toledo**

Orientadoras: Profas. Dras. Maria Cristina Roque Barreira e Lise Halbwachs-Mecarelli

Tese de Doutorado apresentada em 21/12/2007

O acúmulo focal de leucócitos, próprio da inflamação, é desencadeado por uma ampla gama de mediadores, de origens variadas. A migração das células ocorre em múltiplas etapas coordenadas e pode ser inibido por glicocorticóide, que exerce efeitos reguladores negativos – sobre a síntese/ou liberação de moléculas pró-inflamatórias e de adesão – e positivos – sobre a expressão de anexina-1, proteína de ação anti-inflamatória. Temos estudado o efeito indutor de migração de neutrófilos exercido por MNCF (macrophage derived neutrophil chemotactic factor), que é uma lectina ligante de galactosídeos, dotada da propriedade de recrutar neutrófilos mesmo em condição anti-inflamatória, gerada pelo tratamento com dexametasona. Essa atividade peculiar pode ter repercussões relevantes no desenho de estratégias terapêuticas para frear a inflamação quando ela causa lesão tissular. Isso justifica o especial interesse na compreensão dos mecanismos de ação de MNCF sobre neutrófilos humanos. Nesse contexto, demonstramos anteriormente que a interação de MNCF com componentes da matriz extracelular pode contribuir para que a ação desse agente supere o efeito anti-inflamatório da dexametasona (Toledo et al 2007). Neste trabalho, nosso objetivo é identificar as respostas de ativação dos neutrófilos determinadas por MNCF, de maneira a identificar diferenças entre essas respostas e as desencadeadas por atraentes cujas ações sejam sensíveis ao efeito anti-inflamatório da dexametasona. Ensaio *in vitro* demonstraram que MNCF, a partir de ligação à superfície celular, induz a migração de neutrófilos humanos, tanto normais como pré-incubados com dexametasona. Ao atuar sobre neutrófilos nor-

mais, MNCF induziu respostas qualitativamente muito similares às induzidas por outro atraente, quais sejam: (a) fosforilação de tirosino-quinases e de p38 MAP; (b) *shedding* de L-selectina; (c) desgranulação de grânulos secundários e vesículas secretórias, mas não de grânulos azurofílicos; (d) resistência à apoptose espontânea; (e) translocação nuclear do fator de transcrição NF-kB; (f) transcrição gênica e secreção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias; (g) polarização celular. Os neutrófilos estimulados com MNCF – em comparação aos estimulados com outro atraente (CXCL-8) – polarizaram mais tardiamente e apresentaram níveis superiores de transcrição de genes de mediadores inflamatórios. Quando neutrófilos pré-tratados com dexametasona foram estimulados, os níveis de transcrição gênica de mediadores inflamatórios foram mantidos frente a MNCF e inibidos frente a CXCL8. Dentre os mediadores que tiveram o gene transcrito em níveis altos inclui-se a própria CXCL8, cuja expressão protéica foi também avaliada. Neutrófilos – pré-tratados ou não com dexametasona – estimulados com MNCF secretaram altos níveis de CXCL-8 no sobrenadante. Já, frente a outros estímulos, neutrófilos pré-tratados com dexametasona tiveram a secreção de CXCL8 fortemente inibida. Nossos resultados indicam que os mecanismos envolvidos no fato da inflamação aguda desencadeada por MNCF ser resistente ao efeito de glicocorticóide incluam a capacidade dessa lectina de induzir altos níveis de produção de mediadores inflamatórios, manifesta mesmo em neutrófilos pré-tratados com dexametasona. Nosso estudo está em consonância com os avanços feitos nos últimos dez anos no campo de investigações sobre neutrófilos, que atribuem a essas células funções mais complexas do que a ingestão e eliminação de microorganismos, com destaque para a sua capacidade de transcrever genes e expressar produtos que estão intimamente ligados às respostas inflamatória e imunitária.

**NEUROLOGIA****ANÁLISE COMPARATIVA DOS CUSTOS DIRETOS ENTRE GRUPOS DE PACIENTES COM EPILEPSIA MESIAL DO LOBO TEMPORAL OPERADOS E NÃO OPERADOS****Otávio Inácio de Faria**

Orientador: Prof. Dr. Américo Ceiki Sakamoto

Dissertação de Mestrado apresentada em 10/10/2007

A carga econômica da epilepsia tem recebido considerável atenção em relação ao paciente e a sociedade. O crescente gasto com a saúde e as demandas competido por

recursos vem ditando a necessidade por avaliações econômicas e provas de eficiência que justifiquem o suporte as opções de tratamentos. Um ponto interessante a ser explorado é o impacto da cirurgia de epilepsia nos custos econômicos dos pacientes com epilepsia refratária. Até o presente momento os aspectos econômicos da epilepsia no Brasil não foram publicados. O objetivo desta pesquisa é avaliar os custos diretos de um grupo de pacientes com epilepsia do lobo temporal (ELT) farmacorresistente antes e após a lobectomia temporal, assim como avaliar o custo direto para pacientes sem cirurgia.

**Métodos:** Neste estudo retrospectivo, um grupo de 57 pacientes com ELT, que foram submetidos à cirurgia para o tratamento da epilepsia e 20 pacientes com ELT, que não aceitaram o tratamento cirúrgico, foram avaliados durante

quatro anos neste estudo retrospectivo.

**Resultados:** Os custos foram de R\$ 16.854,23 (USD 8.512,24) no período pré-cirúrgico, e foram reduzidos para R\$ 1.845,95 (USD 932,30) após a cirurgia ( $p < 0,001$ ). O custo para pacientes que não aceitaram a cirurgia foi de R\$ 1.875,01 (USD 946,97) nos primeiros dois anos, diminuindo para R\$ 1.329,26 (USD 671,34) no segundo período bianual ( $p = 0,009$ ).

**Discussão:** No final do segundo ano pós-operatório os custos dos pacientes operados foram semelhantes aos daqueles que continuaram apenas com tratamento clínico, o que aponta um nivelamento nos custos entre os dois grupos.

**Conclusão:** Os custos diretos da epilepsia em um hospital brasileiro diminuíram após o tratamento cirúrgico bem sucedido da epilepsia.

### CORRELATOS SEMIOLÓGICOS E PERFUSIONAIS DE PACIENTES COM EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL (ELT) COM BASE NA NEUROETOLOGIA E *SPECT* CRÍTICOS

**Poliana Bertti**

Orientador: Prof. Dr. Norberto Garcia-Cairasco

Dissertação de Mestrado apresentada em 22/10/2007

Epilepsia do lobo temporal (ELT) é a síndrome epiléptica mais comum na população. Aproximadamente metade dos pacientes com ELT são farmacorresistentes. O tratamento cirúrgico destes pacientes leva a 60 a 80% de remissão das crises e 10 a 20% de melhora significativa. Ferramentas importantes para o estudo e o diagnóstico das epilepsias são Semiologia e Neuroimagem Funcional.

**Objetivos:** O objetivo deste trabalho foi correlacionar as expressões comportamentais ictais aos achados perfusionais durante crises de ELT utilizando a Neuroetologia e a Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único (*SPECT*) respectivamente.

**Métodos:** Análise comportamental individual foi desenvolvida em 28 crises de 28 pacientes com ELT com esclerose hipocampal unilateral (13 pacientes apresentavam ELT à esquerda e 15 à direita), previamente à lobectomia temporal; Engel I, sem patologia dual e apresentando apenas descargas eletrencefalográficas unilaterais e ipsilaterais. Todos eles apresentavam imagens de *SPECT* ictal e interictal. Registros de vídeo-EEG foram realizados no Centro de Cirurgia em Epilepsia da nossa instituição. Os vídeos foram digitalizados e os comportamentos ictais anotados segundo-a-segundo. Os dados foram analisados utilizando o programa *ETHOMATIC* e apresentados em fluxogramas incluindo frequência, duração média, e interação sequencial entre comportamentos. As imagens de *SPECT* ictal foram analisadas por dois especialistas, cegos a qualquer informação neuroetológica. A perfusão cerebral foi visualmente classificada de -3 (hipoperfusão intensa) a +3 (hiperperfusão intensa). A correlação Neuroetologia-per-

fusão foi feita entre as seqüências comportamentais e as áreas cerebrais ativadas no *SPECT* ictal. Em seguida, os comportamentos foram categorizados pela presença ou ausência e também pela presença ipsilateral, contralateral ou bilateral. As áreas cerebrais foram categorizadas pelo estado perfusional (hiperperfusão ou perfusão normal/ hipoperfusão) e pelo local da alteração perfusional (ipsilateral ou contralateral ao foco da crise).

**Resultados:** Correlações entre as expressões comportamentais ictais, lado do lobo temporal, e a ativação de estruturas corticais e subcorticais foram encontradas. Todos os pacientes desenvolveram automatismos e tiveram hiperperfusão nos lobos temporais. Além disso, quase todos aqueles que apresentaram postura distônica contralateral (PD) tiveram hiperperfusão dos núcleos basais ipsilaterais ao foco da crise. Interessantemente, a ativação dos núcleos basais também ocorreu em crises sem PD, mas nestes casos associadas a automatismos manuais contralaterais. Um outro achado marcante foi que poucos pacientes desenvolveram desvio cefálico contralateral, e a maioria desses pacientes teve hiperperfusão insular ipsilateral, dado não descrito na literatura. Também foi encontrada estatística significativa para a ausência de postura distônica ipsilateral e presença de hiperperfusão no hemisfério cerebelar contralateral.

**Conclusão:** A correlação entre os dados de Neuroetologia e *SPECT* ictal surge como uma nova ferramenta para analisar os substratos neurobiológicos das ELT, especialmente quando a seqüência de ocorrência dos comportamentos é avaliada em crises individuais. Este trabalho é importante para salientar o valor da combinação de vários métodos diagnósticos no estudo clínico das ELT. Terá impacto futuro ao considerarmos, por exemplo, o EEG nas epilepsias e estudos de semiologia e imagem em outras patologias cerebrais.



## ESTUDO CONTROLADO PARA DIAGNÓSTICO DE COMUNICAÇÃO VENOSA ARTERIAL EM PACIENTES JOVENS COM AVCI OU AIT - DETECÇÃO PELO DOPPLER TRANSCRANIANO

**Soraia Ramos Cabete Fábio**

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui

Tese de Doutorado apresentada em 22/10/2007

**Objetivos do estudo:** demonstrar que o Doppler Transcraniano com injeção de micro-bolhas (DTC-MB) tem alta sensibilidade na detecção de Comunicação Venosa Arterial (CVA), quando comparado ao Ecocardiograma, podendo ser incluído com segurança nos exames de investigação etiológica de pacientes jovens com AVCI/AIT; demonstrar que a CVA predomina em grupo de pacientes jovens com AVCI ou AIT, quando comparado com um grupo controle de indivíduos saudáveis; demonstrar que a CVA predomina no grupo de pacientes jovens com AVCI ou AIT de Etiologia Indeterminada, quando comparado com o grupo de pacientes com Etiologia Determinada.

**Método:** Foi realizado Doppler Transcraniano, com

técnica de monitorização do fluxo sanguíneo cerebral em Artéria Cerebral Média e injeção de micro-bolhas com solução salina agitada para detecção de CVA em 71 pacientes com AVCI ou AIT e em 48 indivíduos voluntários saudáveis, com idade entre 18 e 50 anos.

**Resultado:** foi demonstrado prevalência de 46,5% de CVA nos pacientes e 20,8% do grupo controle; 73,1% de prevalência de CVA no grupo de pacientes com AVCI ou AIT de etiologia indeterminada, contra 31,1% entre os casos de etiologia determinada. O DTC-MB apresentou 100% de sensibilidade e 53,9% de especificidade quando comparado ao Ecocardiograma na detecção de CVA.

**Conclusões:** o DTC-MB caracteriza-se em exame sensível na investigação de pacientes com AVCI ou AIT com idade inferior a 50 anos, podendo ser incluído no arsenal básico de investigação da etiologia do AVC, principalmente entre aqueles em que a etiologia permaneça indeterminada.

## BASES NEUROMORFOLÓGICAS E PSICOFARMACOLÓGICAS DA AÇÃO DOS FÁRMACOS CLOMIPRAMINA E FLUOXETINA EM UM CONFRONTO AGRESSIVO ENTRE MESOCRICETUS AURATUS E CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS

**Walter Adriano Ubiali**

Orientador: Prof. Dr. Norberto Cysne Coimbra

Tese de Doutorado apresentada em 22/10/2007

O objetivo do presente trabalho foi estudar as bases neurais da ação de drogas inibidoras da recaptção de noradrenalina e de serotonina sobre o comportamento de defesa evocado em um novo modelo experimental de agorafobia, medo e pânico baseado em um confronto entre presa (*Mesocricetus auratus*; *Rodentia*, *Cricetidae*) e predador (*Crotalus durissus terrificus*; *Reptilia*, *Viperidae*) em livre movimentação em um campo aberto formado por uma arena poligonal com paredes revestidas com película espelhada, para causar uma ilusão óptica de amplitude. Foram utilizados animais cronicamente tratados (21 dias) com

fluoxetina (inibidor seletivo de recaptção de serotonina) ou clomipramina (inibidor não seletivo de recaptção de serotonina e noradrenalina) e submetidos no vigésimo primeiro dia, 15 min após a última injeção, ao confronto inescapável com serpentes.

As drogas causaram um claro efeito antipânico, diminuindo a elaboração de comportamentos defensivos, como alerta e congelamento, e aumentando as respostas comportamentais não defensivas, como autolimpeza e repouso, os quais foram evocados quase que invariavelmente nas proximidades do predador, o que sugere comportamento destemido. Esse efeito antiaversivo das drogas clomipramina e fluoxetina foi corroborado pela diminuição da expressão de c-Fos em estruturas límbicas e paralímbicas, envolvidas com a organização do comportamento defensivo.

## ESTUDO DOS EFEITOS DO PRECONDICIONAMENTO ATRAVÉS DE CRISES EPILÉPTICAS DE CURTA DURAÇÃO NA EPILEPSIA INDUZIDA EM UM MODELO DE *Status epilepticus* (SE)

**Graziela Lima Bachiega**

Orientador: Prof. Dr. João Pereira Leite

Dissertação de Mestrado apresentada em 31/10/2007

A Epilepsia do Lobo temporal (ELT), a forma mais freqüente de epilepsia em adultos, está associada à Esclerose Hipocampal (EH), e ao brotamento anormal das fibras

musgosas na camada molecular interna da *fascia dentata* (BFM). Estudos sugerem que a EH e BFM têm um papel crítico na gênese e progressão da ELT. Estudos recentes têm demonstrado que a aplicação de estímulos estressantes, em baixa intensidade, pode conferir proteção neuronal a um estímulo subsequente, de maior intensidade. Esta condição, denominada condicionamento, pode ser observa-

da em modelos animais submetidos à isquemia, hipóxia e crises epiléticas, de intensidade moderada. Embora alguns mecanismos envolvidos na neuroproteção tenham sido apontados, as repercussões a longo prazo e a contribuição deste para o desenvolvimento de epilepsia crônica ainda não estão bem estabelecidos.

**Objetivos:** verificar se o condicionamento, induzido por crises epiléticas curtas, protege regiões vulneráveis do hipocampo dos efeitos do *status epilepticus* (*SE*) e seu efeito no desenvolvimento e progressão do *SE* e da ELT.

