

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

BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

**PARACOCINA: DETECÇÃO EM LEVEDURAS, MICÉLIO E FORMAS DE
TRANSIÇÃO DE *Paracoccidioides brasiliensis***

Vânia Sammartino Mariano

Orientadora: Profa.Dra. Maria C. R. Antunes Barreira
Dissertação de Mestrado apresentada em 07/02/2007

Paracoccidioides brasiliensis (Pb), agente causador da paracoccidioidomicose (pcm), é um fungo dimórfico termo-dependente. A forma miceliana, encontrada na natureza (26°C), é produtora de conídios, que podem ser inalados e converterem-se em leveduras à temperatura corporal (36°C), causando a doença.

Embora lectinas sejam secretadas por muitos fungos, seu papel ainda não é bem estabelecido, assim como o da lectina paracoccina, secretada pelo Pb. Portanto, o presente estudo teve por objetivos caracterizar a expressão de paracoccina em hifas, formas de transição micélio-levedura (TML) e leveduras, bem como avaliar a expressão da lectina após exposição à anfotericina B.

Anticorpos anti-paracoccina utilizados em ensaio de Western blot (WB) foram capazes de reconhecer a paracoccina em formas miceliana e de transição micélio-levedura (TML, micélio transferido para cultura em 36°C).

Em hifas, a detecção de paracoccina foi aparentemente semelhante nos diversos tempos de cultivo avaliados. Em formas de TML, a expressão máxima de paracoccina foi nas primeiras 24 horas, com decréscimo progressivo até 72 horas e posterior estabilização.

O uso dos mesmos anticorpos foi capaz de localizar a paracoccina de maneira pontuada e superficial em hifas cultivadas por 7 dias a 26°C, por microscopia confocal de fluorescência. A imunolocalização de paracoccina nas formas de TML foi visualizada nas extremidades de hifas (a 36°C), bem como em clamidósporos.

A imunolocalização de paracoccina, por microscopia confocal de fluorescência, em leveduras cultivadas por 4 dias a 36°C foi predominantemente intracelular, com disposição sugestiva de direcionamento para regiões de brotos.

A expressão de paracoccina por leveduras cultivadas por tempo diferente foi mais bem estudada por citometria de fluxo. Leveduras não permeabilizadas por metanol apresentaram expressão crescente de paracoccina com o decorrer do tempo de cultivo, enquanto a permeabilização com metanol não alterou a expressão desta proteína.

A paracoccina também foi detectada em hifas e leveduras expostas a anfotericina B (AmB) por 7 dias. Hifas cultivadas com AmB não negataram a expressão da proteína; apresentaram, ainda, alta frequência de clamidósporos marcados para paracoccina, sendo que a localização de tal lectina parece ter predominância interna. Leveduras expostas à mesma droga também mantiveram marcação para paracoccina, com predomínio da localização intracelular sobre a superficial.

Nossos resultados sugerem que paracoccina exerça um importante papel na biologia de *P. brasiliensis*. A presença de paracoccina nas extremidades de hifas cultivadas a 36°C bem como em clamidósporos originados da incubação de micélio a 36°C sugerem participação da lectina no crescimento fúngico. Já a marcação de paracoccina em formas fúngicas expostas a AmB e o grande número de clamidósporos formados sugerem que a proteína possa ter papel na resistência do fungo a condições adversas. Entretanto investigação mais detalhada da expressão e de secreção de paracoccina, através do uso de marcadores específicos, poderá proporcionar novos subsídios para a melhor compreensão do papel dessa lectina na biologia de *Paracoccidioides brasiliensis*.

ASPECTOS FUNCIONAIS DO GENE *Anti Silencing Factor 1 (ASF1)* EM TRIPANOSSOMATÍDEOS

Ricardo Scher

Orientadora: Profa. Dra. Angela Kaysel Cruz
Tese de Doutorado apresentada em 09/02/2007

Anti Silencing Factor 1 (ASF1) foi identificado em diferentes organismos como sendo uma chaperona de histonas que contribui para a deposição destas na montagem de nucleossomos em DNA recém duplicado. Foi demonstrado também que ASF1 está envolvida na resposta celular a danos no DNA. Em *Leishmania major* o gene *ASF1 (LmASF1)* está localizado na extremidade do cromossomo 20 e sua sequência apresenta 75% de identidade com seu homólogo em *Trypanosoma brucei*. A fim de estudar a função de *ASF1* em tripanossomatídeos usamos uma combinação de estratégias (i) superexpressão de *LmASF1* em *L. major*; (ii) atenuação em *T. brucei* usando RNA de interferência (RNAi) e (iii) expressão heteróloga do *LmASF1* em *E. coli* para geração de anticorpos. Nós demonstramos que na linhagem CC-1 selvagem o nível do transcrito *LmASF1* é baixo e constante ao longo do ciclo celular. Para superexpressar este gene em um ambiente extra-cromossômico, *L. major* (CC-1) foi transfectada com uma cópia de *LmASF1* clonada em pX63NEO. Aumento na concentração da droga de seleção (G418) foi usado para induzir a superexpressão do gene nos transfectantes. Como era esperado, o número de cópias do epissoma aumentou correlacionando-se positivamente com um aumento do nível do transcrito nos superexpressores. A taxa de

crescimento e a progressão do ciclo celular não foram afetadas pela super produção do *LmASF1*. Por outro lado, a atenuação nos níveis deste transcrito em *T. brucei* levou a um retardo no crescimento e a um arraste na fase S de formas procíclicas em culturas axênicas. Nós investigamos uma possível diferença fenotípica relacionada à sensibilidade dos mutantes ao agente genotóxico Metil Metano Sulfonado (MMS). Ambas as linhagens, depletadas e superexpressoras de *ASF1*, apresentaram uma sensibilidade aumentada a esta droga alquilante. Apesar de os mutantes superexpressores terem apresentado defeitos na taxa de crescimento e na progressão do ciclo celular durante o tratamento prolongado com MMS, estes mostraram uma maior estabilidade cariotípica durante os 15 minutos iniciais do tratamento agudo com esta droga. Este fato levou-nos a supor que estas células apresentam um nível de empacotamento da cromatina mais elevado que as células selvagens, tornando-as assim mais protegidas contra danos. Quando analisada a capacidade de recuperação do tratamento agudo com MMS, nenhuma diferença foi detectada entre superexpressores e selvagens no que diz respeito a velocidade de crescimento e recuperação da integridade cariotípica. Portanto, pode-se concluir que um controle eficiente na expressão de *ASF1* em tripanossomatídeos é central para a manutenção da viabilidade celular. Em adição, seu papel no processo de empacotamento da cromatina parece contribuir com a manutenção da integridade do DNA.

EXPRESSÃO GÊNICA DIFERENCIAL EM *WISTAR AUDIOGENIC RAT (WAR)*

Daniel Leite Góes Gitai

Orientadora: Profa. Dra. Maria Luisa Paçó-Larson
Tese de Doutorado apresentada em 19/02/2007

A cepa *WAR (Wistar Audiogênic Rats)*, estabelecida através de seleção genética para crises audiogênicas, tem sido amplamente utilizada na caracterização comportamental, eletrofisiológica e celular de crises convulsivas agudas e crônicas. Entretanto, pouco se conhece a respeito das alterações moleculares

envolvidas com a suscetibilidade, ou com o estabelecimento e as conseqüências dessas crises. Iniciamos a caracterização molecular da cepa *WAR* através de análises de expressão gênica diferencial entre *WARs* e *WISTARs*, antes e após a indução das crises audiogênicas. Para identificar genes de susceptibilidade, construímos uma biblioteca de *cDNAs* provenientes de hipocampus de *WARs* subtraídos dos *cDNAs* provenientes do hipocampo de *Wistars*. A avaliação, através de *Northern blot* e *RT-PCR* quantitativo, da ex-

pressão dos genes mais representados na biblioteca, mostrou que os níveis hipocampais dos transcritos são similares entre WARs e Wistars, sugerindo que os mecanismos que conferem susceptibilidade a crises audiogênicas em WARs não envolvem diferenças marcantes no *steady state* de transcritos expressos no hipocampo. Adicionalmente, com o objetivo de avaliar vias funcionais responsivas às crises epiléticas audiogênicas, investigamos através de análises em pequena e em larga escala, se os genes representados na biblioteca que construímos apresentam alterações na expressão em resposta à indução de crises audiogênicas agudas e crônicas. Utilizando-se a abordagem de hibridação subtrativa acoplada a microarranjos de DNA, seguida de validação através *Northern blot*, observamos que os níveis do transcrito não codificador *BC1* são significativamente maiores no hipocampo de Wistars resistentes em relação a WARs submetidos ao abramamento audiogênico. Através de hibridação *in situ* verificamos que a diminuição dos níveis de *BC1* ocorre significativamente apenas na região hilar do giro denteado. Esses resultados sugerem que *BC1* possa estar participando da crise epilética induzida por estímulo auditivo. *BC1* é um RNA não codificador

que tem sido caracterizado como inibidor da síntese protéica e existem relatos de que a atividade neuronal epileptiforme deflagra a desrepressão da síntese protéica.

Os transcritos dos receptores AMPA, cuja subunidade 2 mostrou-se mais representada entre os clones da biblioteca, foram também avaliados. Neste caso, investigamos através de *RT-PCR* quantitativo os níveis de expressão das duas isoformas (*flip* e *flop*) de *GluR1*, *GluR2*, *GluR3* e *GluR4*, no hipocampo e nos colículos de WARs, antes e após a indução de crises audiogênicas. Observamos que apenas *Glur2-flip* apresenta expressão diferencial. Os níveis dos transcritos *Glur2-flip* estão aumentados no hipocampo de WARs submetidos a crises audiogênicas agudas ou crônicas quando comparados com WARs *naives* e Wistars resistentes ($P=0,01$). Através de hibridação *in situ* verificamos que o aumento nos níveis de *GluR2-flip1* ocorre significativamente apenas na região CA1 da formação hipocampal. Estes resultados sugerem um aumento de receptores AMPA contendo *GluR2-flip* nesta região do hipocampo, o que poderia contribuir para uma maior excitabilidade neuronal, característica de crise epilética.

CONTRIBUIÇÃO DO RECEPTOR $Fc\gamma RIIB$ NA LIGAÇÃO DO mAb BGD6 NA SUPERFÍCIE DE MASTÓCITOS

Michel Farchi Guiraldelli

Orientadora: Profa. Dra. Constance Oliver

Tese de Doutorado apresentada em 02/03/2007

Os mastócitos são células efetoras que desempenham um importante papel nas reações alérgicas, inflamatórias, na asma, em doenças do sistema nervoso central e na arteriosclerose. Os mastócitos expressam diferentes moléculas na sua superfície tais como: moléculas de reconhecimento, de adesão e receptores. A principal via de ativação dos mastócitos é através de um receptor de superfície para a porção Fc das IgE, o $Fc\epsilon RI$. A ligação cruzada do $Fc\epsilon RI$ ativa vias de sinalização dos mastócitos resultando na liberação de fatores pré-formados, neoformados e neosintetizados. Os mastócitos são originados de um precursor presente na medula óssea. Este precursor pode ser identificado através do anticorpo monoclonal específico, o BGD6. O mAb BGD6, além de reconhe-

cer os precursores de mastócitos, também se liga a mastócitos em todos os estágios de maturação, se constituindo num marcador da linhagem de mastócitos. Este anticorpo se liga a uma proteína de 110kDa, ainda não identificada, presente somente na superfície de mastócitos. O mAb BGD6 foi utilizado em experimentos de *screening* da biblioteca de cDNA da linhagem de mastócitos RBL-2H3 para identificar e isolar o gene responsável pela expressão desta proteína. O *screening* da biblioteca de expressão de RBL-2H3 com o mAb BGD6 resultou no isolamento de um clone contendo a seqüência inteira do $Fc\gamma RIIB1$ (CD32) de rato. O mecanismo de ligação do mAb BGD6 na superfície celular foi investigado em células da linhagem de mastócitos RBL-2H3 e em células PEAK expressando o $Fc\gamma RIIB$ (CD32) com a molécula inteira do anticorpo e com o seu fragmento $F(ab')_2$. A molécula inteira do mAb BGD6 se ligou tanto em células RBL-2H3, como em células PEAK

Fc γ RIIB+, mas o fragmento F(ab')₂ ligou-se somente nas células RBL-2H3. Portanto, o mAb BGD6 liga-se ao Fc γ RIIB somente através da sua porção Fc. A porção F(ab')₂ de um mAb anti-CD32, bem caracterizado, inibiu parcialmente a ligação da molécula inteira do mAb BGD6 na superfície das células RBL-2H3, mas não alterou a ligação do mAb BGD6 F(ab')₂. Estes resultados sugerem que a porção Fc do mAb BGD6 contribui para sua ligação em células que expressam o Fc γ RIIB. O mAb BGD6 imunoprecipita uma proteína de 110kDa e também uma proteína de 40-60kDa que corresponde ao Fc γ RIIB. Estes resultados nos levam a propor um modelo em que o mAb BGD6 se liga à proteína de 110kDa, enquanto a sua porção Fc interage com o Fc γ RIIB (CD32). Desta forma, pode-se concluir que o mAb BGD6 se liga à proteína de 110kDa presente na superfície das células RBL-2H3 através da sua porção Fab, enquanto a sua porção Fc interage com o Fc γ RIIB presente nestas

células. A interação do mAb BGD6 com a superfície das células RBL-2H3 é estabilizada pela formação de um complexo molecular. Neste trabalho também foi demonstrado que o clone contendo a seqüência inteira do Fc γ RIIB1 (CD32) de rato é diferente da seqüência contida no banco de dados de cDNA do *GenBank*, pois possui um fragmento extra de 141 pares de bases na região codificadora que corresponde a um exon específico desta isoforma. O cDNA encontrado codifica a isoforma 1 do Fc γ RIIB, previamente descrita em outras espécies, e possui 47 aminoácidos extras no domínio citoplasmático. Nossos resultados mostram que as células RBL-2H3 expressam as isoformas 1 e 2 do Fc γ RIIB, sendo que a expressão da isoforma 2 é maior que a expressão da isoforma 1. Estes achados contribuem para o entendimento das interações entre moléculas e a superfície de mastócitos as quais podem levar a regulação dos mecanismos de ativação e liberação de mediadores por estas células.