**Material e método:** Ratos wistar machos (Peso=200-250g) foram submetidos, por 2 dias consecutivos, a crises epiléticas de curta duração (20 min) induzidas através de PTZ (20 mg/kg i.p. seguido por 15 mg/Kg a cada 10 min) seguido 44 h após por um *SE* induzido através de Lítio-pilocarpina (127,17mg/Kg i.p./30mg/kg s.c.) com duração de 4 h. O grupo controle foi submetido apenas ao *SE*. Os animais foram sacrificados 24 h, 7 dias e 2 meses após o *SE* e seus cérebros foram processados através das colorações de Violeta de Cresil, Fluoro-Jade-B e Neo-Timm, para detectar morte neuronal, degeneração neuronal e reorganização sináptica respectivamente. Adicionalmente, no grupo de 2 meses foi feita a avaliação das crises recorrentes espontâneas (CREs).

**Resultados:** A latência e severidade do *SE* foram semelhantes entre o grupo submetido ao condiciona-

mento e o grupo controle. Porém no grupo submetido ao condicionamento, uma menor porcentagem de ratos entrou em *SE* e uma maior porcentagem apresentou remissão espontânea do *SE*, quando comparada ao grupo controle. A porcentagem de animais que apresentou CREs, no grupo submetido ao condicionamento, foi semelhante à do grupo controle; a latência e o número de CREs do grupo submetido ao condicionamento não diferiram do grupo controle. A técnica de Violeta de Cresil evidenciou, no grupo sobrevida de 24 h, menor perda neuronal, nas regiões CA3a e CA1, nos animais submetidos ao condicionamento que no grupo controle, porém, nos grupos com sobrevida 7 dias e 2 meses, a densidade neuronal foi semelhante entre estes grupos. O grupo submetido ao condicionamento apresentou uma quantidade de células em degeneração semelhante ao grupo controle, nos 3 intervalos de sobrevida estudados. A intensidade de brotamento de colaterais axônicas, no grupo submetido ao condicionamento, foi similar à do grupo controle. Não houve associação entre brotamento de colaterais axônica e perda neuronal com o número ou a latência para CREs.

**Conclusão:** O condicionamento utilizado neste estudo pode apenas ter adiado e não evitado a morte neuronal; a perda neuronal e o brotamento de colaterais axônicas não estão diretamente relacionados com a gênese e progressão das CREs.

## ESTUDOS COMPORTAMENTAIS E BIOQUÍMICOS EM CAMUNDONGOS GENETICAMENTE MODIFICADOS PARA A PROTEÍNA PRÍON CELULAR

**Bruno Lobão Soares**

Orientador: Prof. Dr. Roger Walz

Tese de Doutorado apresentada em 08/11/2007

A Proteína príon celular (PrPC) é uma sialoglicoproteína ancorada à superfície celular, cuja forma patológica transmissível (PrP<sup>sc</sup>, de seqüência de aminoácidos idêntica, mas diferente na estrutura secundária) está ligada a doenças priônicas transmissíveis, como as encefalopatias espongiiformes (Creutzfeldt-Jakob, scrapie, “doença da vaca louca”). A PrPC é transcrita por um gene específico, o Prnp. A fim de entender aspectos patológicos das doenças priônicas, é necessário formar uma base sólida de conhecimentos sobre o papel fisiológico e fisiopatológico da isoforma celular, que é normalmente expressa no tecido nervoso de espécies vertebradas.

Os camundongos geneticamente modificados que não expressam a PrPC foram gerados há uma década atrás, e representaram um importante avanço no estudo das funções da proteína priônica. Estes animais foram descritos por apresentar modificações comportamentais no que concerne à susceptibilidade às crises epileptiformes, alterações no ciclo circadiano, formação de memórias, e apresentam um maior índice de estresse oxidativo cerebral e uma menor tendência

à comportamentos relacionados à ansiedade após serem submetidos a estímulos estressores.

Neste trabalho, em comparações com camundongos controles da cepa selvagem (WT) de mesma origem genética, foram testados animais nocautes para PrPC (KO) e animais que superexpressam a proteína (Tg-20) em uma série de tarefas a fim de avaliar uma possível influência da proteína priônica em parâmetros de ansiedade (labirinto em cruz elevado), equilíbrio (no aparato de rota-rod) e locomoção (teste de campo aberto). Em um outro protocolo experimental estas cepas de animais foram utilizadas a fim de avaliar uma possível modulação exercida pela PrpC em um modelo de confronto entre presa e predador utilizando a serpente predadora de roedores brasileira *Oxyrophus guibei*. Considerando os testes comportamentais, também foi avaliada a aversão contextual em uma segunda exposição à arena de confronto sem a presença do predador no dia seguinte. Na procura por possíveis mecanismos moleculares que poderiam ser responsáveis pelas diferenças comportamentais entre estes animais, e também levando em consideração a maior sensibilidade de animais nocautes ao estresse oxidativo cerebral, também foi mensurados parâmetros de respiração mitocondrial em animais WT e KO.

Os resultados dos testes comportamentais sugerem

que tanto animais KO quanto os Tg-20 apresentam menores índices de ansiedade e de aversão inata do que os controles WT, e que os Tg-20 exibiram uma maior capacidade de equilíbrio e locomoção, enquanto os animais nocautes apresentaram um maior tempo para começar a explorar ambientes novos.

Considerando a aversão contextual, tanto os camundongos KO quanto os Tg-20 exibiram menores índices e comportamento anti-aversivo em relação aos WT. Os animais Tg-20, no entanto, apresentaram quantitativamente e qualitativamente menor aversão do que os KO, que também foi acompanhada de hiperlocomoção e exploração aumentada do predador. Os Tg-20 aparentemente apresentaram uma maior capacidade de formação de memória aversiva contex-

tual em relação às outras cepas. Contudo, as análises bioquímicas de respiração mitocondrial não apontou para a existência de diferenças entre animais WT e KO. Estes resultados sugerem que PrPC possui um papel importante na regulação da ansiedade, da aversão inata e condicionada, do equilíbrio e da locomoção. Estes achados poderiam ser explicados por uma possível modulação efetuada por PrPC em sistemas de neurotransmissão, como o sistema serotoninérgico, o glutamatérgico, o GABAérgico, o colinérgico e o nitrérgico, baseando-se no conhecimento científico atual. Complementarmente, estas análises sugerem que estas alterações comportamentais não estão relacionadas à alterações na respiração mitocondrial dos animais geneticamente modificados para a proteína príon celular.

## OFTALMOLOGIA, OTORRINOLARINGOLOGIA E CIRURGIA DE CABEÇA E PESCOÇO

### PROCESSAMENTO AUDITIVO EM CRIANÇAS INFECTADAS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

**Lívia Marangoni Alfaya**

Orientadora: Profa. Dr.a Myriam de Lima Isaac  
Dissertação de Mestrado apresentada em 03/10/2007

Esta pesquisa teve por objetivo avaliar o processamento auditivo de crianças infectadas pelo HIV por meio de testes comportamentais, Avaliação Simplificada do Processamento Auditivo (ASPA), composta pelos testes de localização sonora, memória sequencial verbal e não verbal; o teste de Logaudiometria Pediátrica (*Pediatric Speech Test* -PSI) nas condições de mensagem competitiva contralateral (MCC) e mensagem competitiva ipsilateral (MCI) e o teste de reconhecimento de dissílabos em tarefa dicótica (SSW em português). Foram avaliadas 15 crianças infectadas pelo HIV em atendimento médico na Unidade Especial de Tratamento de Doenças Infecciosas e 15 crianças sem fatores de risco para infecção pelo HIV, ambas com

idade variando entre 8 e 9 anos. A desatenção foi a principal queixa relatada nos dois grupos. Os resultados revelaram alta incidência de alterações nos dois grupos em quase todos os testes aplicados, com exceção do PSI – MCC. Na ASPA a maior incidência de erros foi observada no teste de memória para sons verbais e no PSI o maior número de erros ocorreu na condição MCI. O SSW foi o teste que apresentou maior incidência de resultados alterados com prevalência de erros nas condições competitivas, principalmente na orelha esquerda para os dois grupos. Outro aspecto observado foi a melhora no desempenho na faixa etária de 9 anos. Os achados reforçam a importância do acompanhamento auditivo em crianças com HIV e a necessidade de atenção especial aos aspectos auditivos no processo de aprendizagem, facilitando a detecção precoce de desordens no processamento auditivo bem como o seu tratamento adequado.

### ASPECTOS HISTOLÓGICOS DO PÓLIPO NASOSSINUSAL

**Marcos Coelho Juncal**

Orientador: Prof. Dr. José Fernando Colafêmina  
Dissertação de Mestrado apresentada em 18/10/2007

Muitos trabalhos, utilizando a técnica de ressonância magnética nuclear funcional (RMNf) têm sido realizados em múltiplos centros de pesquisa, envolvendo voluntários

normais e pacientes com as mais diversas doenças. Porém, estudos dedicados à especialidade de otorrinolaringologia têm sido pouco explorados. O objetivo principal deste estudo foi analisar a ativação cerebral dos sistemas vestibular e oculomotor, através da RMNf, em resposta à estimulação dos movimentos de rastreamento e sacada dos olhos, descrevendo os achados da ativação de áreas cerebrais em pacientes

com *Doença de Ménière*. Para isso, imagens por RMNf foram obtidas de cinco pacientes selecionados, utilizando um scanner de 1.5 T Siemens (Magnéton Vision) com seqüências do tipo EPI-BOLD. Os mapas estatísticos foram obtidos no programa Brain Voyager™, utilizando o método Modelo Geral Linear. Encontrou-se ativação significativa no córtex

visual primário, ao longo dos giros occipital médio e inferior, temporal médio, superior e inferior, pós e pré-central, ao longo do giro frontal inferior, superior e médio, no giro supramarginal, no lobo parietal superior e inferior, na ínsula e nos cíngulos anterior e posterior. Também foram encontrados grupos de atividade em estruturas subcorticais.

### EXPRESSÃO DE HLA-DR NA CONJUNTIVA DE PACIENTES COM GLAUCOMA PRIMÁRIO DE ÂNGULO ABERTO EM TRATAMENTO TÓPICO COM ANÁLOGOS DAS PROSTAGLANDINAS

**Daniela Pereira da Silva Felipe Crosta**

Orientadora: Profa. Dra. Maria de Lourdes V. Rodrigues  
Tese de Doutorado apresentada em 22/10/2007

**Objetivos:** verificar a ativação inflamatória na conjuntiva de pacientes com glaucoma, após o uso de análogos das prostaglandinas através da detecção do marcador imunogenético HLA-DR e determinar se existem diferenças entre as três drogas: latanoprost, travoprost (análogos das prostaglandinas) e bimatoprost (prostamida) na ativação desta resposta.

**Métodos:** foram avaliados 33 pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto, antes e depois de 1 mês de uso de análogos das prostaglandinas e um grupo de 30 indivíduos sadios sem patologias oculares como controle. Após o período de *wash out*, ou logo após a confirmação do diagnóstico de glaucoma primário de ângulo aberto, foram feitos *imprints* de células da conjuntiva em lâminas que foram fixadas e submetidas à análise imunohistoquímica. A expressão do HLA-DR nas células da conjuntiva foi

determinada através de microscopia ótica.

**Resultados:** Antes de usar as drogas hipotensoras oculares, dos 33 pacientes do grupo de estudo somente quatro apresentavam a expressão de HLA-DR na conjuntiva, dois (+/++++) e dois (++/++++). Depois de usar os colírios, três pacientes aumentaram a expressão e um ficou estável. A expressão de HLA-DR nos 29 pacientes restantes pôde ser vista em 28, sendo 18 marcações (+/++++), 9 marcações de (++/++++) e 1 marcação de (+++/++++) e em 1 paciente não foi observada marcação, ficando assim estável. Quando comparados o grupo de estudo e o grupo controle, houve diferença estatística significativa com ( $p_1 \leq 0,001$ ). Não houve diferença estatística entre as três drogas utilizadas.

**Conclusão:** Os análogos das prostaglandinas: travoprost, bimatoprost e latanoprost quando instilados em forma de colírio, provocam reação inflamatória sub-clínica medida através da expressão de HLA-DR, mesmo após curto período de tratamento (30 dias) independentemente do análogo da prostaglandina utilizado.

### OTOTOXICIDADE E OTOPROTEÇÃO EM ORELHA INTERNA DE COBAIAS UTILIZANDO GENTAMICINA E AMICACINA: ASPECTOS ULTRA-ESTRUTURAIS E FUNCIONAIS

**Thomaz José Marra de Aquino**

Orientador: Prof. Dr. José Antonio A. de Oliveira  
Tese de Doutorado apresentada em 01/11/2007

A ototoxicidade ainda é um grande desafio para a medicina nos dias atuais, seja pela freqüente irreversibilidade das lesões, como no caso dos aminoglicosídeos, seja pelo uso não descontinuado dos mesmos devido à alta eficácia e ao baixo custo. A descoberta dos mecanismos endógenos de autoproteção das células ciliadas externas (CCE) associados a métodos de avaliação funcional e ultra-estrutural das mesmas, em experimentação animal, abriu nova perspectiva de entendimento e controle destes mecanismos. O presente estudo foi desenvolvido com os objetivos de determinar se subdoses de gentamicina protegia contra doses ototóxicas de amicacina, baseado no mecanismo de autoproteção da cóclea e ainda determinar se a amplitude das respostas das emissões otoacústicas produto de distorção (EOAPD) teria correlação com o nível de integridade das

CCE, em cobaias. Utilizando-se 31 cobaias albinas macho, divididas em 4 grupos, administrou-se soro fisiológico 0,9% (grupo 1), gentamicina (grupo 2), amicacina (grupo 3) e gentamicina + amicacina (grupo 4), intramuscular, por 12, 30 e 42 dias. Alterações funcionais e ultraestruturais nas cócleas ( $n=60$ ) das cobaias foram avaliadas ao fim do experimento através da realização do teste de EOAPD e análise da integridade das CCE a microscopia eletrônica de varredura. Os resultados revelaram que subdoses de gentamicina não protegem a orelha interna contra ação lesiva da amicacina e que a amplitude das respostas no teste de EOAPD tem correlação estatística com o grau de lesão de CCE. Estes resultados são discutidos no âmbito do entendimento dos mecanismos de ototoxicidade e otoproteção da orelha interna em cobaias e também como determinantes de uma nova visão de que não somente a presença, mas também a variação da intensidade das EOAPD tem importância clínica no acompanhamento das lesões de CCE, com possível aplicação no monitoramento de ototoxicidade por drogas em humanos.

## NEOVASCULARIZAÇÃO RETINIANA INDUZIDA POR FRAÇÃO ANGIOGÊNICA DERIVADA DO LÁTEX: MODELO EXPERIMENTAL EM COELHOS

**Romina Barreto Sampaio**

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Jorge

Tese de Doutorado apresentada em 05/12/2007

O objetivo do estudo foi desenvolver um modelo experimental de neovascularização retiniana em coelhos utilizando, como fator angiogênico, uma fração purificada derivada do látex natural (FAL).

A FAL foi encapsulada em microesferas de polímeros derivados dos ácidos láctico e glicólico (PLGA), formando um sistema de liberação lenta do fator, e introduzido no olho direito de cada animal através da injeção intravítrea de 0,1ml da solução. Foram utilizados 32 coelhos albinos da raça Nova Zelândia, separados em 4 grupos de 8 animais. Os grupos I, II e III receberam microesferas contendo a FAL nas quantidades específicas de 10µg, 30 µg e 50 µg, respectivamente, e o grupo IV recebeu microesferas sem a fração angiogênica (grupo controle). Acompanhamento semanal dos animais com os exames de oftalmoscopia e angiografia fluoresceínica foi realizado, quando então se procedeu a enucleação na 4ª semana para estudo histopatológico.