A rab/GTPase LmYPT1 E SEU PAPEL NA RESISTÊNCIA A DROGAS EM *Leishmania major*

Marcelo Rodrigues Pinto

Orientador: Prof.Dr. Luiz Ricardo Orsini Tosi

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/03/2007

O gene *LmYPT* de *Leishmania major* codifica uma rab/GTPase que pode estar envolvida no tráfego de vesículas entre Retículo endoplasmático (RE) e complexo de Golgi. *LmYPT* possui 603 pbs, e encontra-se no cromossomo 27 do parasito. Para investigarmos o papel desse gene em mecanismos de resistência à drogas mediados pelo tráfego de vesículas, o mesmo foi clonado no vetor pXG1 e co-transfectado em linhagens de células resistentes a terbinafina que apresentam expressão aumentada do gene *LmHTBF*. Na caracterização dos co-transfectantes obtidos, verificamos que a resistência à terbinafina mediada por *LmHTBF* era abolida. Assim, uma possível interação entre YPT e HTBF parece suprimir a resistência à droga.

O gene *LmHTBF* está codificado no locus H de *L. major*, e é capaz de mediar resistência à terbinafina (Marchini et al., 2003). Esta droga antifúngica inibe a esqualeno epoxidase, enzima chave da biossíntese do

ergosterol, um componente essencial da membrana celular do parasito. A seqüência predita de aminoácidos da HTBF possui homologia com a proteína YIP1 de *Saccharomyces cerevisiae*. Na levedura, YIP1 interage com YPT promovendo a dissociação do heterodímero rab/GDP-GDI, permitindo a molécula se tornar ativa. Portanto, existe a possibilidade de HTBF mediar a resistência à terbinafina usando um mecanismo que envolva o aumento da formação e/ou redirecionamento de vesículas. HTBF poderia também se contrapor à interferência na biossíntese do ergosterol pela ativação da maquinaria de reparo de membrana. Além disso, existe a hipótese de que HTBF seja uma YIP de *L. major*.

Os membros da família YIP1, assim como YPT, localizam-se no complexo de Golgi e estão conservados em vários organismos. O gene *LmHTBF* foi clonado em fusão com um epítipo de c-Myc presente no vetor CS2+MT, e a localização subcelular do produto de fusão mostraram que este se encontra no complexo de Golgi. Portanto, nossos resultados indicam que o mecanismo de resistência a terbinafina envolve o tráfego de vesículas por associação com rab/GTPases, e que HTBF é uma YIP1 de *L. major*.

BIOQUÍMICA

ANÁLISE MOLECULAR DA MODULAÇÃO DOS SISTEMAS RENINA-ANGIOTENSINA E CALICREÍNAS-CICINAS EM MODELO EXPERIMENTAL DE EPILEPSIA

Marília Gabriella Alves Goulart Pereira

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Miguel da Costa Neto
Dissertação de Mestrado apresentada em 06/03/2007

As epilepsias são distúrbios neurológicos caracterizados pela hiperexcitabilidade do sistema nervoso central (SNC), decorrente do desequilíbrio entre mecanismos excitatórios e inibitórios. Estudos dos sistemas Renina-Angiotensina (SRA) e Calicreínas-Cininas (SCC) são classicamente voltados aos mecanismos de controle da pressão arterial e processos inflamatórios. Porém, no SNC estes sistemas são envolvidos em processos como início e propagação da excitabilidade e, conseqüentemente, podem estar envolvidos no disparo ou desenvolvimento das epilepsias. A cepa *Wistar audiogenic rat* (WAR) foi o modelo experimental de epilepsia escolhido devido à sua analogia para dois tipos de epilepsia com alta taxa de ocorrência entre humanos: as epilepsias generalizadas tônico-clônicas (modeladas por crises audiogênicas agudas, dependentes de substratos do tronco cerebral) e a epilepsia do lobo temporal (ELT) (modeladas pelo *kindling* ou abrasamento audiogênico, o qual, após repetição de crises audiogênicas, induz recrutamento de regiões límbicas).

Através das técnicas de RT-PCR foram anali-

sadas os níveis de expressões dos mRNAs de componentes dos SRA e SCC em regiões do SNC relacionadas ao disparo e à propagação da hiperexcitabilidade no SNC. Para uma análise comparativa, os mesmos componentes foram também analisados a partir de tecido cardíaco. Os resultados obtidos mostram que: (i) todos os componentes do SRA (a enzima conversora de angiotensina (ECA) e os receptores AT_1 , AT_2 e mas) assim como do SCC (receptores B_1 e B_2) não são diferencialmente expressos em animais recém nascidos da cepa WAR quando comparados a Wistar; (ii) todos os componentes do SRA e do SCC analisados apresentam uma regulação positiva em WARs com ELT quando comparados aos WAR naïve; (iii) as citocinas IL-1 β e a IL-10 não estão moduladas na ELT e, (iv) os componentes do SRA e do SCC possuem uma modulação distinta no coração quando comparada àquela observada nos tecidos do SNC.

Nossos dados indicam que a suscetibilidade às crises audiogênicas da cepa WAR não está relacionada a uma diferença inata da expressão dos componentes dos SRA e SCC, uma vez que não foi observada modulação destes componentes em animais recém nascidos. Entretanto, a participação destes componentes possivelmente esteja relacionada a epileptogênese ou ao estabelecimento da ELT através de processos plásticos e excitatórios de longo prazo.

SÍNTESE E APLICAÇÃO DE INIBIDORES DE PROTEASES ANÁLOGOS AO INIBIDOR DE TRIPSINA DO GIRASSOL SFTI-1

Hugo Juarez Vieira Pereira

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Brandt de Oliveira
Dissertação de Mestrado apresentada em 07/03/2007

Os inibidores de proteases são amplamente distribuídos na natureza, participando de importantes funções biológicas, como coagulação sanguínea, cascata

do complemento, apoptose e vias de processamento de hormônios. Os inibidores de serino proteases são classificados em 12 famílias, baseadas na estrutura de seus sítios ativos e na especificidade para inibir a clivagem em determinadas seqüências nas proteínas. Dentre as famílias de inibidores destacamos os Bowman-Birk (BBIs), capazes de inibir tripsina, quimotripsina e

elastase. O SFTI-1, isolado de sementes de girassol, é o menor e mais potente 881 conhecido, este peptídeo cíclico possui 14 aminoácidos e uma ponte dissulfeto, sendo a última fundamental para sua atividade inibitória. No presente trabalho, sintetizamos por fase sólida, com ajuda de microondas, cinco análogos acíclicos ao SFTI-1 com alterações na posição cinco que corresponde à lisina no inibidor natural. A troca Lys 5 Leu foi feita para tentar obter um bom inibidor para elastase-2, já Lys 5 Phe visava desenvolver um inibidor para a quimotripsina. A manutenção da Lys na posição cinco teve como objetivo avaliar a ação deste análogo frente a tripsina e, por último, mudamos Lys 5 Arg para tentar um bom inibidor para argil amidases. A síntese dos inibidores foi bem sucedida e eles demonstraram ter seletividade para as enzimas acima mencionadas. Uma aplicação dos inibidores de proteases é na confecção de resinas de afinidades, criando assim ferramentas seletivas para a purificação de enzimas. A cromatografia por afinidade constitui uma das mais eficientes maneiras de separar proteínas, sendo geralmente rápida, simples e muito eficiente.

Este procedimento cromatográfico se baseia na ligação específica e reversível de uma molécula de interesse a um ligante, covalentemente imobilizado a uma resina inerte. Inúmeras resinas de afinidade já foram descritas para purificação de proteases, a maioria baseada no uso de inibidores imobilizados, apresentando graus variáveis de seletividade. As colunas Sepharose-Lys-5-SFTI-1 e Sepharose-Phe-5-SFTI-1 foram capazes de isolar da pancreatina as enzimas tripsina e quimotripsina, respectivamente, como uma capacidade de 28 mg por ml de resina. A coluna Sepharose-Leu-5-SFTI-1 foi capaz de retirar do perfusato do leito arterial mesentérico de rato a elastase-2 e uma nova atividade angiotensinásica nunca antes observada nesta preparação. Isto representa um avanço na caracterização do repertório de proteases solúveis, ativas sobre angiotensinas, do perfusato. A coluna Sepharose-Arg-5-SFTI-1 isolou do veneno de *B. moojení* enzimas pouco abundantes e capazes de hidrolisar o Bapna. Assim, as resinas apresentadas neste trabalho demonstraram ser ferramentas úteis no isolamento de serino proteases de diferentes fontes

PAPEL DAS CATECOLAMINAS E DO AMP CÍCLICO NO METABOLISMO DE PROTEÍNAS EM MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS DIABÉTICOS

Amanda Martins Baviera

Orientadora: Profa. Dra. Isis do Carmo Kettelhut
Tese de Doutorado apresentada em 09/03/2007

Estudos prévios de nosso laboratório demonstraram que o sistema nervoso simpático (SNS) exerce ações anabólicas no metabolismo de proteínas na musculatura esquelética de ratos normais, estimulando a síntese protéica e inibindo a proteólise total em músculos de animais normais. No entanto, a importância do SNS no controle do metabolismo protéico em uma situação de catabolismo permanece desconhecida. Assim, a primeira parte do presente trabalho teve como objetivo investigar o papel das catecolaminas no controle dos processos de degradação e síntese de proteínas em músculos esqueléticos de animais diabéticos. Para isso, foram estudadas as alterações ocorridas na proteólise total e a participação das vias proteolíticas em músculos *soleus* e *extensor digitorum longus* (-EDL) de ratos diabéticos simpatectomizados (administração de guanetidina). Foram estudados animais jovens com 1, 3 e 5 dias de diabetes (indução por

estreptozotocina - STZ) tratados ou não com guanetidina durante 1 ou 2 dias. A instalação do diabetes promoveu um aumento progressivo no conteúdo de noreadrenalina (NOR) em *soleus* e EDL de animais, provavelmente por consequência de uma queda na velocidade de degradação da catecolamina nestes animais. Estes animais também apresentam uma menor atividade simpática neste tecido. A simpatectomia química foi capaz de promover uma redução eficiente no conteúdo da NOR muscular nestes animais diabéticos. Os resultados do presente trabalho mostraram que a simpatectomia química foi capaz de promover um aumento adicional nos valores de proteólise total em *soleus* de animais após 1 e 3 dias de diabetes (33% e 15%, respectivamente) e em EDL de animais 1 dia pós-STZ (17% em relação ao grupo diabético controle). Estas respostas são decorrentes do surpreendente aumento nas atividades da via proteolítica lisossomal (*soleus*), da via dependente de cálcio (EDL) e da via dependente de ubiquitina-proteassoma (*soleus* e EDL). A simpatectomia química não promoveu alterações na degradação protéica muscular no 5º dia de deficiência insulínica. Assim, parece que as catecolaminas têm

efeito na atividade dos processos de degradação proteica em músculo esquelético de ratos nas fases iniciais do diabetes (1 e 3 dias pós-STZ); em períodos mais prolongados de deficiência insulínica, a presença ou ausência das catecolaminas parece não interferir com as respostas observadas na proteólise muscular.

Em trabalhos anteriores do laboratório ficou demonstrado que as catecolaminas são capazes de inibir a proteólise muscular através da ligação a receptores adrenérgicos dos subtipos beta-2 e beta-3 e conseqüente aumento de AMPc intracelular na musculatura esquelética de ratos normais. A pentoxifilina (PTX) é uma droga com comprovada ação anti-proteolítica em situações de atrofia muscular, sendo este efeito atribuído à redução nos níveis plasmáticos de TNF-alfa. No entanto, tornou-se interessante a investigação da possibilidade da PTX exercer diretamente seu efeito anti-proteolítico muscular, através de aumento nas concentrações de AMPc, uma vez que ela é capaz de inibir a fosfodiesterase do AMPc (enzima responsável pela degradação do nucleotídeo). Assim, o segundo objetivo deste trabalho foi investigar o efeito *in vivo* e *in vitro* da PTX nos processos de degradação de proteínas na musculatura esquelética de animais normais e diabéticos. Os resultados do presente

trabalho mostraram uma redução na proteólise total e na atividade das vias proteolíticas dependentes de cálcio e de ubiquitina-proteassoma em EDL de animais diabéticos (3 dias pós-STZ) tratados *in vivo* durante 4 dias com PTX em comparação aos animais não tratados. Este efeito foi atribuído ao aumento nas concentrações de AMPc. Nestes mesmos animais foi observada redução nos níveis protéicos de m-calpaína (protease do sistema proteolítico dependente de cálcio) e na expressão do RNAm da *atrogen-1* (componente do sistema proteolítico dependente de ubiquitina-proteassoma). Músculos de ratos normais e diabéticos incubados na presença de PTX apresentaram aumento no conteúdo de AMPc e redução na proteólise total e na participação das vias proteolíticas citadas anteriormente. Assim, ficou demonstrado que a PTX é capaz de promover diretamente redução na proteólise total em músculos de animais normais (*in vitro*) e diabéticos (*in vivo* e *in vitro*), e que este efeito pode ser mediado por um mecanismo ligado ao aumento de AMPc intracelular, semelhante ao efeito anti-proteolítico muscular atribuído às catecolaminas. Ainda vale a pena salientar que o mesmo efeito da PTX foi observado em ratos diabéticos adultos com a utilização da técnica de microdiálise.

IMUNORREATIVIDADE CRUZADA ENTRE TOXINAS OFÍDICAS REVELADA POR ANTICORPOS ANTI-PEPTÍDEO SINTÉTICO

Felipe Roberti Teixeira

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Brandt de Oliveira

Dissertação de Mestrado apresentada em 29/03/2007

É amplamente aceita a imunorreatividade cruzada envolvendo toxinas ofídicas mediada por anticorpos que reconhecem componentes de diferentes venenos que trazem homologia de seqüência de aminoácidos ou alguma relação funcional. Recentemente, foi demonstrado que anticorpos antifragmento de L-aminoácido oxidase (LAAO), obtidos de soro antibotrópico poliespecífico, reagem com componentes de venenos que não possuem qualquer relação estrutural. No presente trabalho, fazendo uso da estrutura tridimensional cristalografada de um ativador de plasminogênio presente no veneno de *Trimeresurus stejnegeri* (TSV-PA), nós escolhemos o peptídeo SSEHIAPLSLPSSPPI, pertencente a uma alça externa de uma proteína coagulante de *C.durissus*

(giroxina), acoplamos a um carreador polivalente produzido a partir da proteína crotamina e imunizamos coelhos. Os anticorpos produzidos, além de reconhecerem a giroxina, foram capazes de reagir com componentes de venenos de diferentes espécies que aparentemente não guardam qualquer relação estrutural. A identificação desses componentes foi feita por análise de immunoblotting, a qual mostrou bandas reveladas na altura de proteínas da família das fosfolipases, as quais não possuem qualquer relação estrutural com as proteínas homólogas à trombina. Também foi demonstrado que anticorpos purificados em resina contendo o peptídeo imobilizado no mesmo sentido do seu acoplamento ao carreador utilizado para imunização (N-terminal acoplado), mostram maior reatividade cruzada que aqueles obtidos de resinas com o peptídeo no sentido oposto (C-terminal acoplado). Nós hipotizamos que a reatividade de anticorpos anti-peptídeo com componentes não relacionados estruturalmente está relacionada à alta flexibilidade estrutural de mo-

léculas peptídicas e à adaptação conformacional de suas moléculas ligantes, os anticorpos. Além disso, acreditamos que esse trabalho contribuiu para um aprofundamento no nível de discussão sobre imunoreati-

vidade cruzada em venenos ofídicos uma vez que faz uso de um novo modelo experimental, utilizando reagentes imunoquímicos, antígeno e anticorpo de especificidade definida.

CLÍNICA CIRÚRGICA

EFEITOS DA CIRROSE HEPÁTICA NA CICATRIZAÇÃO DE ANASTOMOSES COLÔNICAS: ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS

Marcelo Di Bonifácio

Orientador: Prof. Dr. Omar Féres

Dissertação de Mestrado apresentada em 09/02/2007

A deiscência de anastomose é uma complicação pós-operatória muito temida pelos cirurgiões do aparelho digestório. Vários trabalhos foram publicados avaliando a cicatrização de anastomose intestinal associada a diversas situações, como, fatores físicos, produtos químicos, técnicas cirúrgicas, doenças concomitantes, dentre outras. O efeito da cirrose hepática na cicatrização de tecidos tem sido estudado por diversos autores e, como em determinadas ocasiões, pacientes portadores de cirrose hepática são submetidos a anastomoses colônicas. O presente estudo tem a finalidade de avaliar os efeitos da cirrose hepática na cicatrização de anastomoses colônicas de ratos. Foram estudados 55 ratos da linhagem Wistar, sendo 23 do grupo controle e 32 do grupo cirrose. Para a indução da cirrose hepática, os ratos do grupo cirrose foram submetidos à dupla ligadura e enovelamento do ducto hepático comum, no primeiro dia do experimento. Para simular o trauma cirúrgico, os ratos do grupo controle foram laparotomizados e tiveram suas alças intestinais manipuladas no primeiro dia do experimento. Todos os animais foram avaliados bioquimicamente, no décimo quarto e trigésimo quinto dias, pelas dosagens séricas de aspartato-aminotransferase (AST), alanino-aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina, bilirrubinas, proteínas totais e albumina e pelo estudo histopatológico do fígado, no trigésimo quinto dia, para confirmação da cirrose. No vigésimo oitavo dia os animais foram identicamente submetidos à secção e anastomose do cólon esquerdo. Após o sétimo dia da anastomose colônica, os ratos foram sacrificados e avaliados macroscopicamente quanto à pre-

sença de aderências, deiscências e peritonites, sendo que a área de anastomose colônica foi retirada para dosagem de hidroxiprolina, para avaliação histopatológica e para estudo imuno-histoquímico: fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), metaloproteinase tipo1 (MMP1) e inibidor da metaloproteinase tipo 1 (TIMP1). Houve confirmação bioquímica e histopatológica da cirrose hepática em todos animais submetidos à obstrução biliar. Foi observada maior taxa de mortalidade após a anastomose colônica no grupo cirrose (5/25) do que no grupo controle (0/21) ($p < 0,0500$). Aderências foram observadas em maior número no grupo cirrose (13/20) do que no grupo controle (5/22) ($p < 0,0110$). Houve deiscência de anastomose em 8 animais grupo cirrose (8/25), enquanto nenhuma no grupo controle (0/21) ($p < 0,0010$). A média das dosagens de hidroxiprolina foi menor no grupo cirrose do que no grupo controle ($p < 0,0001$). A avaliação histológica demonstrou que o grupo cirrose teve menor congestão vascular ($p < 0,0500$), porém, os outros parâmetros histológicos não apresentaram diferenças. Os estudos imuno-histoquímicos demonstraram: porcentagem de áreas marcadas pelo VEGF menor no grupo cirrose ($p < 0,6500$); porcentagem de áreas marcadas pela MMP1 maior no grupo cirrose ($p < 0,1800$) e porcentagem de áreas marcadas pelo TIMP1 maior no grupo cirrose ($p < 0,1800$). Concluímos que a cirrose hepática está associada à maior taxa de mortalidade pós-operatória, causando efeitos deletérios na cicatrização das anastomoses colônicas no sétimo dia de avaliação, confirmados macroscopicamente pela maior incidência de aderências intra-cavitárias e de deiscências anastomóticas e, bioquimicamente, pela menor concentração de hidroxiprolina. Os estudos imuno-histoquímicos para VEGF, MMP 1 e TIMP 1 não apresentaram diferença estatística entre os grupos.

EFEITO DA LECTINA KM+ SOBRE A REGENERAÇÃO HEPÁTICA APÓS HEPATECTOMIA PARCIAL EM CAMUNDONGOS

Cleide Lúcia Araújo Silva

Orientador: Prof. Dr. Fernando Silva Ramalho

Dissertação de Mestrado apresentada em 12/02/2007

Lectinas vegetais são proteínas capazes de se ligar especificamente a carboidratos, desempenhando assim importante papel biológico. Estudos prévios demonstraram que KM+ (também denominada artocarpina), lectina oriunda da semente da planta *Artocarpus integrifolia* (jaca), exibe efeito inibitório sobre o crescimento do sarcoma-180 murino. O presente estudo investigou o efeito do KM+ sobre a regeneração hepática após hepatectomia parcial (70%) em camundongos. Neste modelo experimental, são ressecados os lobos lateral esquerdo e mediano do fígado, permanecendo intactos os lobos lateral direito e caudado, os quais correspondem a apenas 30% da massa hepática. O grupo experimental recebeu a lectina KM+ via intraperitoneal na dose de 0,5µg/animal diariamente, enquanto o grupo controle foi tratado com solução fisiológica 0,9% até o dia do sacrifício. Os animais do grupo controle e do grupo tratado foram sacrificados

24, 36, 48 e 72 horas após cirurgia. O peso do fígado remanescente, a taxa de regeneração hepática e o índice de marcação nuclear pelo PCNA (“proliferating cell nuclear antigen”) foram avaliados no parênquima hepático residual. A administração de KM+ resultou em significativa inibição da resposta proliferativa hepatocelular, avaliada pelo índice de marcação nuclear, a qual foi mais evidente 48 horas após a hepatectomia parcial. O mecanismo proposto admite o envolvimento das células fagocíticas residentes do fígado (células de Kupffer), as quais sob estímulo de KM+ podem produzir interleucina 12 (IL-12). A IL-12 é conhecida por sua capacidade de polarizar a diferenciação de células TCD4+ para células Th1, as quais secretam as citocinas interferon gama (IFN-γ) e interleucina 2 (IL-2). Foi demonstrado que estas citocinas apresentam importante efeito inibitório sobre a proliferação hepatocelular. Futuras investigações serão necessárias para elucidar se a infusão da lectina KM+ seria capaz de induzir incremento na secreção de IL-12 e das citocinas IFN-γ e IL-2 no fígado em regeneração.

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DE METALOPROTEINASES DE MATRIZ (MMPs) E DE SEUS INIBIDORES TISSULARES (TIMPs) EM MENINGIOMAS INTRACRANIANOS

Marcus Benigno Marques dos Santos

Orientador: Prof. Dr. Carlos Gilberto Carlotti Júnior

Tese de Doutorado apresentada em 16/02/2007

Os meningiomas são as neoplasias intracranianas primárias benignas mais comuns. Nas últimas quatro décadas, houve um fantástico avanço tecnológico que permitiu fazer da principal arma terapêutica, a cirurgia, um procedimento tanto elegante quanto seguro e eficaz. Entretanto, a cirurgia não é suficiente para o tratamento das lesões mais agressivas (graus II e III pela Organização Mundial da Saúde) e, outrossim, a ela são impostos limites devido à localização de determinadas lesões, mormente as da base do crânio. Portanto, torna-se imperativo o conhecimento do comportamento biológico desses tumores, com o propósito de desenvolvimento de tratamentos alternativos. Esses tratamentos são baseados nos chamados “alvos mole-

culares específicos” e são sustentados pela progressiva elucidação dos mecanismos tumorigênicos, fundamentalmente, a proliferação celular, a angiogênese e a invasão. Este trabalho enfoca os mecanismos de invasão, a qual é responsável por impedir ressecções cirúrgicas radicais e propiciar recrescimentos dos resíduos tumorais, por vezes inatingíveis por reoperações. Um grande passo foi dado na direção desse conhecimento, quando do reconhecimento da participação das metaloproteinases de matriz no processo de remodelação fisiológica e não-fisiológica da matriz extracelular. Essas proteases clivam elementos da matriz, sobretudo os colágenos, de tal modo que o microambiente se torna favorável à migração celular e, posteriormente, favorece a infiltração e invasão adjacente e à distância (metástases). Neste estudo, foram investigadas as metaloproteinases de matriz 1, 2, 3, 7, 9 e do tipo membrana 1 e 2 e os inibidores tissulares de metaloproteinases de matriz, 1 e 2, através de imuno-

histoquímica em meningiomas intracranianos verificados histologicamente. Cinquenta e um pacientes perfizeram o grupo para análise retrospectiva em blocos de parafina, pela detecção da imunorreação aos anticorpos monoclonais para cada uma das metaloproteínas citadas e seus inibidores tissulares. As amostras se constituíram de meningiomas grau I da convexidade (n=19), meningiomas grau I da base (n=21) e meningiomas graus II (n=7) e III (n=4). As análises estatísticas, mediante o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn, procurou confrontar os tumores de acordo com o grau (I, II e III), localização (convexidade e base do crânio) e ocor-

rência de recidiva. A imuno-histoquímica não revelou diferença significativa nas expressões das metaloproteínas 2 e 3 nos diferentes tumores, bem como não mostrou correlação da intensidade de imunorreação com a recidiva tumoral. Entretanto, houve diferença entre meningiomas grau I da base e grau I da convexidade (metaloproteínas 1 e 9), entre grau I e grau III (metaloproteína 1) entre grau II e grau I (metaloproteína tipo membrana 1 e inibidor tissular 1) e entre grau III e grau II (metaloproteína 7). Baseado nos resultados deste trabalho, a metaloproteína 1 pode ser considerada candidata a alvo terapêutico para os meningiomas grau I da base do crânio.

INFLUÊNCIA DA PENTOXIFILINA E DA HEPARINA NA LESÃO DE ISQUEMIA E REPERFUSÃO EM RETALHOS CUTÂNEOS DE RATOS EXPOSTO AO TABACO

Frederico Alonso Sabino de Freitas

Orientador: Prof. Dr. Eli Piccinato

Tese de Doutorado apresentada em 02/03/2007

A lesão de isquemia e reperfusão é considerada a maior causa de falência de retalhos transferidos e membros reimplantados. O tabagismo está associado à depleção do sistema antioxidante endógeno e um estado trombogênico, além de graus variáveis de vasoconstrição cutânea. Utilizando retalhos epigástricos em ratos que receberam pentoxifilina e heparina no perioperatório, objetivou-se avaliar se estas drogas poderiam atenuar os efeitos do tabaco na lesão de isquemia e reperfusão na pele. Os parâmetros estudados foram: níveis séricos de Malondialdeído (MDA), atividade sérica da Mieloperoxidase (MPO) e percentual de sobrevivência dos retalhos. Foram distribuídos aleatoriamente 36 ratos em 2 grupos: 18 ratos foram expostos ao tabaco durante 4 semanas no pré-operatório e 18 não o foram. Cada grupo foi subdividido em 3 subgrupos de 6 ratos que receberam: pentoxifilina (P) (25mg/kg/dia) intraperitonealmente 1 dia antes da operação e 7 dias pós operatório, heparina (H) (150 U/

kg) intraperitonealmente 1 dia antes da operação e 7 dias pós operatório e controle (C) (solução salina) intraperitonealmente 1 dia antes da operação e 7 dias pós operatório. Confeccionou-se um retalho epigástrico por animal e o submeteu à 3h de isquemia e 5 min de reperfusão. Ao final deste período o sangue do efluente venoso do retalho foi coletado para análises bioquímicas de MDA e MPO séricas. Após 7 dias do procedimento, os ratos foram novamente anestesiados para avaliar a viabilidade dos retalhos. A lipoperoxidação (MDA) e o grau de necrose foram significativamente maiores no grupo fumante, quando comparados ao não-fumante, Os ratos tratados com heparina apresentaram níveis significativamente baixos de MDA e melhor viabilidade dos retalhos. Não houve diferença em relação aos níveis de MPO e a pentoxifilina não foi efetiva em contrapor os efeitos do tabaco. Estes achados sugeriram um efeito benéfico da heparina tanto na redução da lipoperoxidação como na viabilidade dos retalhos submetidos à isquemia e reperfusão e expostos ao tabaco. A heparina pode representar uma alternativa para atenuar os efeitos do fumo em situações de urgência.