Todos os olhos do grupo I demonstram aumento da tortuosidade vascular, associado a alterações telangi-

tásicas e hemorragias puntiformes 14 dias após a injeção, mantendo-se até a 4ª semana, porém sem a presença de neovasos. Os do grupo II apresentaram alterações vasculares semelhantes às do grupo I, sendo que 50% desse grupo desenvolveram neovascularização retiniana, verificada à angiografia 21 dias após a injeção, evoluindo com tração fibrovascular no 28º dia. Todos os animais do grupo III apresentaram acentuada tortuosidade vascular e neovasos retinianos a partir da 2ª semana do estudo, progredindo para tração fibrovascular e descolamento tracional da retina. Não foram observadas alterações vasculares ou neovasos nos olhos do grupo IV. O estudo histopatológico do tecido retiniano confirmou a presença de neovasos nos grupos II e III, previamente demonstrados no exame de angiografia fluoresceínica, não observados no grupo controle.

Os resultados mostraram que a injeção intravítrea de 30 µg e de 50 µg da fração angiogênica derivada do látex natural (FAL) foi capaz de induzir a formação de neovasos em retina de coelhos. A relevância desse trabalho foi o desenvolvimento de um modelo de neovascularização retiniana simples, utilizando-se uma droga barata, facilmente encontrada na natureza: o látex de seringueira.

## AValiação DO OTOSILICATO COMO PRÓTESE DE ORELHA MÉDIA

**Eduardo Tanaka Massuda**

Orientador: Prof. Dr. José Antonio A. de Oliveira

Tese de Doutorado apresentada em 07/12/2007

A orelha média surgiu no desenvolvimento das espécies para amplificação sonora e isso se dá, principalmente através dos ossículos. Muitos processos infecciosos da orelha média podem causar destruição desses ossículos provocando perda auditiva de transmissão e várias próteses são utilizadas no intuito de restabelecer a audição (bigorna remodelada, osso da calota craniana moldada, titânio, plastipore, hidroxiapatita, cerâmica, cartilagem, cimento ósseo, vitrocerâmica bioativa). Hench (1974) definiu o material bioativo como aquele que produz uma resposta biológica específica na interface do receptor, provocando uma ligação entre ele e o receptor. Podendo ser de classe A, quando o material se liga ao tecido mole e ao osso, ou de classe B quando se liga apenas a tecido ósseo.

O biosilicato® é uma vitrocerâmica bioativa de classe A, desenvolvida na Universidade Federal de São Carlos no Departamento de Engenharia de Materiais e que foi utilizada neste trabalho como um novo material para substituição dos ossículos.

Neste estudo tivemos duas etapas, sendo que na primeira foi testada a ototoxicidade e a vestibulotoxicidade em cobaias. Não ocorreram ototoxicidade e vestibulotoxicidade nas cobaias testadas após 30 e 90 dias de exposição do biosilicato® na orelha média.

Na segunda etapa foi feita a comparação entre ossiculoplastia de bigorna remodelada e biosilicato (prótese parcial e total) através de exame audiométrico após três meses de pós-operatório. Foram realizadas 29 cirurgias no total, sendo 14 PORP (*Partial Ossicular Replacement Prosthesis*) otosilicato, 7 TORP (*Total Ossicular Replacement Prosthesis*) otosilicato e 8 PORP óssea. Nos resultados obtivemos melhora do gap aéreo-ósseo ( $\frac{\%}{\lambda}$  20 decibéis) nos três grupos testados (50% no PORP otosilicato, 29% no TORP otosilicato e 50% no PORP óssea). Estatisticamente (ANOVA), foi significativa a variável gap no pré e no pós-operatório nos três grupos ( $p \leq 0,001$ ), porém entre eles não foi significativa, ou seja, a melhora do gap no pós-operatório entre eles foi estatisticamente igual. Ocorreu uma extrusão da prótese de PORP otosilicato (4,7%) em um caso que houve infecção no pós-operatório imediato com manutenção da perfuração da membrana timpânica. Concluímos que o design da prótese deve ser diferente de PORP otosi-

licato e TORP otosilicato, pois não conseguimos fechar em nenhum caso o gap no pós-operatório no TORP otosilicato e pela dificuldade cirúrgica nesses casos. A prótese de oto-

silicato é eficiente para substituir ossículos, porém é necessário aumentarmos o número de casos operados e termos maior tempo de pós-operatório para melhor avaliação.

### **ANASTOMOSE RETINO-COROÍDEA OCULTA EM DEGENERAÇÃO MACULAR RELACIONADA À IDADE: ESTUDO POR TOMOGRAFIA DE COERÊNCIA ÓPTICA DE TERCEIRA GERAÇÃO**

**Maria Letícia Paccola**

Orientador: Prof. Dr. Rogério Alves Costa

Tese de Doutorado apresentada em 07/12/2007

Foi realizado um estudo prospectivo observacional em pacientes com degeneração macular relacionada à idade (DMRI), com o intuito de se promover um melhor entendimento das bases fisiopatológicas de um subgrupo especial de complexos neovasculares caracterizados pela presença de anastomose retiniana primária na lesão (AREL). Para tanto, foram investigadas as características da tomografia de coerência óptica de terceira geração (OCT 3) em pacientes portadores de DMRI neovascular e AREL, bem como sua correlação com a hipótese proposta por Gass (anastomose retino-coroídea [ARCo] oculta). O estudo foi realizado em um centro oftalmológico de referência terciário. Foram selecionados os pacientes com evidência biomicroscópica de AREL e drusas, avaliados no período de fevereiro de 2003 a março de 2004. Todos os pacientes foram submetidos a avaliações tomográficas (OCT 3) e angiográficas (estereoscópicas; com fluoresceína e indocianina verde) seriadas. Foram analisadas as características morfológicas maculares nos exames iniciais e após 12 semanas de

seguimento. Foram identificados 20 olhos com AREL e drusas em 11 pacientes, sendo 7 mulheres (63,6%) e 4 homens (36,4%), cujas idades variavam de 69 a 82 anos (mediana, 79 anos). Após correlação com o estadiamento proposto por Gass, observou-se que, em olhos com estágio I de ARCo (pré-clínico), uma elevação focal do EPR podia ser identificada pelo OCT 3. No estágio II de ARCo foram observados pequenos sinais hiper-refletivos no nível do EPR elevado. No estágio III de ARCo observou-se pequena protuberância hiper-refletiva no nível do EPR elevado, associada a espessamento de retina. O estágio IV de ARCo caracterizou-se adicionalmente pelo acúmulo de fluido sub-retiniano. E, finalmente, no estágio V de ARCo, observou-se completa desorganização da região macular. Foram observadas alterações maculares em 8 olhos (40%), sendo que todos, exceto 1, progrediram um estágio de ARCo durante o período de seguimento. Conclui-se, dessa maneira, que tanto as características morfológicas observadas quanto as mudanças evidenciadas pelo OCT 3 sugerem que o evento inicial que precede o desenvolvimento de ARCo em olhos portadores de DMRI é o descolamento fibrovascular do EPR. Os achados deste estudo corroboram a hipótese "ARCo" formulada inicialmente por Gass.

### **INFLUÊNCIA DO HIPOTIREOIDISMO NA EXPRESSÃO DO RECEPTOR DE HORMÔNIO TIREOIDIANO BETA 1 EM GLÂNDULA LACRIMAL E NA DISFUNÇÃO LACRIMAL E SUPERFÍCIE OCULAR DE RATO**

**Ana Carolina Dias**

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Melani Rocha

Dissertação de Mestrado apresentada em 10/12/2007

Doenças hormonais induzem alterações na glândula lacrimal (GL) e superfície ocular (SO). Hormônios tireoidianos (HT) induzem proliferação celular e metabolismo de lipídeos através da ativação dos receptores dos hormônios tireoidianos. O objetivo do presente estudo foi avaliar a localização e comparar a expressão do receptor do hormônio tireoídiano  $\beta$ -1 (Thrb1) em GL de ratos com hipotireoidismo e controles e o impacto desta doença na estrutura e função da GL e SO. O hipotireoidismo foi induzido em ratos Wistar machos com uso crônico de tiamazol. Após dez semanas, células da córnea foram colhidas para citologia de impressão (CI). Os ratos foram submetidos a eutanásia e

tecidos avaliados por imunoperoxidase e *western blot* para Thrb1. A quantidade de malonaldeído (MDA) e acetilcolina (Ach) na GL foi determinada por espectrofotometria (n=5/grupo em todos experimentos). O peso corpóreo e peso da GL foram significativamente reduzidos em ratos hipotireóides (P<0,05). O *western blot* indicou que a GL expressa Thrb1 e que o hipotireoidismo induz aumento na expressão deste receptor. A CI apresentou metaplasia significativa e Ach foi significativamente mais baixa em ratos hipotireóides (P<0,05). A imunistoquímica demonstrou a presença de Thrb1 no núcleo de células acinares e ductos da GL dos grupos controle e hipotireoideo. Reduções crônicas nos níveis de HT induziram alterações bioquímicas e estruturais e modularam a expressão níveis de Thrb na GL. Esses achados confirmam que a GL é tecido-alvo para HT e podem ajudar a entender os mecanismos relacionados a olho seco observado no hipotireoidismo.

## ESTUDO COMPARATIVO DA FARMACOCINÉTICA VÍTREA E TOXICIDADE RETINIANA ENTRE O ACETONIDO DE TRIANCINOLONA COM E SEM PRESERVATIVO, EM OLHOS DE COELHOS

**Luíz Carlos Conti de Freitas**

Orientador: Prof. Dr. Rui Celso Martins Mamede

Tese de Doutorado apresentada em 10/12/2007

O hiperparatireoidismo secundário é uma complicação freqüente em pacientes urêmicos. A paratireoidectomia total associada ao autotransplante parcial tem conquistado a preferência dentre as possibilidades terapêuticas cirúrgicas. Entretanto, embora se tenha comprovado a capacidade de secreção de paratormônio (PTH) pelo tecido paratireóideo autotransplantado, não foi realizada avaliação da dinâmica de secreção de PTH em situações de estímulo (hipocalcemia) e supressão (hipercalcemia). Os testes dinâmicos possibilitam a detecção de alterações da secreção do PTH, dificilmente identificadas apenas pela análise dos níveis basais de PTH. Assim, o estudo teve o objetivo de avaliar a reserva secretora e a supressibilidade do tecido paratireóideo autotransplantado em músculo braquiorradial através de testes dinâmicos.

Foram estudados 12 indivíduos submetidos à paratireoidectomia total com autotransplante e 14 indivíduos saudáveis que compuseram o grupo controle. Os testes foram realizados em dois tempos no período pós-operatório. O primeiro teste foi realizado 165 ± 16 dias após a cirurgia, que denominamos de “pós-operatório recente” (POR) e o segundo após 345 ± 38 dias, que denominamos de “pós-operatório tardio” (POT). Para análise da capacidade de reserva secretora foi utilizado o teste de hipocalcemia induzida pelo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e para análise da supressão da secreção glandular foram empregados os testes de hipercalcemia induzida pela administra-

ção de cálcio por via oral, e, posteriormente, pela infusão endovenosa de gluconato de cálcio.

A análise da correlação linear nos testes dinâmicos dos indivíduos saudáveis no POR e POT demonstrou que a variação dos níveis séricos de cálcio iônico e PTH foram inversamente proporcionais, entretanto, o mesmo não foi comprovado nos pacientes avaliados através dos testes de estímulo e supressão, em ambos os tempos. A redução dos níveis séricos de cálcio durante o teste com EDTA foi comparável àquela observada nos indivíduos controle. Da mesma maneira, a elevação dos níveis séricos de cálcio iônico durante o teste de supressão com cálcio endovenoso foi semelhante à observada nos indivíduos controle. No entanto, a variação do cálcio no teste realizado por via oral não foi suficiente para promover a supressão ao tecido paratireóideo. Quanto à secreção de PTH, não se observou, no teste de supressão com cálcio endovenoso, queda significativa do PTH médio, na análise do índice de inclinação da curva, diferentemente ao notado no grupo controle. Também, não foi observada alteração nos níveis séricos de PTH, durante os testes de estímulo no POR, no entanto, no POT, houve uma elevação no índice de inclinação da curva, porém em níveis significativamente inferiores aos observados nos indivíduos controle.

Assim, conclui-se que pacientes submetidos à paratireoidectomia total com autotransplante parcial apresentam anormalidade na função secretora do implante durante o primeiro ano após a cirurgia, pois se observa perda da correlação negativa entre as variações de cálcio iônico e PTH. Além disso, observou-se incapacidade de supressão glandular no POT e perda da resposta secretora ao estímulo no POR, com recuperação parcial no POT.

## DETECÇÃO DE PROTEASSOMA LIVRE EM HUMOR AQUOSO DE COELHOS

**Abenor Moreira Minaré Filho**

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

Tese de Doutorado apresentada em 17/12/2007

**Introdução:** Algumas atividades fundamentais que possibilitam a vida, como a apresentação de antígenos, apoptose, reciclagem de proteínas e controle de fatores transcricionais, dependem de atividade proteolítica. O Proteassoma é o mais importante agente proteolítico dos organismos eucarióticos já estudados e é normalmente descrito como sendo intracelular.

**Objetivos:** Determinar se o Proteassoma está presente e ativo no humor aquoso (um meio acelular com con-

centração protéica em torno de 500 vezes menor que o plasma) e no humor vítreo.

**Material e Métodos:** Utilizamos coelhos da raça Nova Zelândia, de ambos os sexos, que eram anestesiados e submetidos à paracentese para aspiração do humor aquoso. Após 15 minutos, nova amostra era colhida, do mesmo olho (humor aquoso refeito, que tem concentração protéica em torno de 15 vezes maior que o humor aquoso normal). O olho contralateral era submetido à punção via pars plana, para aspiração do humor vítreo. As amostras eram então armazenadas em *eppendorfs*, com adição de glicerol (para preservar a atividade do Proteassoma), em gelo. Em seguida, era realizada eletroforese (SDS PAGE), com 20<sup>00</sup>g de

proteínas por coluna e finalmente, *Western Blotting*, para identificar as subunidades alfa do proteossoma e compostos ubiquitinados. O ensaio de atividade era realizado por espectrofluorimetria, com o substrato fluorogênico Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC. O inibidor MG132 era utilizado para controle.

**Resultados:** Identificamos as subunidades alfa do Proteossoma e compostos ubiquitinados em todas as amostras. A atividade foi demonstrada e pôde ser inibida com o uso de MG132.

**Conclusão:** O Proteossoma está presente de forma livre e ativo no humor aquoso.

## POLIMORFISMOS DOS GENES DA REGIÃO DO FATOR DE NECROSE TUMORAL EM PACIENTES COM AIDS APRESENTANDO OU NÃO RETINITE PELO CITOMEGALOVÍRUS

**Neifi Hassan Salum Deghaide**

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Antonio Donadi  
Tese de Doutorado apresentada em 18/12/2007

O Fator de Necrose Tumoral (TNF) é uma potente citocina pró-inflamatória que modula as respostas imunes contra infecções virais, estando bastante envolvido na patogenia da aids. O gene que codifica o TNF está localizado na região altamente polimórfica do Complexo Principal de Histocompatibilidade, apresentando seis microssatélites polimórficos (TNFa-f). Como os sítios polimórficos têm sido associados com a magnitude da produção de citocinas, no presente estudo avaliamos a frequência de alguns sítios polimórficos na região do gene que codifica o TNF em pacientes apresentando aids, estratificados de acordo com a presença ou não de retinite por citomegalovírus (R-CMV).