EXPRESSÃO GÊNICA DA APOPTOSE CELULAR NA ISQUEMIA CEREBRAL FOCAL EM RATOS E A AÇÃO NEUROPROTETORA DA HIPOTERMIA E DO CETOPROFENO

Daniela Pretti da Cunha Tirapelli

Orientador: Prof. Dr. Benedicto Oscar Colli

Tese de Doutorado apresentada em 30/03/2007

A isquemia cerebral situa-se entre as enfermidades que mais comprometem a espécie humana, com elevados índices de mortalidade e morbidade em todo

o mundo. Trata-se de uma condição freqüente na prática clínica que oferece difícil solução terapêutica, pois seu estudo fisiopatológico, entre outros fatores, é dificultado pela grande diversidade na sua localização anatômica, na sua etiologia e nas suas manifestações clínicas. A partir de um modelo experimental em ratos submetidos à isquemia cerebral focal por oclusão da ACM com um fio intraluminal, o objetivo deste trabalho foi avaliar o padrão da expressão dos genes relacionados à apoptose (receptor Fas, c-Flip, caspase-8 e caspase-3), isolado ou associado ao efeito neuroprotetor da hipotermia e/ou do cetoprofeno, pela técnica de reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (RQ-PCR). Para isto, foram utilizados 66 ratos Wistar adultos, e deste total 60 foram subdivididos em três grupos experimentais: controle: constituído por animais que foram apenas submetidos à anestesia; sham: constituído por animais submetidos à simulação completa do procedimento cirúrgico e; isquêmico: que foi dividido em quatro subgrupos: isquêmico, isquêmico com hipotermia, isquêmico com cetoprofeno, e isquêmico com hipotermia e cetopro-

feno. Os animais deste grupo foram submetidos à isquemia cerebral pelo período de 1 hora, após o que os animais foram sacrificados. O cérebro dos outros seis animais foram corados com solução de cloreto de 2,3,5 - trifenil tetrazolio e cortados em secções coronais para delimitação da área isquêmica. Os resultados mostraram baixos níveis de expressão de mRNA dos genes estudados nos animais isquêmicos quando comparados aos animais controle. O efeito neuroprotetor isolado ou associado da hipotermia e do cetoprofeno, não mostrou ser eficaz para evitar a queda da expressão destes genes, exceto da caspase-3. A expressão de caspase-3 nos animais isquêmicos associando isoladamente a hipotermia e o cetoprofeno, foi significativamente menor em relação aos animais controle, sham e isquêmicos. Os resultados apresentados permitiram concluir que, a isquemia focal de 60 minutos sem reperfusão não provocou aumento significativo dos níveis apoptóticos e que as medidas utilizadas como neuroproteção mostraram-se efetivas apenas com relação à expressão da caspase-3.

CLÍNICA MÉDICA

CRIAÇÃO DE UM MAPA VOXEL POR VOXEL DA DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL DA TRANSFERÊNCIA DE MAGNETIZAÇÃO NA SUBSTÂNCIA BRANCA DO CÉREBRO HUMANO DE ADULTOS NORMAIS

André Luiz Mendes Matos

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos
Tese de Doutorado apresentada em 12/01/2007

O presente estudo apresenta uma nova técnica de processamento de imagens que nos permitiu a caracterização da variação da taxa de transferência de magnetização (TTM) de todo o cérebro humano normal associada a informação espacial detalhada.

Quarenta e quatro imagens de transferência de magnetização obtidas de voluntários saudáveis foram inicialmente registradas linearmente, seguidas por registro não linear e geração de um mapa médio de TTM. Foi ainda produzido um mapa de Z-score a partir do

mapa médio de TTM, bem como um mapa médio de desvio padrão. Os mapas foram analisados inicialmente por inspeção visual seguida por análise de regiões de interesse (ROI).

Os valores mais altos de TTM foram observados na região da decussação das pirâmides, seguidos pelo pedúnculo cerebelar médio e joelho do corpo caloso. A cápsula externa, seguida pela perna anterior da cápsula interna, demonstraram os valores mais baixos de TTM de todo o cérebro.

Em geral, os valores de TTM foram estáveis em todas as ROI estudadas com exceção da decussação das pirâmides.

Nossos achados foram semelhantes aos obser-

vados em estudos anteriores utilizando a metodologia de análise de ROI e histogramas. Contudo, nosso estudo apresenta novos achados com relação a variação da TTM no cérebro humano normal, sobretudo na região da fossa posterior. Ainda, o nosso estudo utiliza uma nova metodologia de processamento de imagens que permite o estudo da TTM em todo o cérebro hu-

mano ao mesmo tempo que mantém detalhada informação anatômica do mesmo.

A melhor compreensão das variações de TTM em indivíduos normais representa o substrato básico para a aplicação desta técnica em estados patológicos cerebrais.

ESTUDO SOBRE LESÕES ORAIS EM INDIVÍDUOS INFECTADOS PELO HIV EM RIBEIRÃO PRETO-SP, BRASIL

Alan Grupioni Lourenço

Orientador: Prof. Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo
Dissertação de Mestrado apresentada em 09/02/2007

Objetivou-se com esse trabalho, estudar a prevalência de lesões orais em indivíduos infectados pelo HIV em seguimento na Unidade Especial de Tratamento de Doenças Infecciosas do HCFMRP, relacionando-as a gênero, idade, tabagismo, níveis de LTCD4+, carga viral, tempo de soropositividade, diagnóstico clínico da aids, uso de prótese dentária removível e uso de terapia anti-retroviral (HAART). Participaram do estudo 340 indivíduos e desses, 113 (33,2%) apresentaram lesão oral. As lesões mais frequentes foram queilite angular (13,9%), leucoplasia pilosa (11,8%), candidíase pseudomembranosa (10,8%), candidíase eritematosa (6,9%) e ulcerações idiopáticas (2,1%). Encontrou-se candidíase oral, com maior frequência, em pessoas do gênero feminino ($p=0,0330$). O taba-

gismo mostrou-se positivamente associado à leucoplasia pilosa da língua ($p=0,0383$) e por outro lado, conferiu uma aparente proteção contra ulcerações idiopáticas ($p=0,0183$). A leucoplasia pilosa e a candidíase pseudomembranosa comportaram-se como marcadores de imunossupressão, porque relacionaram-se indiretamente aos níveis de LTCD4+, e diretamente à viremia pelo HIV. Também, a leucoplasia pilosa e a candidíase pseudomembranosa relacionaram-se negativamente ao uso de HAART, independentemente do estado de imunossupressão do paciente ($p=0,0324$ e $p=0,0287$, respectivamente). As lesões orais associadas ao HIV e dentre elas, a candidíase eritematosa, encontra-se aumentada naqueles que usam prótese dentária removível ($p=0,0003$). Finalmente, a correlação indireta dos níveis de LTCD4+ com as lesões orais e correlação direta com viremia pelo HIV, sugerem um papel importante do diagnóstico das lesões orais, como a marcadores indiretos do estado imune e da evolução nos pacientes infectados por este vírus.

ESTUDO COMPARATIVO DE ESQUEMAS ANTI-RETROVIRAIS UTILIZANDO EFAVIRENZ OU LOPINAVIR-RITONAVIR NO TRATAMENTO INICIAL DE PACIENTES INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

Jeová Keny Baima Colares

Orientador: Prof. Dr. Benedito A. Lopes da Fonseca
Tese de Doutorado apresentada em 15/02/2007

Deste seu reconhecimento, há 25 anos, a infecção pelo HIV se tornou um dos maiores desafios de saúde pública enfrentados pela humanidade. O desenvolvimento da terapia anti-retroviral foi um dos avanços mais significativos para o controle da pandemia, resultando em queda expressiva na morbimortalidade. Porém, esta abordagem possui limitações relaciona-

das à toxicidade das drogas, dificuldade na adesão, falha terapêutica e emergência de resistência viral aos medicamentos. Atualmente existem 22 drogas disponíveis e 4 classes terapêuticas. Entretanto, não há consenso acerca da combinação de drogas ideal para iniciar o tratamento. Esse estudo tem como objetivo comparar esquemas terapêuticos baseados nas drogas efavirenz ou lopinavir, atualmente consideradas preferenciais para o tratamento inicial, quanto à sua resposta virológica, imunológica e perfil de toxicidade. Com este objetivo, realizamos um estudo prospectivo, aber-

to e randomizado, incluindo pacientes infectados pelo HIV, virgens de tratamento, idade superior a 18 anos, contagem de linfócitos T CD4+ inferior a 350 células/mm³ e carga viral superior a 5000 cópias/mL. Os esquemas terapêuticos consistiam em zidovudina e lamivudina, associadas ao efavirenz ou lopinavir. A resposta virológica foi avaliada pela proporção de pacientes que obteve carga viral inferior a 400 cópias/ml na 24ª semana de tratamento e inferior a 50 cópias/ml na semana 48. A resposta imunológica foi avaliada pela elevação dos níveis de linfócitos CD4+ na semana 24 e 48. O perfil de toxicidade foi avaliado pela frequência de eventos adversos e alterações laboratoriais. Entre setembro de 2004 e maio de 2006 foram avaliados 66 pacientes, sendo 43 deles incluídos no estudo. Destes, 39 participantes já alcançaram a semana 24 de acompanhamento, enquanto somente 26 atingiram a semana 48. Os grupos de pacientes apresentavam características basais semelhantes, quanto à idade, sexo, mediana de CD4 e carga viral. Na avaliação da resposta virológica, pela análise intention-to-treat, 90% dos pacientes que utilizaram efavirenz, atingiram o objetivo da semana 24, enquanto no subgrupo que utilizou

lopinavir foram 68% (p=0,18). O objetivo da semana 48 foi obtido por 85% dos pacientes que utilizaram efavirenz, enquanto no subgrupo que utilizou lopinavir foram 69% (p=0,61). Na análise on-treatment estas proporções foram respectivamente 95 versus 93% (p=0,84) e 100 versus 90%. O ganho médio de linfócitos T CD4+ no grupo que utilizou efavirenz foi de 117,5 ± 96, 1 células/mm³ na semana 24 e 206,9 ± 149,8 na semana 48, enquanto no grupo que utilizou lopinavir foi, respectivamente, 184,8 ± 131,8 (p=0,0330) e 221,3 ± 65,4 (p=0,4422). As duas drogas foram bem toleradas, não sendo necessário interromper seu uso em nenhum paciente. A evolução dos níveis de colesterol total, HDL, LDL, triglicerídeos, glicemia e enzimas hepáticas, foi semelhante nos dois grupos. Um número maior de pacientes perdeu o acompanhamento no grupo do lopinavir (dois óbitos e três abandonos) que no grupo do efavirenz (um óbito e um abandono). Os dados sugerem resposta virológica superior com o uso do efavirenz e resposta imunológica superior com o uso de lopinavir. Houve maior número de perdas no grupo do lopinavir. Ambas as drogas apresentaram um bom nível de segurança.

INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO DO GENE CYP2C9 SOBRE OS VALORES DE PRESSÃO ARTERIAL E RELAÇÃO COM RISCO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL

Gustavo Marin Arado

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Barbosa Coelho

Dissertação de Mestrado apresentada em 23/02/2007

A presença de hipertensão arterial é acompanhada de alteração da resistência vascular periférica, cujo controle depende de um balanço entre substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras. A enzima do complexo citocromo P450 (CYP) 2C9 é expressa nos rins e em vasos de resistência, sendo responsável pela biossíntese de ácidos epoxieicosatrienóicos (EETs) derivados do ácido araquidônico que apresentam efeito vasodilatador e natriurético. Em humanos, existe a presença de variantes genéticas para o *CYP2C9* (*2 e *3) com redução da atividade enzimática. Nosso objetivo foi o de estudar a relação entre a presença desses polimorfismos e o risco de hipertensão arterial (HA); determinar a prevalência do polimorfismo do gene *CYP2C9* em uma amostra da população brasileira; determinar a prevalência do polimorfismo do gene *CYP2C9* em uma amostra de pacientes portadores de

hipertensão arterial primária e estudar a influência do polimorfismo do CYP 2C9 sobre a pressão arterial em uma amostra de voluntários sadios. A determinação dos polimorfismos CYP2C9*2 e *3 foi realizada por RFLP-PCR utilizando-se primers específicos e as enzimas de restrição AvaII para o polimorfismo C₄₃₂T(*2) e a enzima de restrição AvaIII para o polimorfismo A₁₀₇₇T(*3). Foram estudados 102 voluntários sadios e 102 pacientes portadores de hipertensão arterial (classificados de acordo com a IV Diretriz Brasileira de Hipertensão). Foi feito cálculo de risco relativo (Odds ratio) através do software InStat (Graphpad). Foram comparadas as distribuições de genótipos e as frequências alélicas para os variantes *2 e *3 entre os grupos normotensos e hipertensos ou de acordo com a etnia através de teste exato de Fischer ou χ^2 . Os valores de pressão arterial de voluntários sadios foram comparados de acordo com o genótipo utilizando-se teste "t" de Student. Foram consideradas diferenças significantes aquelas com P<0,05. Todos os polimorfismos mostraram estar em equilíbrio de Hardy-Weimberger.

A frequência dos genótipos no grupo de pacientes hipertensos foi de 86,3% (CYP2C9*1/*1), 11,8% (CYP2C9*1/*2) e 2,0% (CYP2C9*2/*2) e para o CYP2C9*1/*1 CYP2C9*1/*3, CYP2C9*3/*3 foi de 86,3% 13,7% e 0%, respectivamente. A frequência dos genótipos no grupo controle para CYP2C9*1/*1, CYP2C9*1/*2, CYP2C9*2/*2 foi de 82,4%, 17,6% e 0,0% e para CYP2C9*1/*1, CYP2C9*1/*3 e CYP2C9*3/*3 foi de 85,7%, 13,3% e 1,0%, respectivamente. Não houve diferença entre os valores de frequências dos genótipos entre os grupos casos e controles [P= 0,193 (*2) e P= 0,591 (*3)]. Houve diferenças entre a distribuição das frequências alélicas dos variantes entre indivíduos brancos e negros, CYP2C9*2 (0,11 vs 0,02, P=0,01), CYP2C9*3 (0,08 vs 0,02, P=0,06). Não houve associação entre risco de hipertensão arterial e presença de ao menos um alelo polimórfico para o CYP2C9 (*2 or *3) [OR (95% CI): 0,92 (0,53-1,58), p > 0,05] comparado ao alelo selvagem CYP2C9*1. Em voluntários saudáveis, a pre-

sença de variantes polimórficos para o CYP2C9 não alterou os valores de pressão arterial sistólica ou diastólica. Em conclusão, os polimorfismos CYP2C9*2 e CYP2C9*3 do gene CYP2C9 são frequentes na população brasileira. A distribuição do polimorfismo entre brancos e negros possui diferenças significantes, sendo que a frequência alélica para o variante *2 e *3 é maior em brancos. Nos indivíduos auto-reportados como brancos foram encontradas frequências alélicas mais baixas (próximas aos limites inferiores) para os alelos polimórficos quando comparados aos valores de indivíduos “brancos” oriundos de outras populações com menor grau de miscigenação. O que poderia ser explicado pela miscigenação da nossa população branca com negros e asiáticos para os quais os variantes são raros. Na há influência desse polimorfismo sobre os valores de pressão arterial em uma população de indivíduos saudáveis e não há alteração do risco de hipertensão arterial associado aos variantes genéticos estudados.