**Objetivos:** tipificar os microssatélites TNF (a, b, c, d e e) e duas variações nucleotídicas pontuais na região promotora do gene do TNF (-238G/A e -308G/A), possivelmente envolvidos na susceptibilidade ou proteção a R-CMV.

**Métodos:** estudamos 52 pacientes com aids e R-CMV, 170 com aids sem R-CMV, e ainda, 202 indivíduos com sorologia negativa para o HIV-1. DNA do sangue periférico foi amplificado e hibridado com iniciadores específicos. A tipificação dos microssatélites do TNF foi realizada de acordo com a mobilidade do DNA amplificado em géis de poliacrilamida. A análise estatística foi realizada, utilizando o teste exato de Fisher bicaudal, considerando significantes valores de  $p < 0,05$ . Para estimar a força das associações foram também calculados *odds ratio* (OR) e fração etiológica

(FE) quando  $OR > 1,0$  e, fração preventiva (FP), quando  $OR < 1,0$ .

**Resultados:** Em comparação com os controles, os alelos TNFb4 ( $p = 0,0400$ ;  $OR = 0,6020$ ;  $95\% IC = 0,3751-0,9661$ ,  $FP = 0,1556$ ), TNFc1 ( $p = 0,0144$ ;  $OR = 0,5739$ ;  $95\% IC = 0,3688-0,8930$ ;  $FP = 0,2964$ ) e TNF-238G ( $p = 0,0358$ ;  $OR = 0,5105$ ;  $95\% IC = 0,2785-0,9358$  e  $FP = 0,4422$ ) apresentaram frequências diminuídas nos pacientes com aids e R-CMV, conferindo proteção contra o desenvolvimento de R-CMV. Os alelos TNFc2 ( $p = 0,0144$ ;  $OR = 1,7425$ ;  $95\% IC = 1,120-2,711$ ;  $FE = 0,1844$ ) e TNF-238A ( $p = 0,0358$ ;  $OR = 1,9589$ ;  $95\% IC = 1,069-3,591$ ;  $FE = 0,0847$ ) apresentaram frequências aumentadas nos pacientes com aids e R-CMV, conferindo susceptibilidade a R-CMV. Em relação aos controles, os alelos TNFa5 ( $p = 0,0146$ ;  $OR = 2,0638$ ;  $95\% IC = 1,161-3,669$ ;  $FE = 0,0500$ ), TNFb7 ( $p = 0,0358$ ;  $OR = 2,3320$ ;  $95\% IC = 1,069-5,087$ ;  $FE = 0,0319$ ) e o TNF-308A ( $p = 0,0063$ ;  $OR = 1,9575$ ;  $95\% IC = 1,222-3,136$ ;  $FE = 0,0705$ ) apresentaram frequências alélicas aumentadas no grupo de pacientes com aids sem R-CMV, conferindo susceptibilidade para o desenvolvimento de aids, enquanto que os alelos TNFb4 ( $p = 0,0210$ ;  $OR = 0,6957$ ;  $95\% IC = 0,5129-0,9436$ ;  $FP = 0,1190$ ) e TNF-308G ( $p = 0,0063$ ;  $OR = 0,5109$ ;  $95\% IC = 0,3189-0,8184$ ;  $FP = 0,4504$ ) apresentaram frequências diminuídas nos pacientes com aids sem R-CMV, sugerindo ser esses alelos fatores de proteção contra o desenvolvimento de aids.

**Conclusões:** este é o primeiro estudo avaliando os alelos dos microssatélites do TNF na aids, apontando diversas associações entre alelos da região do gene que codifica o TNF com aids, e também com R-CMV.

## ORTOPEDIA, TRAUMATOLOGIA E REABILITAÇÃO

### USO DE ALENDRONATO DE SÓDIO EM RATAS SUBMETIDAS À IMOBILIZAÇÃO GESSADA. ANÁLISE DE PROPRIEDADES MECÂNICAS DO FÊMUR E DA DENSIDADE ÓSSEA RADIOGRÁFICA DO COLO FEMORAL

**Paulo Eugênio Santos Cecim**

Orientador: Prof. Dr. José Batista Volpon  
Dissertação de Mestrado apresentada em 03/10/2007

A imobilização prolongada do aparelho locomotor, embora usada com finalidades terapêuticas, leva à osteopenia, o que causa enfraquecimento ósseo. Foi investigado



se o uso concomitante do alendronato de sódio (um inibidor da atividade osteoclástica) é capaz de diminuir ou prevenir o enfraquecimento ósseo causado pela imobilização. Ratas fêmeas Wistar, adulta-jovens foram distribuídas em seis grupos: não imobilizado e sem tratamento (controle); não imobilizado + alendronato diário (0,1 mg/kg); não imobilizado + alendronato semanal (0,7 mg/kg); imobilizado e sem tratamento; imobilizado + alendronato diário (0,1 mg/kg); imobilizado + alendronato semanal (0,7 mg/kg). A imobilização foi obtida com aparelho gessado na região lombar, pélvica e de todo o membro pélvico direito (exceto a pata). O período de observação, imobilização e tratamento foi de 28 dias. Os métodos de avaliação foram a determinação da massa corporal, da massa e comprimento do fêmur direito, o ensaio mecânico em flexo-compressão no terço proximal do fêmur e a densidade óssea radiográfica do colo do fêmur direito. A comparação foi intergrupos. A imobilização, com alendronato ou não, causou diminuição significativa na massa corporal, enquanto que para a massa do fêmur ela diminuiu significativamente para os animais ape-

nas imobilizados e não tratados. Com respeito à análise mecânica, houve sensível diminuição da força máxima e da rigidez nos animais apenas imobilizados. Os animais não imobilizados e que receberam alendronato de sódio (diário ou semanal) apresentaram maior resistência óssea, mesmo em relação ao controle não imobilizado e não tratado. Para os animais imobilizados e tratados (com alendronato de sódio diário ou semanal) houve aumento da força máxima e da rigidez que se igualaram ou mesmo ultrapassaram os valores do controle não imobilizado e não tratado. A determinação da densidade óssea correspondeu aos achados nos ensaios mecânicos de tal forma que a correlação dela com a força máxima e com a rigidez foi positiva e linear. Foi concluído que a imobilização gessada causou acentuado enfraquecimento ósseo que foi prevenido eficientemente pelo uso do alendronato de sódio, tanto de aplicação diária ou semanal, caracterizados pelo aumento da força máxima e rigidez no ensaio de flexo-compressão, bem como aumento da densidade óssea radiográfica.

## INFLUÊNCIA DA DECORTICAÇÃO NA NEOFORMAÇÃO TECIDUAL DA INTERFACE DO ENXERTO ÓSSEO NA COLUNA VERTEBRAL

**Fabiano Ricardo Tavares Canto**

Orientador: Prof. Dr. Helton Luiz Aparecido Defino  
Tese de Doutorado apresentada em 23/10/2007

Foi realizado estudo experimental para determinar a influência da decorticação dos elementos posteriores da coluna vertebral na integração do enxerto ósseo autólogo esponjoso ou cortical, considerando a avaliação histológica quantitativa e qualitativa dos tecidos (ósseo, cartilaginoso e fibroso) presentes na interface entre o leito receptor e o enxerto ósseo. Setenta e dois ratos Wistar foram divididos em quatro grupos experimentais: grupo I\_ leito posterior decorticado enxerto esponjoso, grupo II\_ leito posterior decorticado enxerto cortical, grupo III\_ leito posterior não decorticado enxerto esponjoso, grupo IV\_ leito posterior não decorticado enxerto cortical. Os quatro grupos experimentais foram sacrificados com 3, 6 e 9 semanas de pós-operatório e a região operada foi submetida a avaliação histológica e histomorfométrica.

Nos animais sacrificados com 3 semanas de pós-operatório a média da porcentagem de osso neoformado no grupo I foi de 40,87%±5,24, no grupo II de 39,13%±7,27, no grupo III de 6,13%±2,13, no grupo IV de 9,27%±4,06. Foi observada diferença estatística entre os valores da neoformação óssea (p=0,0005). A média da porcentagem de tecido cartilaginoso neoformado no grupo I foi de 8,36%±1,08, no grupo II de 7,46%±0,85, no grupo III de 11,10%±6,026 e no grupo IV de 9,133%±3,84. Não foi observada diferença

estatística entre os valores da neoformação de tecido cartilaginoso (p=0,6544). A média da porcentagem de tecido fibroso neoformado no grupo I foi de 11%±3,97, no grupo II de 6,13%±1,78, no grupo III de 26,27%±7,25 e no grupo IV de 21,87%±12,7. Foi observada diferença estatística entre os valores da neoformação de tecido fibroso (p=0,0008).

Nos animais sacrificados com 6 semanas de pós-operatório a média da porcentagem de osso neoformado no grupo I foi de 38,53%±14,13, no grupo II de 40,40%±13,90, no grupo III de 10,27%±5,17 e no grupo IV de 7,6%±3,53. Foi observada diferença estatística entre os valores da neoformação óssea (p=0,0005). A média da porcentagem de tecido cartilaginoso neoformado no grupo I foi de 6,6%±3,46, no grupo II de 8,07%±1,74, no grupo III de 7,47%±3,27 e no grupo IV de 6,13%±2,08. Não foi observada diferença estatística entre os valores da neoformação de tecido cartilaginoso (p=0,4889). A média da porcentagem de tecido fibroso neoformado no grupo I foi de 7,67%±5,12, no grupo II foi de 7,1%±3,16, no grupo III de 9,8%±7,54 e no grupo IV de 10,4%±5,59. Não foi observada diferença estatística entre os valores da neoformação de tecido fibroso (p=0,7880).

Nos animais sacrificados com 9 semanas de pós-operatório a média da porcentagem de osso neoformado no grupo I foi de 29,53%±3,473, no grupo II de 30,6%±10,48, no grupo III de 16,4%±6,072 e no grupo IV de 18,73%±5,727. Foi observada diferença estatística entre os valores de osso neoformado (p=0,0026). A média da porcentagem de tecido

cartilaginosa neoformado no grupo I foi de  $3,133\% \pm 1,33$ , no grupo II de  $4,067\% \pm 1,686$ , no grupo III de  $10,53\% \pm 4,751$ , no grupo IV de  $12,07\% \pm 2,753$ . Foi observada diferença estatística entre os valores de tecido cartilaginosa neoformado ( $p=0,0006$ ). A média da porcentagem de tecido fibroso neoformado no grupo I foi de  $3,733\% \pm 1,672$ , no grupo II de  $4,4\% \pm 1,339$ , no grupo III de  $6,67\% \pm 2,767$  e no grupo IV de

$6,8\% \pm 2,492$ . Foi observada diferença estatística entre os valores da neoformação de tecido fibroso ( $p=0,0214$ ).

A realização da decorticação acelerou o processo histológico da integração do enxerto ósseo. Ocorrendo maior produção de tecido ósseo neoformado e predomínio da ossificação do tipo intramembranosa no grupo de animais nos quais a decorticação foi realizada.

## ANÁLISE DA POSTURA CRÂNIO-CERVICAL EM PACIENTES COM DISFUNÇÃO TEMPORO-MANDIBULAR

**Denise Hollanda Iunes**

Orientadora: Profa. Dra. Débora Bevilaqua Grossi  
Tese de Doutorado apresentada em 06/11/2007

**Objetivo:** O propósito deste trabalho é comparar o posicionamento da cabeça e o alinhamento da coluna cervical em indivíduos sem e com DTM miogênica (grupo I do eixo I) e mista (grupo I, II e III do eixo I) e comparar os resultados das análises feitas por fotografias, radiografias e avaliação visual.

**Métodos:** 90 mulheres foram diagnosticadas por meio do RDC/TMD e do Índice Anamnésico de Fonseca por um examinador treinado. Em seguida, foram fotografadas em vista anterior e perfil por um único examinador. Para a realização das fotografias, foram demarcados sobre a pele os seguintes pontos anatômicos: protuberância occipital, C4, C7, articulação acromioclavicular e esternoclavicular. A partir desses pontos, foram analisados diferentes ângulos por

intermédio do aplicativo ALCImagem-2000. Em seguida, foi solicitada uma telerradiografia e uma radiografia da coluna cervical em perfil. O experimentador era cego na análise destes dados. Para a comparação dos resultados, foi utilizado o teste qui-quadrado, a análise de variância e o coeficiente de correlação.

**Resultados:** Independentemente do método utilizado, os resultados revelaram que a postura da cabeça e da coluna cervical não difere entre o grupo com DTM e sem DTM, independentemente do tipo de diagnóstico. Os parâmetros avaliados por meio da avaliação postural visual e da fotogrametria não condizem com os achados radiográficos.

**Conclusão:** A postura do indivíduo com DTM não é diferente do indivíduo sem DTM, independentemente do tipo desta. A fotografia e a avaliação visual permitem uma avaliação do conjunto cabeça – cervical, mas não possibilitam avaliar isoladamente cervical alta e baixa, bem como a rotação do crânio. Para isso, deve ser utilizada a radiografia.

## EFEITOS MECÂNICOS CAUSADOS PELA VARIAÇÃO DA INCLINAÇÃO DO PARAFUSO EXCÊNTRICO NO ORIFÍCIO DA PLACA DE AUTO-COMPRESSÃO

**Rafael Lara de Freitas**

Orientador: Prof. Dr. Mauricio Kfuri Junior  
Dissertação de Mestrado apresentada em 27/11/2007

As placas de compressão axial com orifícios ovais têm por princípio de ação a congruência entre parafusos de seção esférica e orifícios de seção cilíndrica. Ao inserimos um parafuso de maneira excêntrica no orifício da placa o deslizamento da cabeça do parafuso na rampa da placa é o mecanismo que promove a compressão axial. A geometria esférica da cabeça dos parafusos permite a sua inclinação tanto no plano longitudinal quanto transversal, dando margem de liberdade ao cirurgião conforme as demandas da fratura a ser tratada. O fato é que a inclinação pode ocorrer na mesma direção da rampa do orifício da placa ou na direção contrária à mesma. O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos mecânicos sobre a compressão

axial causados pela inclinação dos parafusos excêntricos em relação aos eixos longitudinal e transversal da placa. Metodologicamente foram confeccionados guias excêntricos com inclinações de 10, 20 e 25 graus no plano longitudinal na mesma inclinação e na inclinação contrária à rampa do orifício (10i, 20i e 25i graus). Para o plano transversal foi confeccionado um guia com 5 graus de inclinação. Corpos de prova em poliuretano, simulando fragmentos de um osso diafisário, foram fixados com placas DCP® 4,5mm não pré-tensionadas. Para medir a compressão axial no intervalo entre os corpos de poliuretano utilizamos uma célula de carga interposta, constituindo um sistema rígido e estável. A compressão foi registrada em oito grupos experimentais distintos, de acordo com a inclinação do parafuso. Registramos como variáveis a força de compressão máxima e força máxima efetiva. As medidas de compressão axial na posição subjacente à placa foram superiores às medidas registradas na cortical oposta à placa ( $p < 0,001$ ), razão pela

qual tomamos este sítio de medida como referência. Observamos uma queda percentual na magnitude da força máxima ao inclinarmos o parafuso em direção contrária à rampa da placa. Assim,  $0^\circ > 10^\circ$  ( $p < 0,001$ ),  $0^\circ > 20^\circ$  ( $p < 0,001$ ),  $0^\circ > 25^\circ$  ( $p < 0,001$ ). Esta mesma tendência se manteve no registro das medidas de força máxima efetiva onde  $0 > 10$  ( $p < 0,001$ ),  $0 > 20$  ( $p < 0,001$ ),  $0 > 25$  ( $p < 0,001$ ). Neste modelo experimental, a utilização de placas de compressão axial do

tipo DCP® não pré-tensionadas, a cortical subjacente evidenciou superioridade estatística ( $p < 0,001$ ). A variação na inclinação de parafusos excêntricos promoveu alterações nos valores médios da força máxima e força máxima efetiva de compressão axial. Houve diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) para menos na compressão axial quando da inclinação de parafusos no plano longitudinal e com direção oposta à da rampa de deslizamento do orifício DCP®.

### HISTOMORFOMETRIA DA INTERFACE OSSO-PARAFUSO. ESTUDO METODOLÓGICO EXPERIMENTAL EM VÉRTEBRAS DE CARNEIRO

#### Graziela Nascimento Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Shimano

Dissertação de Mestrado apresentada em 30/11/07

O objetivo do estudo foi analisar as alterações agudas do tecido ósseo adjacente aos parafusos utilizados na fixação das placas cervicais anteriores, considerando o diâmetro do orifício piloto em relação ao diâmetro interno do parafuso. O estudo foi realizado em carneiros e a segunda vértebra cervical foi selecionada para o estudo. Foram utilizados parafusos de 3,5mm de diâmetro externo (2,4mm de diâmetro interno), que foram introduzidos após a realização de orifício piloto de 2,0mm e 2,5mm. Foram formados quatro grupos experimentais: 1 – orifício piloto de 2,0mm e colocação do parafuso 3,5mm, 2 – orifício piloto e colocação do parafuso de 2,5mm, 3 – orifício piloto de 2,0mm sem colocação do parafuso e 4 – orifício piloto de 2,5mm sem colocação do parafuso. A interface do tecido ósseo e o parafuso, ou somente as paredes nos grupos sem parafuso foram estudadas e comparadas por meio de estudo estatístico. Os parâmetros do estudo morfométrico selecionados para o estudo foram: densidade do tecido ósseo no interior da rosca do

implante, densidade do tecido ósseo na área em espelho e superfície de contato do tecido ósseo e o implante. Para análise estatística, foi utilizado o teste não-paramétrico de Wilcoxon para amostras pareadas e o teste não-paramétrico de Mann-Whitney para amostras independentes, adotando como nível de significância,  $p \leq 0,05$ . Foi observado no grupo 1 (orifício piloto menor que o diâmetro interno do parafuso) que a densidade óssea no interior da rosca do implante e a densidade óssea na área em espelho era maior que no grupo 2 (orifício piloto maior que o diâmetro interno do parafuso), mas sem diferença estatística. A superfície de contato entre o tecido ósseo e o implante foi maior no grupo 2 em relação ao grupo 1, mas sem diferença estatística. A comparação da densidade óssea na área em espelho entre os grupos com e sem implante (1 e 3) (2 e 4) mostrou que ela foi maior nos grupos com o implante, mas não apresentou diferença estatística. Foi observado pelos parâmetros histomorfométricos utilizados no estudo que a utilização de orifício piloto de menor diâmetro em relação ao diâmetro interno do parafuso apresentou a tendência a provocar maior compactação do osso ao redor do implante, embora diferença estatística entre os grupos não tenha sido observada.

### ESTUDO DOS GÉIS DE MONOLEÍNA E QUITOSANA COMO POTENCIAIS CARREADORES DA PROTEÍNA MORFOGENÉTICA rhBMP-2, NO MODELO DA DECORTICAÇÃO MANDIBULAR DE RATOS WISTAR

#### João Paulo Mardegan Issa

Orientador: Prof. Dr. Helton Luiz Aparecido Defino

Tese de Doutorado apresentada em 04/12/2007

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade e a quantidade do tecido ósseo neoformado na mandíbula de ratos Wistar utilizando o modelo da decorticação mandibular, sob estímulo da associação  $5\mu\text{g}$  rhBMP-2/monoleína e  $5\mu\text{g}$  rhBMP-2/quitosana. Cinquenta e seis ratos machos adultos (350g), foram divididos em 8 grupos:

I- rhBMP-2/monoleína, sem decorticação, 3 semanas;

II- rhBMP-2/monoleína, com decorticação, 3 semanas;

III- rhBMP-2/quitosana, sem decorticação, 3 semanas;

IV- rhBMP-2/quitosana, com decorticação, 3 semanas;

V- rhBMP-2/monoleína, sem decorticação, 6 semanas;

VI- rhBMP-2/monoleína, com decorticação, 6 semanas;

VII- rhBMP-2/quitosana, sem decorticação, 6 semanas;

rhBMP-2/quitosana, com decorticação, 6 semanas.

Após os respectivos períodos, os animais foram submetidos à perfusão para remoção das hemi-mandíbulas, processamento histológico e análise histomorfométrica. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística. Fo-

ram encontradas as seguintes médias e desvios-padrão, respectivamente: I- 19,36(4,49); II- 50,74(8,98); III- 19,21(6,90); IV- 53,22(11,76); V- 26,92(6,61); VI- 71,32(8,74); VII- 34,84(6,79); VIII- 68,09(7,17). Os resultados indicam que

o processo de neoformação óssea foi tempo-dependente e que nos grupos com decorticação, mais tecido ósseo neoformado foi encontrado, não sendo encontrada diferença estatística entre os carreadores utilizados ( $p=0,412$ ).

### **QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE MUSCULAR ATRAVÉS DA IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL APÓS O EXERCÍCIO DE AGACHAMENTO**

**Augusto do Prado Baffa**

Orientadora: Profa. Dra. Débora Bevilaqua Grossi  
Dissertação de Mestrado apresentada em 06/12/2007

A análise do recrutamento muscular através da imagem por ressonância magnética funcional do músculo (IRMfm) apresenta uma forte correlação com a eletromiografia cujas “limitações” são superadas pela IRMfm. Dentre os exercícios de reabilitação para a Síndrome da Dor Femoropatelar (SDFP), o exercício de agachamento se destaca por ser mais funcional, porém não está bem estabelecido na literatura se a associação da adução ou abdução isométrica do quadril durante o agachamento apresenta vantagens no fortalecimento do músculo glúteo médio e quadríceps femoral. Participaram do estudo 14 voluntárias saudáveis, sedentárias e sem história prévia de lesão nos membros inferiores e ou doenças ortopédicas, neurológicas e reumatológicas. As voluntárias foram submetidas a um teste de repetição máxima para determinar o número de agachamentos a ser realizado no dia do exame, definido com 50% da repetição máxima. O exercício de agachamento simples (AGA), agachamento associado à adução isométrica do quadril (ADU) e o agachamento associado à abdução isométrica do quadril (ABD) foi realizado pelas voluntárias com uma cadência de 2 segundos para flexionar o joelho até 60° e 2 segundo para voltar à posição inicial de 0° de flexão do joelho com uma carga de 25% do peso corporal.

Foram coletados 22 imagens axiais da coxa e 22 imagens do quadril através do equipamento de Ressonância Magnética Magneton Vision – Siemens antes e após realizarem exercício de agachamento. Posteriormente a imagens foram analisadas através do software Matlab 6.5 com rotina própria para quantificar a atividade dos músculos Vasto Medial (VM), Vasto Lateral (VL), Vasto Intermédio (VI), Reto Femoral (RF) e Glúteo Médio (GMed). A análise estatística empregada foi o Modelo de Efeito Misto com nível de significância de 5%. O coeficiente de correlação intraclasse e interclasse foi aplicado para a análise da confiabilidade intra-examinador e inter-examinador. Os resultados evidenciaram um coeficiente moderado para VM e excelente para VL, VI e GMed na análise intra e inter-examinador. Na análise intermúsculo o VM, VL, VI apresentaram maior atividade do que o RF e GMed no exercício de AGA e ADU, já no exercício de ABD o VI apresentou uma atividade maior do que o RF. Na análise intramúsculo não houve diferença na atividade do GMed e VI entre os três exercícios de agachamento, no entanto, o RF apresentou uma atividade maior no ABD, enquanto o VL no ADU. O VM apresentou uma atividade menor no ABD em relação ao AGA e ADU. A IRMfm é uma ferramenta confiável para quantificar a atividade dos músculos Vasto Lateral, Vasto Medial, Vasto Intermédio e Glúteo Médio. O exercício de agachamento simples promove um recrutamento mais equilibrado das porções do quadríceps do que os exercícios de agachamento associado à adução e abdução isométrica do quadril.

### **INFLUÊNCIA DO TREINAMENTO AERÓBIO SOBRE O CONTROLE AUTONÔMICO DA FREQUÊNCIA CARDÍACA E PRESSÃO ARTERIAL EM RATOS TREINADOS E SUBMETIDOS À INIBIÇÃO CRÔNICA DA SÍNTESE DO ÓXIDO NÍTRICO**

**Bruno Rafael Orsini Rossi**

Orientador: Prof. Dr. Hugo Celso Dutra de Souza.  
Dissertação de Mestrado apresentada em 20/12/2007

Foram investigados os efeitos da inibição crônica da síntese óxido nítrico (NO) sobre o controle autonômico da frequência cardíaca (FC) e pressão arterial (PA) em ratos submetidos ao exercício aeróbio durante 10 semanas. Ratos machos Wistar (N = 56) foram divididos em quatro grupos: ratos sedentários (grupo RS); ratos sedentários sub-

metidos ao tratamento com N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) durante uma semana (grupo RSL); ratos treinados durante 10 semanas em esteira elétrica (grupo RT); ratos treinados durante 10 semanas e que também receberam L-NAME na última semana de treinamento (grupo RTL). O controle autonômico da FC e da PA foi investigado em todos os grupos usando diferentes abordagens. Os resultados mostraram que o grupo RSL apresentou taquicardia (393 ± 8 bpm) em relação ao grupo RS (366 ± 8 bpm), com nível de significância <0,05. Porém, essa mudança parece

ter sido evitada pelo treinamento físico (RTL =  $363 \pm 9$  bpm). Além disso, houve um aumento esperado e estatisticamente significativo nos valores pressóricos dos animais do grupo RSL ( $144 \pm 4$  mmHg) comparado ao RS ( $101 \pm 2$  mmHg). Com relação ao balanço autonômico, houve uma inversão da predominância, que passou de vagal para simpática, nos animais do grupo RSL ( $p < 0,05$ ), o que não ocorreu nos grupos treinados. O grupo RT apresentou bradicardia e menor valor de FC intrínseca após duplo bloqueio farmacológico com metilotropina e propranolol em comparação aos demais grupos ( $p < 0,05$ ). A análise espectral da variabilidade da FC mostrou um aumento estatisticamente significativo na variância total do grupo RTL, quando comparado aos

demais grupos. Na banda de baixa frequência (BF: 0.2-0.75 Hz), foi observado uma redução nos valores do grupo RSL ( $1,45 \pm 0,58$ ) comparado aos demais grupos (RS =  $3,29 \pm 0,59$ ; RT =  $3,62 \pm 0,23$  e RTL =  $5,24 \pm 1,47$ ), com nível de significância  $< 0,05$ . A análise espectral da variabilidade da PA mostrou aumento nos grupos RSL e RTL ( $p < 0,05$ ). As alterações autonômicas sugerem que o treinamento físico aeróbio atenua as alterações desencadeadas pela inibição da síntese de óxido nítrico. Além disso, os resultados demonstram a importância do NO na modulação da PA atuando como tampão. Contudo, o exercício aeróbio foi incapaz de impedir o aumento da variabilidade da PA provocada pela instalação do modelo de hipertensão L-NAME.

## PATOLOGIA

### DADOS MÉDICO-LEGAIS SOBRE VÍTIMAS FATAIS DE ACIDENTE DE TRÂNSITO EM RODOVIAS: BASES PARA UMA PROPOSTA DE MUDANÇA NA LEGISLAÇÃO

**Josiene Germano**

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurélio Guimarães  
Dissertação de Mestrado apresentada em 08/10/2007

Este estudo teve como objetivo estudar algumas características de vítimas fatais de acidentes de trânsito no trecho da Rodovia Anhangüera (SP 330) do quilômetro 250 ao 318 e informações relacionadas a estes acidentes, tendo em vista a possibilidade de elaboração de propostas para redução do índice de mortalidade deste problema de saúde pública. Foi realizada a análise retrospectiva dos acidentes

de 1999 a 2004 e a prospectiva até o ano de 2005. Foram estudados 90 casos, tendo sido constatado predomínio de vítimas do sexo masculino (70%), em idade produtiva (64,4% entre 19 e 50 anos), na sua maioria vítimas de atropelamento (24,4%) e capotamento (21,1%), com horário de maior incidência entre as 18:00 e 23:59 h e dia da semana preferencial às quartas-feiras. O estudo de *causa mortis* e lesões associadas foi prejudicado pela qualidade dos registros e pelo Art. 162 do Código de Processo Penal Brasileiro que permite a não realização de exame interno do cadáver para a verificação de lesões, fato este aqui questionado como necessário de ser modificado na legislação nacional.

### EFEITOS DA *Lychnophora ericoides* (ARNICA BRASILEIRA) NA CARCINOGENESE DE CÓLON INDUZIDA EXPERIMENTALMENTE PELA 1,2-DIMETILHIDRAZINA

**Cleverson Rodrigues Fernandes**

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia  
Dissertação de Mestrado apresentada em 10/10/2007

Os focos de criptas aberrantes (FCAs) e o aumento do índice de proliferação celular do epitélio da mucosa retal (iPCNA) e de ciclooxigenase-2 (COX-2) servem como marcadores do risco de desenvolver o câncer de cólon, sendo usados na detecção precoce dos fatores que influenciam a carcinogênese colônica em ratos. Cinquenta ratos Wistar machos foram aleatoriamente divididos em quatro grupos. Todos os animais dos grupos G1 e G4 receberam quatro

injeções do carcinógeno 1,2-dimetilhidrazina (DMH) por duas semanas, sendo G5 o grupo controle e G1 recebendo apenas o DMH. Os grupos G2, G3 e G4 receberam o extrato de *Lychnophora ericoides* (LE), por 6, 4 e 2 semanas respectivamente. Os grupos G3 e G4 receberam o extrato de LE em fases distintas da carcinogênese, sendo G3 na fase de promoção e G4 na iniciação, e G2 durante as duas fases. Quarenta e dois dias após a primeira injeção de DMH para a indução neoplásica, foi observada redução, estatisticamente significativa, do número de FCAs, COX-2 e do iPCNA em todos os grupos que ingeriram o extrato de LE. Conclui-se que o extrato da *Lychnophora ericoides* atuou como fator inibidor da carcinogênese colônica.