EFEITOS AGUDOS DO MAGNÉSIO NA FUNÇÃO RESPIRATÓRIA DE PACIENTES COM DOENÇA PULMONAR OBSTRUTIVA CRÔNICA

Angélica Florípedes do Amaral

Orientador: Prof. Dr. José Antônio Baddini Martinez
Dissertação de Mestrado apresentada em 01/03/2007

O magnésio (Mg) possui efeitos farmacológicos potencialmente úteis na DPOC, tais como, broncodilatação, vasodilatação periférica e influência na contratilidade muscular. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos agudos do uso de Mg em *bolus*, sobre parâmetros funcionais respiratórios de pacientes com DPOC em fase estável. Foram estudados 22 pacientes do sexo masculino (idade: 64,1±6,0 anos; CVF:91,6±27,1%; VEF₁:49,2±20,0%, VEF₁/CVF:41,8±10,8%). Eles foram submetidos inicialmente a uma avaliação clínica e à dosagem de Mg plasmático. Compareceram ainda ao laboratório mais duas ocasiões com intervalo médio de 2,3 dias. Em ambas as ocasiões foram realizadas espirometrias e medidas da pressão expiratória (PEM) e inspiratória (PIM) máximas. Em seguida, de maneira cruzada e duplo-cega, receberam 2 gr de sulfato de Mg a 20% ou soro fisiológico, por via endovenosa, durante 15 minutos. Amostras sanguíneas para gasometria arterial e dosagem de Mg plasmático foram obtidas meia

hora após o término da infusão, quando também foram repetidas as medidas de função pulmonar. Os sinais vitais foram medidos pré-infusão, 10 minutos e 45 minutos após o início da infusão. Os níveis plasmáticos basais de Mg dos pacientes foram comparados com dados de grupo controle saudável pareado por sexo e idade. O grupo DPOC (1,65 ± 0,24 mEq/l) e o grupo controle (1,75 ± 0,26mEq/l) apresentaram concentrações médias de Mg plasmático próximas. O uso endovenoso de Mg esteve associado a quedas significantes da CRF (480 ml), pH (0,01), PaO₂ (2,0 mmHg), FC_{10min-pré} (11,6bpm) e da PAM_{10min-pré} (9,9 mmHg). O uso de Mg também levou a aumentos significantes da CI (200ml), PIM (10,0cmH₂O), PEM (10,7 cmH₂O), PaCO₂ (2,3 mmHg), FC_{45-10 min} (9,2bpm), e da PAM_{45-10 min} (6,1 mmHg). Não houve diferença significativa nas demais comparações. Os resultados obtidos indicam que pacientes com DPOC em fase estável apresentam níveis plasmáticos de Mg semelhantes aos indivíduos saudáveis de mesmo sexo e idade, e que a administração endovenosa de 2 g de Mg cursa com redução do grau de hiperinsuflação estática pulmonar, aumento das pressões respiratórias máximas, e alterações gasométricas sugestivas de hiperventilação alveolar.

ASSOCIAÇÃO DO NÍVEL DE LINFÓCITOS CD4, DA CARGA VIRAL E DO EFEITO DO TRATAMENTO PERIODONTAL NA SAÚDE DO PERIODONTO E NA COMPOSIÇÃO DA MICROBIÓTA SUBGENGIVAL EM PACIENTES COM AIDS

José Henrique Villaça

Orientadora: Profa. Dra. Alcyone Artioli Machado
Tese de Doutorado apresentada em 05/03/2007

A associação da doença periodontal e da microbióta subgengival com linfócitos CD4 e a carga viral (CV) em pacientes com aids tem sido relatada. O nosso objetivo foi avaliar essa associação dos níveis de linfócitos CD4, da CV e do efeito do tratamento periodontal na saúde do periodonto e na microbióta subgengival em pacientes com aids, submetidos ou não a terapia anti-retroviral.

30 pacientes com aids. 15 sob terapia anti-retroviral (G1) e 15 sem terapia anti-retroviral (G2) foram submetidos à terapia periodontal (TP), tiveram profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção clínica relativo (NI) registrados em seis sítios por dente e a microbióta subgengival coletada nos dois sítios mais profundos. A presença de 18 espécies subgengivais foi determinada pelo método *DNA Checkerboard*.

As avaliações clínicas e microbiológicas foram realizadas no início do estudo e após 30 dias do tratamento periodontal.

Os níveis médios de linfócitos CD4 foi maior no G1 ($331 \pm 185,70 \text{ cel/mm}^3$) ($p < .05$ – Mann-Whitney) e a CV maior nos pacientes do G2 ($176305 \pm 172466,7 \text{ cópias/mm}^3$) ($p < .05$ – Mann-Whitney). No início do estudo e aos 30 dias as PSs e os NIs não apresentaram diferenças entre os grupos 1 e 2. No entanto, na análise intra-grupo houve melhora desses parâmetros ($p < .05$ – Modelo Linear de Efeitos Mistos) e uma diminuição das bactérias periodontopatogênicas após o TP. Menor número de linfócitos CD4 e maior CV apresentaram maior frequência de detecção de bactérias periodontopatogênicas.

A terapia anti-retroviral, os níveis de linfócitos CD4 e a CV não influenciaram a PS e o NI. A terapia anti-retroviral não influenciou significativamente a da microbióta subgengival. No entanto os níveis de linfócitos CD4 e a CV influenciaram a frequência de detecção de bactérias periodontopatogênicas.

PAPEL DOS DEPÓSITOS DE FERRO NO FÍGADO E DAS MUTAÇÕES NO GENE *HFE* (C282Y E H63D) COMO FATORES PREDITIVOS DE PROGRESSÃO DA FIBROSE HEPÁTICA EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA

Fernanda Fernandes Souza

Orientadora: Profa. Dra. Ana de Lôurdes C. Martinelli
Dissertação de Mestrado apresentada em 08/03/2007

Depósitos de ferro no fígado são freqüentes na hepatite C crônica, entretanto sua relação com progressão da doença hepática é controversa. Mutações no gene *HFE* estão associadas a acúmulo de ferro, contudo seu papel na gravidade da lesão hepática na hepatite C ainda não está esclarecido. Os objetivos foram avaliar na hepatite C crônica o papel dos depósitos de ferro no fígado como fator preditivo de progressão da fibrose hepática; o papel das mutações no gene *HFE* na determinação dos depósitos de ferro e na gravidade da doença hepática e como fator preditivo na progressão da fibrose hepática e o papel de fatores de risco conhecidos na progressão da fibrose hepática. Foram incluídos 402 pacientes com hepatite C crônica e avaliados parâmetros clínicos, bioquímicos,

histológicos [fibrose, atividade necro-inflamatória (HAI), esteatose e depósitos de ferro] e mutações no gene *HFE* (C282Y/H63D). Pacientes foram divididos considerando-se grau de fibrose em grupos I (estádios 0,1,2,3) [170 pacientes] e II (estádios 4,5,6) [98 pacientes]. Foram considerados fibrosantes lentos (190 pacientes) ou rápidos (77 pacientes) se o tempo de desenvolvimento para cirrose foi ≥ 30 anos ou < 30 anos, respectivamente. Resultados: observaram-se depósitos de ferro no fígado em 43,9% dos pacientes e mutações no gene *HFE* em 30,9%. Não houve diferença entre os pacientes com e sem mutações no que tange aos parâmetros de sobrecarga de ferro, grau de fibrose hepática e HAI e presença de depósitos de ferro hepático. No grupo II observou-se maior proporção de pacientes com $\text{IMC} \geq 25\text{kg/m}^2$ que no I (72,3% e 56%, $p=0,009$). No grupo II os valores de GGT foram mais elevados ($p=0,001$) e o número de plaquetas menor ($p < 0,001$). O percentual de pacien-

tes com depósito de ferro hepático foi semelhante no grupo I (45,1%) e II (45,8%). Nos pacientes com depósitos de ferro hepático, escores de ferro total foram maiores no grupo II [6,11±3,64] que no I (4,84±3,03) ($p=0,04$), assim como escores de ferro depositado em tratos portais e zona 1. Não houve diferença na frequência das mutações *HFE* comparando-se grupo I (48/160 pacientes) e II (27/9). Escores de ferro no fígado foram maiores nos fibrosantes rápidos (6,58±3,8) que nos lentos (4,8±3,0) ($p=0,02$). Fibrosantes rápidos apresentaram maiores escores de ferro na zona 1, hepatócitos, sinusóides e tratos portais que os lentos. Mutação *HFE* foi observada em 54/177 dos fibrosantes lentos e em 21/72 dos rápidos, sem diferença estatística. A análise multivariada mostrou que $IMC \geq 25\text{kg/}$

m^2 , idade maior na biopsia hepática, $HAI \geq 9$, níveis mais elevados de GGT e contagem mais baixa de plaquetas foram fatores independentes associados à fibrose grave, enquanto que $HAI \geq 9$, presença de esteatose e contagem mais baixa de plaquetas foram fatores independentes associados aos fibrosantes rápidos. Conclusão: Mutações no gene *HFE* ou presença de depósitos de ferro no fígado não foram fatores de risco para gravidade da doença hepática na hepatite C crônica. Entretanto, houve associação entre intensidade dos depósitos de ferro hepático e grau de fibrose, especialmente, quando os depósitos eram na zona 1 e tratos portais. Foram fatores associados à gravidade da fibrose IMC, HAI, GGT, plaquetas e esteatose.

DEPÓSITOS DE FERRO NO FÍGADO: PAPEL DA LOCALIZAÇÃO E DA INTENSIDADE NA ATIVAÇÃO DAS CÉLULAS FIBROGÊNICAS E NA GRAVIDADE DA LESÃO HEPÁTICA EM PACIENTES COM HEPATITE C CRÔNICA

Andreza Corrêa Teixeira

Orientadora: Profa.Dra. Ana de Lúrdes C. Martinelli
Dissertação de Mestrado apresentada em 09/03/2007

A formação da fibrose hepática é um processo dinâmico e complexo mediado por necroinflamação e ativação de células fibrogênicas que participam da produção e acúmulo de matriz extracelular no fígado. Leve a moderada sobrecarga de ferro é comumente encontrada nos portadores de infecção crônica pelo vírus da hepatite C (HCV), com alguns estudos mostrando que esse grupo de pacientes apresenta lesão hepática mais grave. Os depósitos de ferro hepático podem produzir lesão celular significativa com sideronecrose, dano ao ácido desoxirribonucléico, ou mesmo efeito fibrogênico direto nas células estreladas hepáticas. Contudo, a relação entre depósitos de ferro no fígado, células fibrogênicas e mutação no gene *HFE* em pacientes com hepatite C crônica ainda não está esclarecida. Assim, se avaliou a associação entre localização e intensidade dos depósitos de ferro no fígado, com a gravidade da doença hepática, a população de células fibrogênicas, e a presença de mutações no gene *HFE* (C282Y e H63D) em pacientes com hepatite C crônica. Setenta e cinco pacientes foram avaliados da seguinte forma: 1) dosagens séricas de ferro, ferritina e saturação de transferrina; 2) frequência, localização e semi-quantificação dos de-

depósitos de ferro nos diferentes compartimentos hepáticos e zonas acinares; 3) gravidade da doença hepática, com avaliação da atividade histológica e fibrose (pela classificação de Knodell et al. 1981, modificada por Desmet et al., 1994 e pela morfometria); 3) número médio de células hepáticas positivas para alfa-actina de músculo liso (α -SMA) nas zonas de Rappaport; e 4) pesquisa das mutações no gene *HFE* (C282Y e H63D). Onze/setenta pacientes (15,7%) apresentaram ferro sérico alterado, com valor até 1,9 vezes o limite superior da normalidade. Ferritina sérica elevada foi encontrada em 19/68 pacientes (27,9%), com valores até 4,6 vezes o limite superior da normalidade; a saturação de transferrina $\geq 45\%$ foi vista em 27,1% dos pacientes. A mutação no gene *HFE* esteve presente em 19 pacientes (25,4%). Destes, 17 (22,6%) heterozigotos H63D, um (1,4%) homozigoto H63D e um (1,4%) heterozigoto C282Y. Depósitos de ferro no fígado foram observados em 51% dos pacientes, distribuídos principalmente nos hepatócitos e sinusóides (zonas acinares 1 e 2). Células α -SMA positivas foram encontradas principalmente na zona 1. Houve correlação positiva significativa entre células α -SMA positivas e atividade histológica ($P < 0,001$), bem como fibrose ($P < 0,001$). Não houve correlação entre depósito de ferro e atividade histológica ($P = 0,17$), mesmo quando analisados os diferentes compartimentos hepáticos (hepatócitos [$P = 0,19$], sinusóides [$P = 0,29$] e tratos portais [$P = 0,18$]). Não houve correlação entre

a presença de depósitos de ferro no fígado e fibrose ($P=0,24$), contudo essa correlação esteve presente quando avaliadas as células α -SMA positivas ($P=0,02$), principalmente na zona 3 do ácino hepático ($P=0,001$). Não houve relação entre a presença de mutação no gene *HFE* e depósito de ferro hepático ($P=0,84$). As-

sim, conclui-se que depósitos de ferro são comumente encontrados em pacientes com infecção crônica pelo HCV, tendo correlação positiva com a população de células fibrogênicas, principalmente na zona 3 do ácino hepático, o que reforça a associação entre depósitos de ferro no fígado e fibrogênese.

ESTUDO DOS VARIANTES GENÉTICOS DO CYP2C19 EM UMA AMOSTRA DE VOLUNTÁRIOS SÁDIOS

Soraia Aparecida Panice Moussa

Orientador: Prof.Dr. Eduardo Barbosa Coelho

Dissertação de Mestrado apresentada em 09/03/2007

O CYP2C19 é a principal enzima responsável na metabolização de uma série de fármacos como omeprazol, proguanil, diazepam, imipramina e citalopram. O CYP 2C19 é considerado polimórfico, sendo que existem dois fenótipos claramente identificados, com frequências variáveis de acordo com as populações estudadas. O principal mecanismo para a geração de fenótipos distintos reside no polimorfismo genético do *CYP2C19*. Dentre esses variantes, o CYP2C19*2 e o CYP2C19*3 apresentam uma frequência alélica elevada a ponto de justificar a sua genotipagem. Assim, este estudo foi feito com o objetivo de determinar a prevalência do polimorfismo do gene *CYP2C19* em uma amostra de voluntários sadios e comparar a frequência alélica dos polimorfismos do CYP2C19*2 e CYP2C19*3 entre os voluntários auto-reportados para a cor da pele. Em adição, o fenótipo oxidativo do CYP2C19, determinando através da razão metabólica do omeprazol, foi comparado com o polimorfismo genético CYP2C19*2. Nossa amostra foi composta de 202 brancos e 77 negros, todos “auto-reportados” para cor da pele. Para a identificar o polimorfismo do CYP2C19*2 e CYP2C19*3 foram amplificados fragmentos de DNA genômico utilizan-

do a técnica de RFLP-PCR (Restriction Fragment Length polymorphism – Polimerase Chain Reaction - Reação da Cadeia pela Polimerase (PCR), seguida de digestão por enzimas de restrição). O fenótipo oxidativo do CYP2C19 foi determinado através da razão metabólica do omeprazol com seu metabólito 5-hidroxiomeprazol quantificados por MS-MS após 3,5 h da administração oral de 20 mg de omeprazol em um subgrupo de 16 voluntários separados de acordo com o genótipo para o polimorfismo CYP2C19*2. Os resultados deste estudo mostraram que a frequência genotípica do CYP2C19 *2 foi de 71 % (*1/*1), 26,3 % (*1/*2), 2,7 % (*2/*2), e a frequência de genótipos para o variante polimórfico CYP2C19 *3 foi de 91,7% para o genótipo *1/*1, 8,3 % para o *1/*3 e nenhum voluntário homocigoto para o variante *3. A frequência alélica para o CYP2C19*2 foi de 15 % em brancos e 18 % em negros e a frequência alélica para o variante CYP2C19*3 foi maior em negros que em brancos (6% vs 3%), porém sem atingir significância estatística. Houve associação da presença do genótipo CYP2C19 *2/*2 com o fenótipo de metabolizador lento ($P<0,01$). Em conclusão, nós demonstramos que a presença do variante *2 é comum na população brasileira e descreve dados semelhantes aos observados nas demais populações estudadas. Em contraste, a presença do variante *3, que é raro ou praticamente ausente em populações negras estudadas, está presente em nossa amostra.

PERFIL DE CITOCINAS E POLIMORFISMO DE GENES DE CITOCINAS E DE HISTOCOMPATIBILIDADE EM PACIENTES COM HANSENÍASE NÃO TRATADOS DE ÁREA ENDÊMICA-CUIABÁ MT

Francisco Mário Monteiro Fortes

Orientador: Prof.Dr. Eduardo Antônio Donadi

Tese de Doutorado apresentada em 13/03/2007

O perfil de citocinas e os polimorfismos de genes, que codificam citocinas e antígenos de histocompatibilidade de classe II, foram avaliados em pacien-

tes com hanseníase, provenientes de área endêmica (Cuiabá MT), antes do início da poliquimioterapia. Após estudo histopatológico, realizado segundo critérios de Ridley & Jopling (1966), selecionou-se 50 pacientes, estratificados em paucibacilares (PB=34) ou multibacilares (MB=16) e suas respectivas formas clínicas: PB [Indeterminada (I=7), Tuberculóide (T=20), Dimorfo- Tuberculóide (DT=7)] e MB [Dimorfo (D=5), Dimorfo- Virchowiano (DV=3) e Virchowiano (V=8)] e, ainda, 50 indivíduos saudáveis, não comunicantes de pacientes com hanseníase, da mesma região. As citocinas ((TNF- α , IFN- γ , TGF- β 1 e IL-10) foram quantificadas, no soro, utilizando-se ELISA. Os polimorfismos de genes de citocinas (TNF- α , TGF- β 1, IL-10, IL-6, IFN- γ) e do complexo principal de histocompatibilidade (HLA-DR) foram tipificados, utilizando DNA genômico amplificado com iniciadores seqüências específicas. Comparados aos controles, apenas os pacientes com a forma clínica D apresentaram níveis séricos de IFN- γ estatisticamente significante. Comparados com os PB e controles, os MB portadores das formas DV e V apresentaram níveis séricos mais elevados de IL-10. Os níveis séricos do TGF- β 1 estavam aumentados nos PB portadores das formas DT e T, quando comparados com os controles e MB. A freqüência do genótipo (-1082) GCC/ ATA, relacionado com produção intermediária de IL-10, estava diminuída nos PB com a forma T. Os genótipos (-174) G/G e G/C, associados com alta produção de IL-6, foram mais freqüentes nos MB com a forma V. Os genótipos (-874) T/A e A/A, relaciona-

dos com alta e baixa produção de IFN- γ , apresentaram-se mais e menos frequentes respectivamente entre os PB com a forma DT. Os pacientes MB tipificados como médios produtores de IL-10 com genótipos (-1082) GCC/ ACC e GCC/ ATA apresentaram níveis séricos mais elevados da citocina em relação aos PB com o mesmo genótipo. Os pacientes MB tipificados como baixos produtores de IL-10 com genótipo (-1082) ATA/ ATA apresentaram níveis séricos mais elevados da citocina em relação aos PB e grupo total de pacientes. Pacientes PB tipificados como altos produtores de TGF- β 1 com genótipo (10,25) T/T G/G apresentaram níveis séricos mais elevados da citocina em relação aos MB e grupo total. Comparados com os controles, os grupos de alelos DRB1*01, DRB1*03 e DRB1*08 estavam associados com a doença, sendo que o alelo DRB1*01 estava aumentado no grupo total e PB com a forma I, DT e DV. O DRB1*03 estava diminuído no grupo total e PB. O DRB1*08 estava aumentado no grupo total e PB com a forma T. Ainda, a freqüência do grupo de alelos DRB3 estava diminuída entre os MB com a forma V e T. Os resultados dos níveis séricos de citocinas, dos sítios polimórficos dos genes de citocinas e dos genes que codificam os antígenos de histocompatibilidade de classe II, obtidos neste estudo, trazem contribuições importantes para a etiopatogenia da hanseníase, principalmente considerando-se que há poucos relatos da participação de citocinas e polimorfismos gênicos em pacientes não tratados de regiões de alta endemicidade

FARMACOLOGIA

ESTUDO DA ANTINOCICEPÇÃO INDUZIDA POR ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA DOS CÓRTICES OCCIPITAL E RETROESPLÊNIO

Gláucia de Melo Reis

Orientador: Prof.Dr. Willian Alves do Prado

Dissertação de Mestrado apresentada em 09/02/2007

A participação do córtex cerebral tem sido alvo de vários estudos. A percepção de dor pode ser alterada por estimulação elétrica direta do córtex. Entretanto, o conhecimento preciso sobre os mecanismos

neurais subjacentes à modulação da nocicepção ainda requer estudos futuros. Este estudo investigou se a estimulação elétrica (E.E) dos córtex retroesplênio (C.R.) ou occipital (C.O.) promove antinocicepção em modelo de dor aguda em ratos. Implantou-se cronicamente eletrodo unipolar no (C.O.) ou (C.R.) de ratos machos Wistars (160g), os quais foram submetidos ao teste de retirada de cauda (R.C.) e rota-rod. A (E.E)

do (C.O.) ou (C.R.) produz aumento imediato e corrente dependente da latência de R.C. A menor corrente necessária para produzir o efeito antinociceptivo, que ultrapassou em até 5 (cinco) minutos o período de estimulação, foi 15 μ A (C.O.) e 20 μ A (C.R.). Correntes de 20-50 μ A produziram efeitos similares àqueles gerados pela corrente de 15 μ A (C.O.) e 20 μ A (C.R.). Nenhuma diferença significativa ($p < 0,05$) foi observada entre o grupo controle e o grupo eletricamente estimulado até a corrente de 30 μ A no teste de rota-rod. O pré-tratamento do núcleo pretecal an-

terior (NPA) com lidocaína ou metisergida reduziu a duração mas não a intensidade da resposta à (E.E) do C.O. Pré-tratamento do NPA com lidocaína ou naloxona reduziu a duração e a intensidade da resposta à (E.E) do C.R. Estes resultados nos levaram a concluir que: (1) a (E.E) do C.R. ou C.O. produz antinocicepção no teste de R.C.; (2) estes efeitos dependem da integridade do NPA provavelmente via receptores serotoninérgicos(C.O.) e opiéides (C.R.); (3) a E.E de C.O ou C.R. não altera a integridade da função motora dos animais.

MODULAÇÃO DE EFEITOS PLEOTRÓPICOS DA ATORVASTATINA PELO POLIMORFISMO T-786C DAS SINTASE ENDOTELIAL DO ÓXIDO NÍTRICO EM VOLUNTÁRIOS SADIOS

Débora Cristine Souza da Costa

Orientador: Prof.Dr. José Eduardo Tanus dos Santos
Tese de Doutorado apresentada em 02/03/2007

As estatinas produzem efeitos independentes entre si que são chamados de efeitos pleiotrópicos. Além dos efeitos redutores do colesterol, as estatinas têm mostrado efeitos antiinflamatórios que podem resultar, pelo menos em parte, de um aumento da produção de óxido nítrico e podem ser modulados por polimorfismos no gene da óxido nítrico sintase endotelial (eNOS). Este trabalho avaliou se o polimorfismo T-786C do gene da eNOS afeta as concentrações de marcadores de aterosclerose e marcadores inflamatórios. Os marcadores avaliados foram CD40L solúvel, VCAM-1 solúvel, ICAM-1 solúvel, P-selectina solúvel, MCP-1, CRP ultra-sensível, MMP-2, MMP-9 e TIMP-1. Também foram avaliadas a agregação plaquetária, a peroxidação lipídica e a atividade de metaloproteinasas no sobrenadante rico em plasma após ativação das plaquetas e as concentrações plasmáticas de fibrinogênio. Para verificar se os efeitos pleiotrópicos induzidos pela atorvastatina são modulados pelo polimorfismo T-786C do gene da eNOS foram selecionados 200 voluntários homens saudáveis, brancos, não tagistas, os quais foram genotipados para o polimorfismo T-786C do gene da eNOS através da análise de fragmentos de restrição. Indivíduos com os genótipos "TT" (N=15) ou "CC" (N=15) foram tratados com placebo por 14 dias, seguidos de 14 dias de tratamento com atorvastatina 10 mg/dia via oral. As concentrações de marcadores inflamatórios foram

medidos por kits de ELISA e por zimografia. A peroxidação lipídica foi avaliada pelo ensaio de TBARS. A agregação plaquetária foi avaliada por agregação óptica. O colesterol total e o colesterol LDL foram significativamente reduzidos após tratamento com atorvastatina em ambos os grupos genotípicos ($P < 0,05$). Não foram observadas diferenças significativas nas concentrações de marcadores inflamatórios e plaquetários após placebo. Contudo, a atorvastatina reduziu significativamente as concentrações de CD40L solúvel, VCAM-1 solúvel, P-selectina solúvel e MMP-9 nos indivíduos "CC", mas não nos indivíduos "TT" ($P < 0,05$). Enquanto a atorvastatina reduziu as concentrações de CRP ultra-sensível em ambos os grupos genotípicos ($P < 0,05$), não foram encontrados efeitos significativos nas concentrações de ICAM-1 solúvel, MCP-1, pró-MMP-9, pró-MMP-2 e TIMP-1 plasmáticos, agregação plaquetária, MMPs no sobrenadante rico em plasma após ativação plaquetária e fibrinogênio. A peroxidação lipídica foi reduzida em ambos genótipos após o tratamento com atorvastatina ($P < 0,05$), porém não houve diferenças entre os genótipos. Esses resultados sugerem que o polimorfismo T-786C não afeta as concentrações de marcadores inflamatórios e plaquetários. Contudo, a atorvastatina produziu efeitos antiinflamatórios diferenciados entre os genótipos "TT" e "CC" mostrando que este modula os efeitos antiinflamatórios da atorvastatina. Esses achados podem ser relevantes para a prevenção primária de eventos cardiovasculares em indivíduos com o genótipo "CC" que podem apresentar um maior risco de doenças cardiovasculares e poderiam ser beneficiados com o tratamento com estatinas.

MECANISMOS INTRACELULARES ENVOLVIDOS NA HIPERNOCICEPÇÃO AGUDA INDUZIDA PELA ADMINISTRAÇÃO INTRATECAL DE INTERLEUCINA-1 β

1 β

Djane Braz Duarte

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Henrique Ferreira

Tese de Doutorado apresentada em 29/03/2007

A interleucina (IL)-1 β administrada por via intratecal (i.t.) induz hipernocicepção mecânica aguda bilateral em patas traseiras de ratos, que é inibida pelo tratamento com inibidor não-seletivo da ciclooxigenase (COX) administrado tanto centralmente (por via i.t.), quanto periféricamente (por via intraplantar - i.pl.). Esse conjunto de dados levou-nos a sugerir que a administração i.t. de IL-1 β induz hipernocicepção mecânica pela sensibilização do neurônio aferente primário (NAP), mediada por prostaglandinas (PGs). Este fenômeno de sensibilização pode ser decorrente de alterações pós-translacionais no NAP que podem ocorrer tanto no terminal central, quanto no periférico ou mesmo no corpo celular localizado no gânglio da raiz dorsal (GRD). As alterações supracitadas poderiam abranger, por exemplo, a ativação de uma cascata de mediadores intracelulares que incluem a proteinoquinase associada ao receptor de IL-1 (IRAK), a COX, proteinoquinas ativadas por mitógenos (MAPKs) e o fator de transcrição nuclear NF κ B. Destarte, o objetivo deste estudo foi avaliar as possíveis alterações intracelulares na via de sinalização da IL-1 [COX-1 e COX-2, IRAK, MAPKs (ERK1/2, p38 e JNK) e NF- κ B] que levariam à sensibilização do NAP pela administração i.t. de IL-1 β . Para isto utilizamos estudos comportamentais e bioquímicos visando caracterizar *in vivo* a participação desses segundos mensageiros. Os resultados demonstram que há envolvimento seletivo das isoformas de COX (1 e

2) nos mecanismos de hipernocicepção desencadeados pela IL-1 β , dependendo do sítio estudado. Centralmente a COX-2 parece ser mais importante, enquanto que periféricamente há predomínio da COX-1. Em seguida, avaliamos a participação da IRAK-4 utilizando como ferramenta farmacológica a inibição transitória desta proteína por meio do tratamento crônico com oligodeoxinucleotídeo antisense (ODN-AS). Os resultados indicam que a IRAK-4 parece ser fundamental na via de sinalização da IL-1, visto que o tratamento com ODN-AS inibiu a instalação do quadro de hipernocicepção aguda. Além disso, tratamento com ODN-AS diminuiu a expressão das formas fosforiladas das MAPKs ERK1/2, p38 e JNK em GRD de animais estimulados com IL-1 β . Dando continuidade à avaliação dos mecanismos intracelulares envolvidos na hipernocicepção induzida pela IL-1 β , o pré-tratamento i.t. ou i.pl. com os inibidores das MAPKs MEK (PD98059), p38 (SB203580) e JNK (SP600125) foi efetivo em reduzir a resposta hipernociceptiva induzida pela administração i.t. ou i.pl. de IL-1 β . Estes resultados sugerem que a ativação da IRAK leva a fosforilação da ERK1/2, p38 e JNK e que a ativação destas quinases está envolvida no fenômeno de sensibilização induzida pela IL-1 β . E para finalizar avaliamos a hipótese de que o fator de transcrição nuclear NF- κ B também estaria envolvido na hipernocicepção mecânica induzida pela administração de IL-1 β . O pré-tratamento com PDTC, uma droga que inibe indiretamente o NF- κ B, atenuou a hipernocicepção mecânica induzida pela administração de IL-1 β , sugerindo que esta citocina induz a ativação de NF- κ B. Os dados contribuem para o esclarecimento da via de sinalização intracelular ativada pela IL-1 no

fenômeno de sensibilização do NAP.