## **INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO NAS EXPRESSÕES DE COX-2, TGF- $\beta$ E FAS NO CÓLON DE RATOS SUBMETIDOS À CARCINOGENESE QUÍMICA**

**Lisandra Vanessa Martins**

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Britto Garcia

Dissertação de Mestrado apresentada em 11/12/2007

Há forte evidência de que o risco de câncer de cólon em humanos é reduzido por níveis apropriados de exercício físico. Vários estudos têm demonstrado que a incidência de câncer de cólon induzida por carcinógeno químico é reduzida significativamente em roedores que são submetidos ao exercício físico. Porém, os mecanismos envolvidos nos efeitos protetores do exercício contra o desenvolvimento do câncer não têm sido bem estabelecidos. A inflamação pode estar envolvida no estágio precoce do desenvolvimento do tumor de cólon. A expressão de genes associados com a inflamação, incluindo a ciclooxigenase-2 (COX-2), está aumentada nos tumores colônicos. Tem-se mostrado também, que o fator de crescimento transformador -  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) inverte de um inibidor do crescimento celular para um estimulador de crescimento e invasão durante a progressão do carcinoma de cólon humano. Outro mecanismo para o desenvolvimento do carcinoma colorretal é o desequilíbrio entre a renovação e morte celular, com a proliferação sendo favorecida. A ocorrência e o desenvolvimento do neoplasma estão estreitamente relacionados com a apop-

tose, e o sistema Fas-FasL foi reconhecido como um importante mediador de apoptose nas células tumorais. Os principais objetivos do presente estudo foram verificar a influência do exercício nas expressões de COX-2, TGF- $\beta$  e Fas em ratos submetidos à ação do carcinógeno químico dimetilhidrazina (DMH). Quarenta ratos Wistars, machos, foram divididos em 4 grupos (G1, G2, G3 e G4). Os grupos G1 e G3 foram sedentários (controle) e os grupos G2 e G4 foram submetidos ao protocolo de treino de exercício adaptado de Venditti; Di Meo (1996). Imediatamente após o protocolo de exercício, os grupos G3 e G4 foram submetidos à aplicação de carcinógeno DMH. Quinze dias após, todos os ratos foram sacrificados. Após análises histológica e imunohistoquímica foram observados aumento nas expressões de COX-2, TGF- $\beta$  e Fas nos ratos submetidos ao DMH (G3 e G4), porém, as expressões de COX-2 e TGF- $\beta$  foram atenuadas no grupo treinado (G4). Em relação ao receptor Fas não houve alteração estatisticamente significativa entre os grupos G3 e G4. Deste estudo, pode-se sugerir que o treinamento físico, exerce efeitos anti-inflamatórios e atenua a expressão do TGF- $\beta$  nas células estromais da mucosa do cólon de animais tratados com DMH. Este pode ser um importante mecanismo para explicar como o exercício pode proteger contra o câncer de cólon.

## **EFEITO DO ÉSTER FENETIL DO ÁCIDO CAFEICO NA LESÃO HEPÁTICA POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO NORMOTÉRMICA EM RATOS**

**Milena Saavedra Lopes**

Orientador: Prof. Dr. Fernando Silva Ramalho

Dissertação de Mestrado apresentada em 19/12/2007

A isquemia hepática é um problema relativamente freqüente na prática clínica, ocorrendo em situações diversas como nas grandes ressecções hepáticas, no choque circulatório e no transplante de fígado. Durante a reperfusão, o fígado é submetido a uma agressão adicional ainda mais intensa que aquela imposta pela isquemia. A lesão por isquemia e reperfusão (I/R) representa a principal causa de disfunção primária do enxerto hepático pós-transplante. O fator nuclear de transcrição kappa B (NF $\kappa$ B), um fator de transcrição envolvido na regulação gênica de uma série de mediadores pró-inflamatórios produzidos no período de reperfusão, desempenha papel central na patogênese da lesão hepática por I/R. O éster fenólico do ácido cafeico

(CAPE), um flavonóide anti-oxidante derivado da própolis, é um potente e específico inibidor do NF $\kappa$ B. Diversos estudos relatam o efeito protetor do CAPE contra a lesão por I/R em diversos órgãos, não obstante seu papel na lesão por I/R hepática ainda ser desconhecido. O presente estudo objetiva investigar o efeito do CAPE na lesão hepática por I/R em ratos.

Ratos machos Wistar foram submetidos à operação simulada, a 60 minutos de isquemia hepática, ou a 60 minutos de isquemia hepática e subsequente tratamento com solução salina ou CAPE (10 $\mu$ mol/kg), seguidos por 6 horas de reperfusão.

A lesão parenquimatosa hepática foi avaliada por um escore histológico de dano tecidual e pela dosagem das aminotransferases séricas alanina (ALT) e aspartato (AST) e da glutatona reduzida (GSH) no fígado. O índice de apoptose hepatocelular foi determinado pela técnica do TUNEL,

enquanto a infiltração hepática de neutrófilos foi quantificada pelo método do Naphthol. A translocação nuclear do NF $\kappa$ B e o produto da peroxidação lipídica foram avaliados pela técnica de imuno-histoquímica para a subunidade p65 do NF $\kappa$ B e para o 4-hidroxinonenal (4HNE), respectivamente.

Os animais submetidos à isquemia hepática apresentaram importante elevação das aminotransferases ALT e AST após a reperfusão, com níveis significativamente menores pós-tratamento pelo CAPE. As concentrações teciduais de GSH diminuíram após a reperfusão em relação ao período pós-isquêmico, e foram parcialmente recuperadas

pelo tratamento com o CAPE. O escore histológico de dano tecidual, a taxa de apoptose hepatocelular e a infiltração hepática de neutrófilos, assim como o índice de marcação pelo 4HNE e pelo p65 NF $\kappa$ B, foram mais elevados nos animais submetidos à I/R em comparação ao grupo isquemia. Entretanto, o tratamento com o CAPE significativamente reduziu todas estas alterações.

O CAPE foi capaz de proteger o fígado contra a lesão por I/R normotérmica em ratos. Este efeito está possivelmente relacionado à inibição da via de sinalização intracelular do NF $\kappa$ B e conseqüente redução da resposta inflamatória tecidual no período pós-reperfusão do fígado.

## SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

### ESTUDO COMPARATIVO ENTRE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DIAGNÓSTICO ANTROPOMÉTRICO DE SOBREPESO OU OBESIDADE

**Rafaela Cristina Ricco**

Orientador: Prof. Dr. Rubens Garcia Ricco

Dissertação de Mestrado apresentada em 18/12/2007

O excesso de peso é um grande problema de Saúde Pública em todo o mundo, inclusive atingindo crianças e adolescentes. Das suas gradações definidas pelo Índice de Massa Corporal (IMC), que são o sobrepeso (IMC entre os percentis de 85 a 95) e obesidade (IMC maior ou superior ao percentil 95), prioriza-se nos atendimentos individuais e nas Políticas Públicas, a questão da obesidade. O presente estudo teve por objetivo verificar se a condição de portador de sobrepeso já não traria consigo alterações desfavoráveis à sua saúde. Foram estudados 84 sujeitos com idades entre 6 e 17 anos, constituindo-se um grupo de 34 sujeitos portadores de sobrepeso e outro de 50 sujeitos obesos, atendidos no Centro Interdisciplinar de Apoio Nutricional da Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), durante o período de outubro de 2004 a outubro de 2005. As variáveis pressão arterial, circunferência abdominal, glicemia de jejum, glicemia de segunda hora (OGTT), colesterol total e suas frações (HDL-c e LDL-c) e triglicérides, foram obtidas de todos os 84 sujeitos, permitindo a comparação entre os dois grupos, através de duas abordagens analíticas: a comparação entre as distribuições dos valores abso-

lutos encontrados, com verificação estatística pelo Teste de Mann-Whitney (com nível de significância de 5%) e a comparação entre as freqüências de valores considerados alterados e não alterados, com verificação estatística pelo Teste Exato de Fisher (com nível de significância de 5%). Quanto à primeira comparação, verificou-se haver diferença estatística apenas para o HDL-c, com maiores valores para o grupo de portadores de sobrepeso, quando considerados os subgrupos de 6 a 10 anos; para todas as outras variáveis não houve diferença estatística entre os grupos. Quanto a segunda comparação, verificou-se haver diferença estatística para a circunferência abdominal (segundo os critérios de Freedman), HDL-c e glicemia de jejum, com maiores freqüências de valores alterados entre os obesos, para as outras variáveis não houve diferença estatística entre os grupos. Pode-se observar ainda que para as variáveis pressão arterial, circunferência abdominal (pelos critérios de Taylor), colesterol total, LDL-c, HDL-c e triglicérides, houve uma proporção considerável de sujeitos com valores alterados, entre os portadores de sobrepeso. Conclui-se que os portadores de sobrepeso, na faixa etária e população estudada, apresentaram alterações indicando prejuízos a sua saúde, à semelhança dos obesos, sendo portanto, necessário incluir os portadores de sobrepeso nos programas de prevenção e tratamento, tanto em seu atendimento individual, quanto nas Políticas Públicas.

## SAÚDE MENTAL

### EFEITO DO ESCITALOPRAM NAS TAREFAS DE ESQUIVA INIBITÓRIA E FUGA EM RATOS SUBMETIDOS AO LABIRINTO EM T- ELEVADO

**Simone Nakao Pinheiro**

Orientador: Prof. Dr. Frederico G. Graeff

Tese de Doutorado apresentada em 30/11/2007

O escitalopram é um inibidor da recaptção de serotonina utilizado no tratamento dos transtornos de ansiedade. Existem evidências clínicas demonstrando que o escitalopram tem início de ação mais precoce no transtorno de pânico e de ansiedade generalizada. O presente trabalho teve como objetivo investigar os efeitos do escitalopram em um modelo experimental de ansiedade, o labirinto em T-elevado (LTE). O LTE tem um braço fechado por paredes que são perpendiculares a dois braços abertos. Através deste modelo realizamos duas tarefas comportamentais: esQUIVA INIBITÓRIA e fuga. A esQUIVA INIBITÓRIA tem relação com o transtorno de ansiedade generalizada e a fuga com o transtorno de pânico. Os ratos foram alocados em cinco grupos, sendo administrado respectivamente por via oral: imipramina (15 mg/kg), escitalopram (2, 4 e 8 mg/kg) e solução salina. Foram utilizados três regimes de administração das drogas: agudo (1dia), sub-crônico (14dias) e crônico (21 dias). Depois da realização do teste no LTE, todos os animais foram colocados em um campo aberto com a finalidade de se medir a atividade locomotora. Os resultados demonstraram que a administração aguda das três doses

de escitalopram prejudicou a esQUIVA INIBITÓRIA (efeito ansiolítico), enquanto a imipramina foi ineficaz. Ambas as drogas não prejudicaram a fuga. Com a administração sub-crônica ambas as drogas foram ineficazes na esQUIVA INIBITÓRIA e na fuga. Depois do tratamento crônico, a esQUIVA INIBITÓRIA foi prejudicada (efeito ansiolítico) pela imipramina e pelas duas maiores doses de escitalopram. Em adição, a imipramina e a maior dose de escitalopram prejudicaram a fuga (efeito panicolítico). A atividade locomotora dos animais foi aumentada pelas três doses de escitalopram administradas cronicamente. Portanto, a imipramina e o escitalopram apresentaram efeito ansiolítico e panicolítico no LTE com o tratamento crônico; Agudamente, somente o escitalopram diminuiu a ansiedade. Os resultados evidenciaram uma ação ansiolítica precoce do escitalopram, similar aos estudos em humanos, porém o efeito panicolítico só foi observado com o tratamento crônico. Nenhum efeito foi observado com o tratamento sub-crônico, sendo que os mecanismos de ação ansiolítica do escitalopram com o tratamento agudo e crônico provavelmente são diferentes. A administração crônica de escitalopram demonstrou um efeito psicoestimulante nos ratos submetidos ao campo aberto. Este estudo reforça o fato de que o escitalopram pode facilitar a aderência ao tratamento devido a sua precoce ação ansiolítica.

### O TESTE DA SIMULAÇÃO DE FALAR EM PÚBLICO EM PACIENTES COM TRANSTORNO DO PÂNICO ASSINTOMÁTICOS

**Alexandre Castelo Branco Vaz Parente**

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guilherme Graeff

Tese de Doutorado apresentada em 14/12/2007

O transtorno do pânico tem sido relacionado a uma via serotoninérgica responsável pelas reações do tipo luta ou fuga que ocorrem em resposta a ameaças proximais. Além disso, o transtorno do pânico também tem sido associado ao teste da simulação de falar em público, visto que este teste avaliaria um medo do tipo inato, incondicionado, e as mesmas estruturas associadas a este tipo de emoção estariam envolvidas na neurobiologia do transtorno do pânico. Assim, nosso estudo objetiva avaliar a resposta ao teste da simulação de falar em público, de pacientes com trans-

torno do pânico sintomáticos e sem tratamento e de pacientes assintomáticos em tratamento com antidepressivos com ação predominante de inibição da recaptção de serotonina, comparados a controles saudáveis. Desta forma, pacientes sintomáticos sem tratamento medicamentoso (N = 14), pacientes assintomáticos em tratamento com clomipramina ou inibidores seletivos da recaptção de serotonina (N = 16) e controles saudáveis foram submetidos ao Teste da simulação de falar em público (N = 16). Ansiedade subjetiva, prejuízo cognitivo e desconforto, medidos pela escala visual analógica do humor, assim como o nível de condutância da pele, foram mais altos nos pacientes sintomáticos do que nos controles no começo da sessão experimental, com os pacientes assintomáticos apresentando



valores intermediários. Na escala de sintomas somáticos, o principal resultado encontrado foi a maior intensidade de sintomas somáticos entre os pacientes, principalmente sintomáticos, em relação aos controles. Sedação subjetiva, flutuações espontâneas da condutância da pele, frequência cardíaca e pressão arterial foram semelhantes nos três grupos. A preparação e o desempenho do discurso diminuíram a sedação enquanto aumentavam a ansiedade, o prejuízo cognitivo, o nível e as flutuações da condutância

da pele, a frequência cardíaca e a pressão arterial. Ansiedade, prejuízo cognitivo e nível de condutância tiveram menor aumento em pacientes sintomáticos do que em controles. Atividade eletrodérmica, mas não as medidas cardiovasculares, correlacionou-se com ansiedade antecipatória. O tratamento crônico com inibidores da recaptção de serotonina atenuou as diferenças entre pacientes com pânico e controles, confirmando a participação da serotonina no transtorno do pânico.

## SAÚDE NA COMUNIDADE

### ADESÃO AO TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DE PACIENTES HIPERTENSOS SEGUIDOS NOS NÚCLEOS DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO PRETO, SP

**Andrea Queiróz Ungari**

Orientador: Prof. Dr. Amaury Lelis Dal Fabbro

Dissertação de Mestrado apresentada em 06/11/2007

Estima-se que a adesão dos pacientes à farmacoterapia anti-hipertensiva varie entre 50 - 70%. A baixa adesão ou não adesão ao tratamento farmacológico anti-hipertensivo constituem problemas de saúde pública e devem ser compreendidos como um dos maiores obstáculos para o sucesso do tratamento da hipertensão arterial. A elevada prevalência desta condição clínica e seqüelas devastadoras no controle inadequado da pressão arterial tem sido frequentemente relacionadas à mortes precoces. Este estudo tem como objetivo estudar a adesão ao tratamento farmacológico em pacientes hipertensos seguidos nos Núcleos de Saúde da Família I, III, IV e V do município de Ribeirão Preto – SP. Foram entrevistados 109 pacientes, utilizando-se o Teste de Morisky- Green para mensurar o grau de adesão ao tratamento farmacológico e foram estudadas variáveis que possam estar relacionadas ao grau de adesão, como: características sócio-econômicas; fatores relacionados à equipe e ao

serviço de saúde; fatores relacionados à terapia; nível de conhecimento sobre a doença e fatores relacionados ao paciente. A análise dos dados foi realizada utilizando-se o programa estatístico Epi-Info versão 6.0 e o *software* SAS. Observou-se predomínio do sexo feminino em 84,4%, idade média de 61,4 anos, 56% casados, 81,7% de cor branca, 65,2% apresentavam baixa escolaridade e 45% eram do lar. A adesão dos pacientes foi verificada utilizando-se os critérios 1 e 2 do Teste de Morisky e Green. Através do Critério 1 do TMG, 79,8% dos pacientes foram classificados como “mais aderentes” e 20,2% como “menos aderentes”. Utilizando-se o Critério 2, 43,1% dos pacientes foram “mais aderentes” e 56,9% “menos aderentes”. Em relação às possíveis causas da não adesão ao tratamento, identificou-se associações estatisticamente significantes entre as variáveis “confiança no médico” e “quantidade de medicamentos para HAS que utiliza” com o grau de adesão pelo Critério 2 do TMG. O farmacêutico é um profissional de saúde que, através da Atenção Farmacêutica vem estudando e identificando as causas da baixa adesão ao tratamento e implementando estratégias, junto ao paciente, para resolvê-las.

### OBESIDADE EM PRÉ-ESCOLARES ATENDIDOS PELO PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DE RIBEIRÃO PRETO – SP

**Marina Manduca Ferreira**

Orientador: Prof. Dr. Amaury Lelis Dal Fabbro

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/11/2007

Considerada um dos principais problemas de Saúde Pública em todo o mundo, a obesidade vem crescendo de forma significativa entre a população infantil devido às mu-

danças no estilo de vida e aos hábitos alimentares. Sabe-se que a obesidade na infância tende a continuar na fase adulta, levando a diminuição da expectativa de vida e maior risco de doenças. O conhecimento epidemiológico que aponte grupos com maior chance de desenvolver sobrepeso e obesidade traz importantes contribuições na abordagem clínica da doença. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi esti-

mar a prevalência de excesso de peso em pré-escolares de 2 a 5 anos assistidos pelo Programa de Saúde da Família na cidade de Ribeirão Preto - SP; descrever características socioeconômicas e demográficas das famílias; descrever aspectos alimentares e antropométricos das crianças e investigar possíveis associações entre as variáveis. Trata-se de um estudo transversal, no qual foram coletados dados antropométricos (peso, altura, pregas cutâneas e circunferências) e aplicado um questionário sobre dados socioeconômicos, demográficos e de consumo alimentar. Para diagnóstico de excesso de peso foi usado o escore-Z de peso/altura  $\geq +1$ . Foram estudados 155 pré-escolares com média de idade de  $4,3 \pm 1,0$  anos, sendo 80 (51,6%) meninas e 75 (48,4%) meninos. As prevalências encontradas foram: 16,8% de subnutrição; 62,6% de eutrofia; 20,6% de excesso de peso, sem diferença entre os sexos ( $p=0,92$ ). As famílias eram, em sua maioria, (63%) nucleares, tinham em média  $4,8 \pm 1,8$  membros e 25% das crianças viviam sem o pai biológico. A escolaridade das mães e dos chefes da família e a classificação de estimativa de renda não mostraram associação com os esta-

do nutricional das crianças. O peso e o IMC da mãe foram maiores no grupo de crianças com excesso de peso ( $p<0,01$ ). Todas as medidas de circunferências (CB, CC, CA e CQ) foram significativamente maiores no grupo de excesso de peso ( $p<0,01$ ). Dentre as medidas de pregas cutâneas (PCB, PCT, PCSI e PCSE) destacam-se os valores da PCT ( $7,8 \pm 1,8$ ;  $9,0 \pm 1,6$ ;  $13,6 \pm 4,4$ ) e da porcentagem de gordura corporal ( $10,1 \pm 2,5$ ;  $15,3 \pm 2,7$ ;  $22,3 \pm 6,1$ ) que, respectivamente para os grupos subnutrição, eutrofia e excesso de peso, apresentaram diferenças significativas ( $p<0,01$ ). A base da alimentação das crianças, para todos os grupos, era arroz, leite, feijão, pão e carnes e alimentos com alta densidade calórica como bolachas, doces, refrigerantes e salgadinhos que apresentaram consumo frequente. Foi encontrada prevalência de excesso de peso condizente com a situação de transição nutricional do país e as medidas de composição corporal das crianças indicam excesso de gordura corporal. Ações voltadas para Educação Alimentar e Nutricional para as crianças e suas famílias são fundamentais para se evitar o agravamento do problema num futuro próximo.

## ANÁLISE DOS SISTEMAS DE INFORMAÇÃO DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO: RUMO AO SISTEMA DE INFORMAÇÃO GERENCIAL

**Wilson Moraes Góes**

Orientador: Prof. Dr. Juan Stuardo Yazlle Rocha

Dissertação de Mestrado apresentada em 13/11/2007

Esta pesquisa tem como objetivo analisar o sistema de informação do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto USP a fim de identificar quais são os problemas que afetam a geração de informações gerenciais no nível estratégico, bem como a elaboração do plano de desenvolvimento e etapas necessárias para a construção de um sistema de informações gerenciais. Trata-se de uma revisão bibliográfica de publicações como: livros, artigos, dissertações de Mestrado e teses de doutorado, acerca de Sistemas de Informações, Sistemas de Informações Gerenciais, Sistemas de Informações Hospitalares, Inteligência de Negócios, Gestão em Saúde e Gestão Hospitalar. Numa primeira etapa foi feita a leitura dos resumos dos estudos encontrados, a fim de averiguar a adequação desses estudos aos objetivos deste trabalho. Na segunda, foi feita a leitura integral dos trabalhos que foram selecionados na primeira, onde foi observada a coerência entre proposta, metodologia e resultados de tais trabalhos. Na terceira, foi elaborado um plano de desenvolvimento e etapas necessárias para a construção de um sistema de informações gerenciais para algumas áreas de negócio do hospital. Na última década, pelo menos nas grandes corporações de saúde e em alguns poucos hospitais de menor porte do país este panorama experimentou um crescimento bastante expressivo. O processo de informatização hospitalar é bastante com-

plexo, principalmente em um hospital universitário que além de assistência a saúde trabalha em prol do ensino e pesquisa. Um sistema de informação hospitalar é concebido a fim de atuar e contribuir em três níveis hierárquicos: operacional, gerencial e estratégico. O hospital possui um sistema de informação integrado composto de quatro dezenas de subsistemas integrados. Os gastos do hospital, levados por diversos fatores, são cada vez maiores. Seria necessário um incremento no montante dos recursos alocados como também uma racionalidade na aplicação dos mesmos. Os gestores devem conseguir aumentar a produtividade a fim de alcançar maiores níveis de cobertura para satisfazer as necessidades dos usuários dos serviços de saúde. Fica evidente a necessidade de transformar dados em informações para a tomada de decisões gerenciais. Grande parte dos dados que necessitamos está armazenada nos sub-sistemas do HCFMRP, porém transformá-los em informações não é tarefa fácil. Não há nada de errado com estes sistemas e seus bancos de dados operacionais, os mesmos em primeira instância foram criados para dar suporte aos processos da empresa e suas operações, seus dados estão armazenados de maneira pormenorizada, ou seja, nos mínimos detalhes, prejudicando assim outras funções como apoio a tomada de decisão gerencial. Torna-se necessário à existência de um ambiente propício para consultas específicas com acessos rápidos e disponibilidade de informações. A fim de vencer este desafio a tecnologia de *Data Warehouse* se apresenta como alternativa para simplificar, agilizar e qualificar o processo de apoio à tomada de decisão gerencial.

## QUALIDADE DE VIDA DOS PACIENTES PORTADORES DE DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA

**Antonio Pereira de Souza Júnior**

Orientador: Prof. Dr. Jair Lício Ferreira Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 22/11/2007

Com a recente transição epidemiológica no Brasil, as doenças crônicas, incluindo a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (COPD), ocupa agora posições principais na morbidade e mortalidade do país. Nas últimas décadas a pesquisa sobre qualidade de vida tem sido realizada em pacientes com DPOC, para complementar a avaliação destes doentes, vários estudos mostraram considerável comprometimento da qualidade de vida nesta população. O objetivo geral da presente pesquisa foi avaliar a qualidade de vida dos pacientes com DPOC. O estudo foi realizado com 70 pacientes de ambos os sexos do Ambulatório Regional de Especialidades de Catanduva destes 30 tinham a associação de co-morbidades. A medida de qualidade de vida foi obtida pelo questionário genérico World Health Organization Quality of life, versão abreviada (WHOQOL-bref). Foi aplicado o Teste de Caminhada dos 6 minutos

(TC6), para avaliar a capacidade física, e para avaliar a dispnéia foi utilizado o Índice de Dispneia de Mahler (IDM) e a Escala de Borg. A análise dos dados foi realizada por meio de estatística descritiva, média mediana e desvio padrão, para verificar a correlação entre os dados foi utilizado o teste exato de Fisher, teste "t", Mann Whitney e o Kruskal-Wallis. Os resultados indicam que quanto a caracterização sócio-demográfica a maioria da população é composta por idoso. Não Houve diferença estatisticamente significativa envolvendo as variáveis sócio-demográficas. O IDM e o WHOQOL-bref apresentaram correlação significativa nos domínios físico, psicológico e ambiental, a Escala de Borg e o WHOQOL-Bref apresentaram correlação significativa nos domínios físico e psicológico e o TC6 apresentou correlação significativa com o IDM. Não houve correlação estatisticamente significativa no que diz respeito a qualidade de vida entre o grupo de pacientes com e sem co-morbidades associadas. Os resultados indicam a relevância de avaliar a qualidade de vida nesses pacientes com a intenção de auxiliar no tratamento dos mesmos.

## ESTUDO DA OCORRÊNCIA DE MENINGITES NÃO MENINGOCÓCICAS NO MUNICÍPIO DE RIBEIRÃO PRETO-SP, NO PERÍODO DE 1998 A 2005

**Carlos Alberto Pedreira de Freitas**

Orientador: Prof. Dr. Afonso Dinis Costa Passos

Dissertação de Mestrado apresentada em 23/11/2007

O objetivo deste trabalho foi estudar a ocorrência de meningites não meningocócicas no município de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, no período compreendido entre 1998 e 2005. Foi realizado um estudo epidemiológico descritivo centralizado na Divisão de Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, a partir dos registros do Sistema Nacional de Informação das Doenças de Notificação Compulsória (SINAN W). No período avaliado foram notificados e confirmados 1411 casos de meningites não meningocócicas. Observou-se ocor-

rência predominante no sexo masculino (62.9%), em todas as faixas de idade. O grupo etário mais atingido foi o das crianças de 5 a 9 anos (24.7%), seguido pelos indivíduos de 1 a 4 anos (23.5%). O grupo de 30 anos ou mais correspondeu a 20.5% dos casos, enquanto os menores de um ano de idade representaram 8.9% das ocorrências. No que diz respeito à etiologia, verificou-se predomínio das meningites virais (58.7%), seguidas das bacterianas (26.3%), de etiologia pneumocócica (5.7%) e das causadas por outros agentes (4.2%). Em 3.1% dos casos a etiologia não foi determinada. Quanto à evolução clínica, observou-se cura em 89.2% e ocorrência de óbito em 9.4%, sendo que em 1.4% dos casos essa informação não foi registrada. Sequelas foram referidas em 1.7% dos pacientes, com ausência dessa informação em 65.5% do total de casos.

## AVALIAÇÃO ECONÔMICA DO IMPACTO DA ATIVIDADE DE ATENÇÃO FARMACÊUTICA NA ASSISTÊNCIA À SAÚDE: ASPECTOS METODOLÓGICOS

**Felipe Dias Carvalho**

Orientador: Prof. Dr. Juan Stuardo Yazlle Rocha

Dissertação de Mestrado apresentada em 23/11/2007

A atenção farmacêutica (ATENFAR) é uma nova prática clínica, inerente ao profissional farmacêutico, que

tem como principais objetivos a prevenção de doenças, a promoção e a recuperação da saúde de usuários de serviços sanitários, através do fomento ao uso racional de medicamentos. Vários estudos realizados no Brasil e no exterior mostram que a atividade de ATENFAR pode propiciar muitos benefícios aos tratamentos de saúde que fazem uso de

farmacoterapia, resultando no aumento da efetividade do tratamento e na melhoria da qualidade de vida dos pacientes. Além disso, alguns estudos mostram que a ATENFAR exerce influência sobre os custos assistenciais, sendo esta informação de grande importância para que se discuta a inserção desta prática em programas de saúde coletiva. Devido à escassez de estudos econômicos sobre serviços de ATENFAR, este trabalho levantou informações, por meio de pesquisa bibliográfica, acerca dos temas Economia da Saúde, Atenção Farmacêutica e Avaliação em Saúde e analisou a aplicabilidade e adequação dessas informações aos referidos estudos.

A análise das publicações encontradas através da revisão bibliográfica realizada permitiu concluir que:

- As análises econômicas tipo custo-minimização, tipo custo-efetividade, tipo custo-utilidade e tipo custo-benefício são aplicáveis a serviços de ATENFAR;
- Os custos relativos aos salários dos farmacêuticos, dos auxiliares e dos demais membros da equipe de saúde; ao transporte do paciente ou da equipe de saúde;

aos materiais de consumo; aos medicamentos; às internações hospitalares; aos atendimentos médicos de urgência; às sensações de dor, de tristeza, de mal estar; aos dias de trabalho perdidos; à necessidade de um cuidador; ao aluguel do espaço destinado ao serviço; são custos que devem ser levantados em uma avaliação econômica de serviços de ATENFAR;

- A melhoria em parâmetros clínicos e na qualidade de vida de pacientes atendidos por serviços de ATENFAR e a economia de recursos financeiros, são possíveis resultados gerados por esses serviços;
- As análises econômicas de serviços de ATENFAR podem ser realizadas sob a perspectiva do paciente, da instituição de saúde, do plano de saúde, do sistema de saúde, da sociedade ou de qualquer outro agente que tenha interesse em realizar uma avaliação econômica de tais serviços;
- Os modelos de estudos epidemiológicos mais indicados para serem utilizados em análises econômicas de serviços de ATENFAR são o modelo experimental e o modelo observacional longitudinal tipo coorte prospectivo.