FISIOLOGIA

EFEITO DA DEXAMETASONA SOBRE A CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE

VASOPRESSINA DURANTE O
CHOQUE ENDOTOXÊNICO

EXPERIMENTAL
Marcelo Eduardo Batalhão

Orientadora: Profa. Dra. Evelin Capellari Cárnio
Dissertação de Mestrado apresentada em 15/01/2007

Os glicocorticóides podem reverter os distúrbios hemodinâmicos e a dependência de catecolaminas no choque séptico. Os mecanismos benéficos revelantes dos esteróides no choque séptico são desconhecidos, embora a óxido nítrico sintase induzível poderia contribuir para seu esclarecimento. O presente estudo foi realizado para avaliar a hipótese que a dexametasona, por meio do controle da síntese de óxido nítrico (NO) poderia regular a liberação da vasopressina (AVP), que desempenha um papel importante na regulação da pressão arterial e na osmolalidade plasmática. O choque endotoxêmico foi induzido em ratos

machos Wistar, por injeção intravenosa de 1,5 mg/kg de lipopolissacarídeo (LPS). A administração de LPS induziu uma significativa diminuição da pressão arterial média (PAM) com um concomitante aumento da frequência cardíaca. Um aumento na concentração plasmática de AVP ocorreu nestes animais e esteve presente por duas horas após a administração de LPS, retomando próximo aos níveis basais após isso e permanecendo inalterada até o fim do experimento. Quando o LPS foi combinado com a administração intravenosa de baixas doses de dexametasona (0,1 e 1,0 mg/kg), foi observado uma atenuação na queda da PAM e uma diminuição na concentração de nitrato plasmático (produto da degradação do NO). Entretanto esta

atenuação da queda da PAM foi acompanhada pela diminuição na concentração plasmática de AVP. Estes dados sugerem que o AVP não participa da recuperação da PAM quando dexametasona foi administrada durante este modelo de choque endotoxêmico.

INTERAÇÃO DA ATIVIDADE DO EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-ADRENAL E DA INGESTÃO ALIMENTAR EM ESTRESSE INDUZIDO PELA ENDOXEMIA NO RATO

Rodrigo Cesar Rorato

Orientadora: Profa. Dra. Lucila Leico Kagohara Elias
Dissertação de Mestrado apresentada em 25/01/2007

A resposta de fase-aguda frente a um processo inflamatório ou infeccioso agudo inclui entre outras alterações a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e alterações comportamentais como diminuição do apetite. O fator liberador de corticotrofina (CRF) participa na regulação do eixo HHA, bem como no processo de ingestão alimentar, cujos mecanismos neuroendócrinos de controle envolvem também a participação do hormônio estimulante de melanócito (α -MSH), peptídeo anorexígeno produzido no núcleo arqueado. Neste projeto, avaliamos a interação da atividade do eixo HHA, ingestão alimentar e expressão da proteína Fos, α -MSH e CRF no hipotálamo, em modelo de estresse induzido pelo LPS.

Ratos Wistar foram tratados com LPS (100 μ g/Kg, intraperitoneal) ou salina e foram decapitados 60 ou 120 minutos após, para coleta de sangue do tronco para dosagem de ACTH e corticosterona. Um outro

subgrupo de ratos recebeu o mesmo tratamento, sendo anestesiado e perfundido, 4 horas após a injeção de LPS ou salina, para obtenção de tecido cerebral para realização de imunistoquímica para Fos, α -MSH e CRF. A coleta de sangue foi realizada, também, em outros dois subgrupos de ratos que receberam tratamento (15 minutos antes) com veículo ou indometacina (10 mg/Kg) ou que foram submetidos à adrenalectomia bilateral ou cirurgia fictícia (*Sham*), 7 dias antes, previamente à administração de LPS ou salina. A administração de LPS induziu aumento das concentrações plasmáticas de ACTH e corticosterona e redução da ingestão alimentar, quando comparada ao grupo tratado com salina. Estas respostas foram associadas ao aumento de dupla marcação Fos/CRF na divisão parvocelular medial do núcleo paraventricular, porém não houve expressão de Fos no núcleo arqueado. O pré-tratamento com indometacina reduziu as respostas de ACTH e corticosterona, bem como o efeito anorexígeno induzidos pelo LPS. Com a adrenalectomia houve uma manutenção da resposta do ACTH ao estímulo com LPS. Adicionalmente, a redução da ingestão alimentar após LPS foi significativamente maior no grupo adrenalectomizado, quando comparada ao grupo *Sham*. Os dados obtidos indicam que as respostas de ativação do eixo HHA e redução da ingestão alimentar induzidas pela endotoxemia envolvem a participação de vias comuns, como a síntese de prostaglandinas. A ativação de neurônios CRHérgicos no

núcleo paraventricular poderia contribuir, também, para o efeito anorexígeno induzido pelo LPS. Adicionalmente, observou-se que a retirada dos glicocorticóides potencializa o efeito anorexígeno induzido pelo LPS, sugerindo uma modulação da ingestão alimentar pelos glicocorticóides, no modelo utilizado.

PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES SEROTONÉRGICOS 5-HT_{1A} E 5-HT₂ DO NÚCLEO DORSAL DA RAFE NA MODULAÇÃO DA IMOBILIDADE TÔNICA EM COBAIA

Mateus Dalbem Ferreira

Orientadora: Profa. Dra. Leda Menescal-de-Oliveira
Dissertação de Mestrado apresentada em 26/01/2007

A imobilidade tônica (IT) é uma resposta defensiva inata, caracterizada por um estado de profunda inatividade física e relativa falta de resposta a estímulos ambientais. O sistema serotoninérgico é um essencial neuromodulador de várias funções do SNC e a IT parece ser um comportamento altamente influenciado pelos níveis cerebrais de serotonina. Este sistema inerva um grande número de estruturas tanto do sistema nervoso central como do sistema nervoso periférico de vertebrados e invertebrados e pode estar relacionado à capacidade do organismo a se adaptar a alterações dos meios interno e externo. Os núcleos mediano e dorsal (NDR) da rafe abrigam neurônios responsáveis por quase 80% da inervação serotoninérgica localizados no mesencéfalo para estruturas do tronco encefálico e do prosencéfalo. Diante disto, o presente trabalho pretendeu investigar a influência serotoninérgica do núcleo dorsal da rafe na modulação do comportamento defensivo de imobilidade tônica em cobaias. A microinjeção de serotonina (1,0µg/

0,2µl) no NDR promoveu um aumento significativo na duração dos episódios de IT, enquanto que, uma dose maior (3µg/ 0,2µl) de 5-HT no mesmo sítio produziu um decréscimo da IT. Além disso, o agonista serotoninérgico de receptores 5-HT_{1A}, 8-OHDPAT, microinjetado no NDR promoveu uma diminuição da IT, efeito este revertido pela administração prévia de W A Y-100635 (antagonista 5-HT_{1A}). Já a injeção do agonista 5-HT₂ (alfa-metil-5-HT) no mesmo sítio aumentou a duração do comportamento defensivo de IT quando comparado com os grupos controle e sham, sendo o efeito bloqueado pela microinjeção prévia de cetanserina (antagonista 5-HT₂). Nossos resultados demonstram que o sistema serotoninérgico do núcleo dorsal da rafe está envolvido na modulação do comportamento defensivo de imobilidade tônica. Os receptores 5-HT_{1A} e 5-HT₂ estariam participando de maneira distinta na regulação deste comportamento, visto que a microinjeção do agonista 5-HT_{1A} promoveu diminuição da duração enquanto que o agonista 5-HT₂ induziu aumento da duração da IT. Estes receptores quando ativados poderiam promover uma hiperpolarização ou despolarização, respectivamente, dos neurônios 5-HT do NDR, produzindo assim, um balanço na liberação de 5-HT em áreas pós-sinápticas. Esta liberação promoveria uma modulação de neurônios e interneurônios de diversas áreas cerebrais, diminuindo ou aumentando a duração da IT. A ação da ativação destes receptores do NDR modulando a IT, poderia ocorrer também por projeções para estru-

turas bulbares, que através de vias descendentes poderiam ativar ou inibir motoneurônios envolvidos no reflexo de endireitamento. Assim, a inibição ou o aumento do reflexo de endireitamento produziria respectivamente um aumento ou uma diminuição na duração da IT.

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES IONOTRÓPICOS PURINÉRGICOS E

GLUTAMATÉRGICOS NA NEUROTRANSMISSÃO DO QUIMIORREFLEXO NOS NTS CAUDAL NA PREPARAÇÃO CORAÇÃO-TRONCO CEREBRAL ISOLADOS DE RATOS

Renato Nery Soriano

Orientador: Prof. Dr. Benedito H. Machado
Dissertação de Mestrado apresentada em 08/02/2007

Diante das evidências encontradas na literatura que: a) o componente simpatoexcitatório do quimiorreflexo não é alterado após o antagonismo dos receptores ionotrópicos e/ou metabotrópicos do glutamato (Haibara e cols., 1999; Machado e Bonagamba, 2005; Braga e Machado, 2006); b) a microinjeção do glutamato no NTS caudal promove simpato-excitação (Braga e cols., 2006); c) ocorre uma interação entre o ATP e o glutamato nos neurônios do NTS caudal (Kato

e Shigetomi, 2001; Shigetomi e Kato, 2004; Jin e cols., 2004); e d) a microinjeção do ATP no NTS caudal promove respostas pressora e taquipnéica semelhantes àquelas do quimiorreflexo (Antunes e cols., 2005a; 2005b), o principal objetivo do presente trabalho foi avaliar se o ATP atuando sobre os receptores P2x e interagindo com o glutamato estaria envolvido na neurotransmissão dos componentes simpato-excitatório e respiratório do quimiorreflexo no NTS caudal.

Utilizamos em todo o nosso estudo a preparação coração-tronco cerebral isolados, a qual a) consiste numa preparação descerebrada, não sendo necessário, pois, o uso de anestésicos durante os experimentos; b) permite o registro direto da atividade simpática e do nervo frênico; c) é retrogradamente perfundida a uma pressão de perfusão média de 65 mmHg, funcionando, portanto, sem a influência tônica do barorreflexo; e d) apresenta a superfície dorsal do tronco cerebral exposta, o que facilita as microinjeções no NTS, aumentando o índice de acerto.

Nossos resultados mostraram que a microinjeção do α, β -metileno-ATP, agonista de receptores purinérgicos P2x, promoveu bradicardia, simpato-excitação e redução na ANF, enquanto que a microinje-

ção do ATP gerou bradicardia, simpato-excitação e aumento na ANF. Os efeitos promovidos pela microinjeção do ATP não parecem ser decorrentes de sua degradação em adenosina, pois a microinjeção dessa purina, na concentração máxima testada (35 mM), não promoveu nenhuma alteração na FC, ANF ou ANSt. Por essa razão, parece que a disparidade entre os efeitos promovidos pelos agonistas P2, α, β -metileno-ATP e ATP, pode ser atribuída à interação do ATP com seus receptores P2y. O antagonista de receptores purinérgicos P2x, PPADS (20 mM), foi efetivo no bloqueio das respostas promovidas pela microinjeção do α, β -metileno-ATP, porém não afetou as respostas do quimiorreflexo. As microinjeções bilaterais do PPADS ou da combinação PPADS + KYN (duplo bloqueio) não afetaram a resposta taquipnéica do quimiorreflexo, indicando que os receptores ionotrópicos purinérgicos e glutamatérgicos, pelo menos ao nível do NTS caudal, não parecem estar envolvidos com processamento dessa resposta. A resposta simpato-excitatória do quimiorreflexo foi significativamente atenuada após o duplo bloqueio dos receptores purinérgicos e glutamatérgicos.

Diante desses achados concluímos que a neu-

rotransmissão do componente respiratório do quimiorreflexo no NTS caudal não parece ser mediada pelos sistemas glutamatérgico e purinérgico, enquanto a neurotransmissão do componente simpatoexcitatório do quimiorreflexo no NTS caudal envolve esses dois sistemas, os quais atuam por meio de mecanismos que ainda precisam ser estudados e esclarecidos.