## ESTUDO DA OCORRÊNCIA DE CASOS CONFIRMADOS DE RAIVA BOVINA NO MUNICÍPIO DE GUAXUPÉ, MINAS GERAIS

**Andrea Magalhães Barbosa Dallora**

Orientador: Prof. Dr. Amaury Lelis Dal Fabbro

Dissertação de Mestrado apresentada em 27/11/2007

A raiva bovina continua sendo uma importante zoonose. A ocorrência de casos confirmados da doença no meio rural é um problema atual de saúde pública, sendo mais relevante quando se consideram os casos de raiva humana que ocorreram nos últimos anos no país. Este projeto teve por objetivo estudar a situação da raiva bovina no município de Guaxupé – MG, considerando: a presença do morcego hematófago no município; o nível de conhecimento dos produtores/empregados rurais sobre a raiva; a vacinação contra a raiva bovina; a notificação de casos da doença junto ao Instituto Mineiro Agropecuário (IMA); os casos confirmados de raiva animal. Quanto à metodologia, foram realizados: um levantamento de dados secundários junto ao IMA e junto à Vigilância Epidemiológica da Gerência Regional de Alfenas – MG, da qual faz parte o município de Guaxupé; a aplicação de um questionário sobre a raiva bovina junto a uma amostra de produtores/empregados rurais do município. Foi feita uma estratificação da amostra em dois grupos, sendo o questionário aplicado em 35 pequenas e médias propriedades e em cinco grandes propriedades. De acordo com os dados do IMA, durante o período de 1999 a 2003, foram realizados 34 exames laboratoriais para diagnóstico da raiva, entre eles, 10 foram considerados positivos, sendo oito da espécie bovina e dois da espécie equina. Com relação ao conhecimento de produto-

res/empregados rurais sobre a raiva, constatou-se que 74,3% consideram o veterinário como uma importante fonte de informação; 85% procuram o veterinário se houver um animal doente; 97,5% conhecem a importância da vacinação; 72,5% indicaram a salivação aumentada do animal como sintoma característico da doença; 58,3% indicaram o carbúnculo como doença que se confunde com a raiva; 90,0% afirmaram ser o morcego hematófago o transmissor da doença; 57,1% afirmaram aplicar algum tipo de produto em mordeduras por morcegos; 92,5% afirmaram ter conhecimento da presença do morcego em sua propriedade; 17,5% afirmaram ter tido caso confirmado de raiva na propriedade; 53% apontaram galpões de secador de café como abrigo para os morcegos; 90% afirmaram vacinar o rebanho durante as campanhas de vacinação. Com relação aos dados da Vigilância Epidemiológica, entre os anos de 2000 e 2006, ocorreram 587 casos de agressão por animais no município de Guaxupé. Desses casos, 24,3% ocorreram com crianças de até nove anos de idade; 91,5% ocorreram na zona urbana; 82,9% dos ferimentos foram por mordedura; 49,0% foram nas mãos; em 78,2% dos casos a espécie agressora era a canina; ocorreu apenas um caso de raiva canina com diagnóstico laboratorial e quatro casos de raiva animal com diagnóstico clínico. Esses estudos permitiram concluir que ainda é atual a necessidade de manter todas as ações que visam o controle da raiva, especialmente a vacinação; é importante a realização de um trabalho de conscientização com relação aos casos de agressão por animais, especialmente os cães.

## REGISTRO DE ERROS DE PRESCRIÇÃO RELACIONADOS AOS MEDICAMENTOS UTILIZADOS NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

**Alexandra Cruz Abramovicius**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Ruffino Netto

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/11/2007

Dada a importância de um sistema de prescrição, a possibilidade de ocorrências de erros no referido sistema e as conseqüências de tais erros nos resultados da terapia medicamentosa oferecida aos pacientes de uma Instituição, resolvemos desenvolver o presente trabalho. Os objetivos deste trabalho foram analisar o registro de erros relacionados à prescrição de medicamentos à pacientes internos, preparados e dispensados pela Divisão de Assistência Farmacêutica do Hospital das Clínicas da FMRP-USP, bem como contribuir para a melhoria e aprimoramento do sistema de prescrição de medicamentos e conseqüentemente para o uso seguro e racional dos mesmos no Hospital das Clínicas da FMRP-USP. Foi efetuado um estudo descritivo, inquérito prospectivo. Teve como população de referência prescrições médicas e como população de estudo as prescrições médicas elaboradas pelos médicos no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Os participantes foram as prescrições que satisfizeram os critérios de inclusão, quais sejam: prescrições médicas do Hospital das Clínicas da FMRP-USP a partir do mês de outubro de 2006, até atingir o tamanho amostral. Foi utilizada uma amostragem de conveniê-

cia até completar o número (n) de 3.456 prescrições.

Depois de analisadas 3.456 prescrições concluímos que 9,05% das mesmas 17 apresentaram erros (IC entre 9% e 11%); 61,3% apresentaram erro administrativo, 20,8% erro de prescrição e 17,9% erros administrativos e erros de prescrição concomitantemente. Os erros administrativos e de prescrição foram mais freqüentes entre os médicos residentes e docentes e os erros administrativos concomitantes com os de prescrição foram entre os docentes; a versão II da prescrição eletrônica apresentou 79,8% de erros seguida da prescrição liberada pela enfermagem, que apresentou 15,4%; as clínicas que apresentaram maior quantidade de erros, por ordem decrescente, foram a Dermatologia, com 9,6%, a Urologia e Cardiologia com 8%, a Neurocirurgia com 7,0%, o Centro de Terapia Intensiva com 6,7% e a Proctologia e Gastrocirurgia, com 6,4%; o erro de leito do paciente foi o mais freqüente e cometido pelo médico residente 65,8%, seguido pelo médico contratado 25,6%; o erro de medicamento foi o erro de prescrição de maior freqüência, seguido pelo erro de dose e posteriormente pelo nome comercial; a maior freqüência de erros administrativos foi detectada na Dermatologia, seguida pela Cardiologia, Neurocirurgia e Gastrocirurgia; a maior freqüência de erros de prescrição foi observada na Ortopedia, Hematologia e Imunologia; a maior freqüência de erros de dose foi detectada na Ortopedia.

## APOIO SOCIAL PARA DEPENDENTES DO ÁLCOOL

**Ana Lígia Oliva**

Orientador: Prof. Dr. Milton Roberto Laprega

Dissertação de Mestrado apresentada em 07/12/2007

O consumo abusivo do álcool e suas conseqüências vêm aumentando significativamente, constituindo sério problema para a saúde pública. Esses problemas representam alto custo social e comprometem diversas áreas da saúde. O presente estudo é do tipo descritivo e tem como objetivo identificar o apoio social para dependentes do álcool e analisar suas relações. A amostra foi composta por 50 usuários, cadastrados, e em atendimento no Centro de Atenção Psicossocial - Álcool e Drogas -CAPS ad.II, de Ribeirão Preto, com diagnóstico de síndrome de dependência do álcool. Para a coleta de dados foi utilizado questionário estruturado com perguntas fechadas, dividido em três partes: as informações sociodemográficas, o teste de identificação do uso do álcool (Audit) e o instrumento de apoio social Medical Outcomes Study (MOS). Resultados:

43(86%) do sexo masculino, 26(46%) solteiros, 26(52%) adultos, faixa etária entre 30 e 49 anos, com baixo nível de escolaridade 31 (62%), pois tinham o ensino fundamental completo ou incompleto, e 21 (42%) estavam desempregados. Com relação ao uso do álcool, 44(88%) apresentaram níveis de provável dependência, ou dependência, do álcool, e 31 (62%) iniciaram o uso do álcool na adolescência, entre 12 e 18 anos. Referente ao apoio social (apoio material, apoio afetivo mais interação social positiva, apoio emocional mais apoio de informação) de um modo geral, observou-se que os usuários apresentaram apoio social baixo, quando comparados os tipos de apoio, encontrou-se associação entre apoio afetivo e interação social positiva e a faixa etária, principalmente na idade de 50 anos, pois a chance de não terem apoio é 15 vezes maior quando comparado aos mais jovens. Os achados do presente estudo apontam para o desenvolvimento de programas direcionados a fortalecer o apoio social durante e após o tratamento do uso abusivo o álcool.

## QUALIDADE DE VIDA DE INFARTADOS INSERIDOS EM PROGRAMA DE REABILITAÇÃO CARDIOVASCULAR AMBULATORIAL

**Flávia Calixto Xavier**

Orientador: Prof. Dr. Jair Lício Ferreira Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 7/12/2007

Nas últimas décadas, as doenças crônicas têm desempenhado um importante papel na morbimortalidade da população mundial. Entre as doenças cardiovasculares, o infarto do miocárdio (IM) tem se tornado um grande problema de saúde pública com conseqüências que perduram, alteram-se ou somam-se, durante ou após o tratamento da doença. Essas complicações exigem, sempre, uma atenção especial e envolvem variados aspectos da vivência física, social e emocional do paciente cardiopata e de seus familiares em busca da sua Qualidade de Vida (QV). O infarto do miocárdio reduz acentuadamente o funcionamento físico, emocional e profissional, e a percepção da própria saúde tem um impacto negativo sobre os níveis de energia e vitalidade, o que pode reduzir ou limitar as interações sociais e causar problemas relacionados à saúde do indivíduo. Um programa de reabilitação cardiovascular apresenta objetivos profiláticos, visando reduzir o impacto físico e psicossocial das condições incapacitantes e limitantes que acometem o indivíduo após evento coronariano, objetivando assim, restaurar e aumentar a sua capacidade funcional, de modo que se obtendo considerável melhora da qualidade de vida e prognóstico. O objetivo geral deste estudo foi avaliar e mensurar a qualidade de vida de infartados inseridos em programa de reabilitação cardiovascular (RCV) am-

bulatorial. O estudo do tipo longitudinal foi realizado com 16 pacientes de ambos os sexos internados após evento coronariano no Hospital do Coração da Santa Casa de Misericórdia de Franca e encaminhados para a Clínica Escola de Fisioterapia da Universidade de Franca para a realização da RCV. Foram coletados dados sociodemográficos e clínicos. As medidas de qualidade de vida e capacidade física foram obtidas no momento inicial do tratamento e após 12 semanas de treinamento físico utilizando dois questionários: “MacNew Heart Disease Health-related Quality of Life Questionnaire”, específico para avaliar cardiopatas e o questionário genérico World Health Organization Quality of Life, versão abreviada (Whoqol-bref). Foi aplicado também o Teste de Caminhada de 6 minutos (TC 6), para avaliar a capacidade física. Os resultados indicam que houve aumento significativo em todos os domínios dos questionários de qualidade de vida (MacNew e Whoqol-bref) e na capacidade física avaliada pelo TC 6, comparando os dados iniciais com os dados finais após treinamento físico de 12 semanas. Diante o exposto, A RCV, torna-se um elemento potencializador de saúde pública visto que promove a melhora da qualidade de vida e da capacidade física nesta população. Avaliar a qualidade de vida de infartados reveste-se de grande importância científica e social por permitir a implementação de alternativas válidas de intervenção, tanto em programas de fisioterapia, quanto em políticas sociais, no intuito de promover saúde e aumentar a qualidade de vida.

## CAPACIDADE FUNCIONAL DE INDIVÍDUOS IDOSOS PORTADORES DA DOENÇA DE ALZHEIMER

**Gisele Gonçalves Garcia Perroni**

Orientador: Prof. Dr. Antonio Ruffino Netto

Dissertação de Mestrado apresentada em 10/12/2007

**Introdução:** A doença de Alzheimer (DA) é considerada um dos importantes problemas de Saúde Pública, significando, portanto, grande desafio para a gerontologia e geriatria. É causa mais comum de demência que cursa com declínio cognitivo e funcional e alterações comportamentais, porém, poucos estudos relatam a correlação existente entre o declínio motor, considerando o equilíbrio, a força e a implicação na capacidade funcional e na ocorrência de quedas nessa população, principalmente na fase inicial da DA.

**Objetivos:** Identificar o grau de capacidade funcional dos idosos portadores da DA e adequação do seu ambiente domiciliar propício às suas atividades de vida diária, e ocorrência de quedas, proporcionando, assim, melhor qualidade de vida.

**Métodos:** Foi efetuado um estudo epidemiológico descritivo, tipo inquérito prospectivo. Foram estudados 30 pacientes portadores de DA, com idade acima de 60 anos. Foi utilizada avaliação pessoal do paciente, do ambiente e instrumento de avaliação da Medida de Independência Funcional (MIF).

**Resultados e Conclusões:** Dos pacientes estudados, 60% eram do sexo feminino, 47% a profissão era do lar, o intervalo modal do tempo de DA foi de 1,5 - 2 anos e 57% deles apresentaram pelo menos uma queda. Em relação aos cuidadores, 80% eram do sexo feminino e apresentaram média de idade de 59 anos. Em relação à MIF, foi observado grau 6 (independência modificada) nos parâmetros: função banho (70%), controle de esfíncter (27%), função transferência (90%), função locomoção (83%). Na função cognitiva, 100% dos pacientes apresentaram grau 5 em pelo menos uma função. Sobre o ambiente, observou-se que os principais fatores de risco foram calçados inadequados, móveis

soltos pelo caminho, altura inadequada do vaso sanitário e ausência de barras de apoio. Através da MIF, pôde-se avaliar o grau de comprometimento das funções cognitivas/sociais e identificar a independência modificada das fun-

ções motoras dos pacientes com DA, a na fase leve. Sendo assim, a MIF é considerada bom e importante instrumento para avaliar o nível de independência funcional dos pacientes com DA leve.

## CONTRACEPÇÃO NA ADOLESCÊNCIA: CONHECIMENTO SOBRE MÉTODOS ANTICONCEPCIONAIS ENTRE ALUNOS DE ESCOLAS PÚBLICAS MUNICIPAIS DE RIBEIRÃO PRETO – SP

**Silvia Cristina Souza Dib**

Orientador: Prof.Dr. Jair Lício Ferreira Santos

Dissertação de Mestrado apresentada em 13/12/2007

Este estudo teve como objetivo analisar o conhecimento sobre métodos anticoncepcionais (MAC) e identificar as variáveis associadas ao conhecimento adequado sobre o tema, em adolescentes de escolas públicas municipais de Ribeirão Preto-SP. Consiste em um estudo do tipo transversal, desenvolvido segundo uma abordagem quantitativa. Foram escolhidas, intencionalmente, duas escolas municipais. A amostra foi constituída por cento e vinte (120) adolescentes, de ambos os sexos, com idade de 13 a 16 anos. A coleta de dados ocorreu no período de 05/03/2007 a 16/03/2007, sendo que o instrumento para a coleta foi um questionário semi-estruturado. Os resultados mostraram que os adolescentes deste estudo pertenciam ao grupo de idade entre 13 - 14 anos (81,7%), sendo que adolescentes com 15-16 anos representaram a menor parte (18,3%). O sexo masculino representou 51,6% da amostra e, o feminino, 48,4%. A iniciação sexual ocorreu com 13 anos para ambos, no sexo feminino com (71,43%) e no sexo masculino (41,18%). Com relação ao uso da camisinha masculina 57,5% dos adolescentes entrevistados não utilizaram a camisinha e 28,3% a utilizaram em suas relações sexuais. Quanto ao uso de métodos anticoncepcionais, para a primeira relação, os resultados mostraram que 36,7% não fizeram uso de nenhum tipo de método, e 54,2% não responderam. Em relação segundo o local de obtenção dos MAC os resultados mostraram que

75,8% obtinham no posto de saúde através do médico e 50,7% em farmácias. Sobre a diversidade de métodos anticoncepcionais, o trabalho mostrou que 45% não conheciam nenhum método, seguido de 20,8% que conheciam apenas um; 5,8% conheciam dois tipos e 10,8% conheciam três. Os métodos anticoncepcionais mais conhecidos foram os de barreira, como o preservativo masculino (45,8%) e o feminino (30,8%), seguidos os anticoncepcionais orais (28,3%). No que diz respeito às fontes de informações e orientações desses métodos, a escola foi a mais citada pelos alunos, com 51,7% e, logo em seguida, surge a família, com 40,8% e a televisão, também com cerca de 40%. O estudo evidenciou que as estratégias mais utilizadas pela escola para informar sobre sexualidade, gravidez na adolescência e os métodos anticoncepcionais foram: no decorrer das aulas (40,8%), e em seguida com a palestra (32,5%). Entre os temas discutidos em sala de aula com o professor, o mais citado foi sexualidade, com 57,4%. Sobre o diálogo em família, os entrevistados consideraram a mãe o elo de comunicação mais importante sendo avaliado como bom por 79,2% dos entrevistados. Dos diversos tipos de atendimento à saúde, recebido na Unidade Básica pelo adolescente, a consulta médica foi o mais citado pelos entrevistados, com 48,2%. O estudo mostrou ainda que o conhecimento sobre os métodos anticoncepcionais não garante o seu uso. Entretanto, a disponibilidade de maior número de serviços e orientações sistematizadas sobre tais métodos podem favorecer a mudança de atitudes dos adolescentes em relação a uma prática de uso eficiente e preventivo em relação aos MAC.