MECANISMOS GLUTAMATÉRGICOS E PURINÉRGICOS NA NEUROTRANSMISSÃO DOS COMPONENTES VENTILATÓRIO E SIMPATO-EXCITATÓRIO DO QUIMIORREFLEXO NO NÚCLEO DO TRATO SOLITÁRIO DE RATOS NÃO-ANESTESIADOS

Alex Lopes Braccialli

Orientador: Prof. Dr. Benedito H. Machado

Dissertação de Mestrado apresentada em 02/03/2007

A ativação do quimiorreflexo com a injeção intravenosa de cianeto de potássio (KCN) em ratos não-anestesiados promove resposta pressora, bradicardia, taquipnéia e uma importante resposta comportamental. Nosso principal objetivo neste estudo foi avaliar os

neurotransmissores envolvidos na mediação dos componentes simpato-excitatório e ventilatório do quimiorreflexo no NTS caudal. Estudos prévios demonstraram que a bradicardia do quimiorreflexo foi reduzida pela ação de antagonistas dos receptores NMDA, mas nenhuma alteração foi observada na resposta pressora após o bloqueio desses receptores no NTS. Evidências sugerem que a resposta ventilatória do quimiorreflexo seja mediada pelo L-Glu e pelo ATP e os seus respectivos receptores no NTS. O presente estudo avaliou a possível participação conjunta dos receptores glutamatérgicos ionotrópicos e purinérgicos P2 no processamento dos componentes simpato-excitatório e ventilatório do quimiorreflexo no NTS de ratos não-anestesiados e com livre movimentação. O bloqueio exclusivo dos receptores ionotrópicos glutamatérgicos com a microinjeção de ácido quinurênico (AQ, 2 nmol / 50 nL) no NTS caudal promoveu um aumento significativo da frequência respiratória basal, mas nenhu-

ma alteração foi observada nas respostas pressora e ventilatória do quimiorreflexo. O bloqueio exclusivo dos receptores purinérgicos P2 com a microinjeção de pyridoxal phosphato-6-azophenyl-2',4'-ácido disulfônico (PPADS, 0.25 nmol / 50 nL) na mesma sub-região do NTS não promoveu alteração nas respostas pressora e ventilatória do quimiorreflexo. No entanto, o bloqueio simultâneo dos receptores ionotrópicos glu-

tamatérgicos e purinérgicos P2 com a microinjeção sequencial de AQ e PPADS no NTS caudal de ratos não-anestesiados promove redução significativa nas respostas pressora e bradicárdica, sem alterar a resposta ventilatória frente a ativação do quimiorreflexo em ratos não-anestesiados. A microinjeção do veículo (salina) no NTS caudal não promoveu alterações nas respostas cardiovasculares e respiratórias a ativação

do quimiorreflexo em ratos não-anestesiados. O conjunto dos resultados demonstra que a microinjeção conjunta dos antagonistas AQ e PPADS no NTS caudal é necessária para promover redução significativa da resposta pressora à ativação dos quimiorreceptores periféricos. Podemos sugerir que mecanismos glutamatérgicos e purinérgicos estejam envolvidos nas complexas vias de neurotransmissão do componente simpato-excitatório do quimiorreflexo no NTS caudal de ratos não anestesiados.

GENÉTICA

ESTUDO MUTACIONAL DO GENE *PAX6* E DE SNPS DOS GENES *TP53* E *WRN* EM GLIOMAS HUMANOS

Giovanny Rebouças Pinto

Orientadora: Profa. Dra. Cacilda Casartelli

Tese de Doutorado apresentada em 15/03/2007

O gene *PAX6*, membro da família de genes *Box* pareados, codifica um fator de transcrição que desempenha um papel importante no desenvolvimento do sistema nervoso central. O gene *WRN*, membro da família *RECQ*, codifica uma proteína envolvida na resposta ao dano no DNA durante o processo de replicação, recombinação e transcrição. Recentemente, tanto *PAX6* quanto *WRN* foram reconhecidos como genes

de supressão tumoral, categoria que tem como principal representante o gene, freqüentemente mutado em câncer, *TP53*. Os objetivos desse estudo foram: analisar o estado mutacional das regiões codificantes e reguladoras de *PAX6* em gliomas; e determinar, em um estudo caso-controle, o papel dos SNPs *TP53* Pro47Ser, Arg72Pro e *WRN* Cys1367Arg no desenvolvimento e prognóstico dos gliomas. Foram analisadas amostras de DNA de 94 pacientes com gliomas e de 100 indivíduos controle saudáveis. As seqüências do gene *PAX6* foram triadas por PCR-SSCP e nenhuma mutação foi encontrada nos fragmentos analisados. Por esse motivo, concluímos que o papel de supressão tumoral de *PAX6*, relatado em estudos prévios com gliomas, não é devido à mutação de suas regiões codificantes e reguladoras. No estudo caso-controle os genótipos dos SNPs foram determinados por PCR-RFLP. Observamos que a distribuição genotípica dos SNPs *TP53* Pro47Ser, Arg72Pro e *WRN* Cys1367Arg estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg nos grupos analisados.

As comparações de distribuições genotípicas e de frequências alélicas pelo teste do Qui-Quadrado não revelaram diferenças significativas entre os grupos caso e controle ($p > 0,05$). Nossos resultados apóiam a idéia de que

essas variantes não são fatores de suscetibilidade para o desenvolvimento de gliomas, pelo menos na população brasileira.

IDENTIFICAÇÃO DE GENES REGULARES PELO MECANISMO DE METILAÇÃO EM LI-

NHAGENS TUMORAIS DE CABEÇA E PESCOÇO

Carla Martins Kaneto

Orientador: Prof. Dr. Wilson Araújo da Silva Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 28/03/2007

Alterações no padrão normal de metilação do DNA têm sido caracterizadas como um importante mecanismo na gênese de neoplasias. Esta modificação do DNA é denominada de epigenética uma vez que altera o padrão de expressão das células sem alterar a seqüência do DNA. No câncer, as alterações epigenéticas observadas consistem na hipermetilação das ilhas CpG nos promotores dos genes acompanhada de uma hipometilação global dos dinucleotídeos CpG dispersos pelo genoma. Este evento mostra geralmente se câncer-específico, ou seja, alguns genes que são metilados em um tipo de câncer, não o são na maioria dos outros tipos. O objetivo deste projeto foi identificar, através da construção de bibliotecas subtrativas de RaSH, genes silenciados por metilação nas linha-

gens de câncer de cabeça e pescoço FaDu, UM-SCC-14A, UM-SCC-17A e UM-SCC-38 e que possuem expressão induzida após o tratamento com o agente demetilante 5-aza-2-deoxicitidina. Uma vez que a metilação leva a diminuição gradual da expressão gênica, o método RT-PCR semi-quantitativo foi utilizado para validação da expressão diferencial dos genes candidatos PLAU, CD82, RBBP4, AOF2, TMSB10, HSPA5 e LAMC2 nas linhagens não tratadas e tratadas com o agente demetilante 5-aza-2-deoxicitidina. Para todos os genes candidatos foi observado aumento na expressão gênica após o tratamento em pelo menos uma das quatro linhagens. Na linhagem UM-SCC-14 A, os genes CD82, RBBP4, AOF2, HSPA5 e LAMC2 mostraram aumento na expressão após o tratamento com o agente demetilante, sendo que o gene

LAMC2 também mostrou esse aumento de expressão na linhagem UM-SCC-17A. Na linhagem UM-SCC-38A todos os genes mostraram aumento de expressão após o tratamento. Embora novos estudos sobre a

metilação da região promotora dos genes selecionados sejam necessários, aumentam as evidências de que os genes selecionados sejam regulados pelo mecanismo de metilação e que estejam metilados nas linhagens estudadas.

ANÁLISE DOS MICRORNAS MIR-223 E MIR-155 EM LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

Eliana da Silva Nascimento

Orientador: Prof. Dr. Wilson Araújo da Silva Júnior
Tese de Doutorado apresentada em 28/03/2007

A Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) é uma desordem linfoproliferativa, caracteriza-se pela expansão clonal dos linfócitos. Acomete principalmente indivíduos idosos e sua incidência aumenta exponencialmente com a idade tanto em homens quanto em mulheres. Sua origem ainda não é totalmente compreendida, mas acredita-se que as células B leucêmicas derivam de linfócitos B maduros, imunologicamente competentes e que já tiveram contato com o antígeno. Vários estudos vêm sendo realizados na tentativa de compreender a patogênese dessa doença. Atualmente, estudos envolvendo microRNAs vem ganhando destaque. Os microRNAs são moléculas que tem função de reguladores pós transcricionais. Sua desregulação está associada ao desenvolvimento de cân-

cer. Uma associação entre LLC e microRNA é demonstrada no trabalho de Calin e colaboradores onde eles afirmam que um padrão de expressão de microRNA está fortemente associado com os fatores prognóstico da LLC e que os microRNAs podem ser usados como marcadores prognósticos, além disso, eles encontraram mutações em dois microRNAs, miR-16-1 e miR-15a, e sugerem que essa classe de genes está envolvida na patogênese da LLC e que alguns microRNAs podem funcionar como supressores de tumor. Neste trabalho, em uma biblioteca de SAGE de amostras de LLC mutada e não-mutada dois genes alvos de cada microRNA foram selecionados para validação: HLA-DOB, CD72 (alvos do miR-155), THAP7 e HAX1 (alvos de miR-223). O critério adotado na escolha dos alvos dos microRNAs mir-223 e mir-155 foi a expressão inversa dos alvos em relação a dos microRNAs. Este critério parte do princípio de que os microRNAs modelam a expressão de seus alvos negativamente. A análise de expressão dos alvos dos microRNAs em amostras de LLC mutada e não-mutada pelo método de qRT-PCR confirmou a expressão revelada pelos dados de SAGE. Os dados de qRT-PCR dos microRNAs e de seus alvos plotados em conjunto revelou que os genes CD72, HAX-1 e THAP7 e seus respectivos microRNAs apresentaram expressão opostas mais clara, porém no caso do gene HLA-DOB, foi apresentado apenas uma ligeira inversão de expressão em relação seu microRNA.

Este trabalho descreve uma abordagem alternativa para identificar novos alvos de microRNAs através da avaliação simultânea da expressão dos microRNAs e de seus alvos no mesmo experimento de SAGE e ainda

propõe a validação de alvos de microRNAs a partir de dados de SAGE. Dos alvos selecionados o gene CD72 representa um excelente candidato a alvo terapêutico.

ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DE LOBO TEMPORAL HUMANO DIREITO E ESQUERDO AVALIAÇÃO DA ASSIMETRIA CEREBRAL

Camilo Del Cistia Andrade

Orientador: Prof. Dr. Wilson Araújo da Silva Júnior
Tese de Doutorado apresentada em 29/03/2007

Algumas das habilidades particulares do cérebro são suas funções especificamente ligadas às áreas anatomicamente definidas. Apesar do grande

interesse, as bases moleculares da Assimetria funcional do cérebro permanecem amplamente inexploradas, porém alguns estudos apontam para funções de regiões específicas, como o Giro Temporal Superior do hemisfério cerebral esquerdo estar envolvido na habilidade da fala. Para a avaliação das bases moleculares da assimetria funcional anatômica, nós utilizamos a Análise serial da Expressão Gênica (SAGE) para gerar um perfil transcricional dos Giro Temporais dos hemisférios direito e esquerdo do cérebro de indivíduos adultos, onde realizamos a comparação de cada biblioteca, permitindo a seleção de candidatos a genes assimetricamente expressos. Entre os genes selecionados, nós encontramos um receptor GABA (GABRA5), previamente demonstrado ser assimetricamente expresso e associado a genes da família "N-ethylmaleimidesensitive factor" (NSF), que

regulam a estabilidade dos receptores GABA (A) na superfície celular. Somando-se a ao GABRA5, genes

como APP e MAPK10 foram também selecionados e podem estar ligadas as progressões assimétricas da doença de Alzheimer. Nossas análises moleculares do Giro Temporal Direito e Esquerdo possibilita o acréscimo de informações no estudo das assimetrias cerebrais, correlacionando as descobertas moleculares com as observações funcionais, criando as bases para futuros estudos.

ESTUDO DOS GENES EXPRESSES NA OSTEOGÊNESE

Ciane Martins de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Wilson Araújo da Silva Júnior
Tese de Doutorado apresentada em 29/03/2007

As células-tronco mesenquimais são precursores multipotentes presentes na medula óssea humana, que em função do estímulo, podem se diferenciar em osteócitos, condrócitos, adipócitos, tenócitos, miócitos, astrócitos e células estromais. Para identificar os genes envolvidos na via de diferenciação osteogênica, foi analisado o perfil de expressão gênica de células-tronco mesenquimais indiferenciadas e de células-tronco mesenquimais estimuladas por um dia, dois dias e sete dias, à linhagem osteogênica. O método utilizado para a análise foi a biblioteca subtrativa. Assim, foram geradas 2793 seqüências e os genes mais representativos foram: FN1, CTGF, DNAPTP3, S100A6,

ITGA5, GNAS1, RPL28, SNRBP, ARD1A e CALD1. Os genes FN1 e DNAPTP3 possuem uma região de sobreposição localizada na porção final de FN1 e inicial de DNAPTP3, tal sobreposição sugere a possibilidade do gene DNAPTP3 está modulando a expressão do gene FN1. Em leucemias há uma correção entre os genes DNAPTP3 e FN1, onde é possível que o RNAm do gene DNAPTP3 hibride-se com a região complementar do gene FN1 e ative sua maquinaria endógena de silenciamento gênico.

GINECOLOGIA E OBSTETRÍCIA

DENSIDADE MAMOGRÁFICA ANTES E APÓS O USO DE TIBOLONA: AUXÍLIO DA IN-

FORMÁTICA

Marcelo Ballaben Carloni

Orientador: Prof. Dr. Hélio Humberto Angotti Carrara
Dissertação de Mestrado apresentada em 26/01/2007

A terapia hormonal na menopausa tem sido objeto de muita contradição nos últimos anos, pois trabalhos mostram resultados contraditórios quanto a benefícios e riscos para as usuárias. Ficou demonstrada, em alguns trabalhos, a maior incidência de carcinoma de mama em usuárias de terapia hormonal clássica e, portanto, existe uma constante busca no que diz respeito ao refinamento de métodos diagnósticos e avaliação dos efeitos das novas drogas na mama. Dentre as drogas mais modernas, a tibolona vem se destacando por apresentar poucos efeitos colaterais, principalmente relacionados à mama. Esta droga apresenta três metabólitos com ação tecidual específica. Assim, efeitos androgênicos, estrogênicos ou progestênicos podem ser observados na dependência do órgão alvo estudado. Os objetivos de nosso estudo foram avaliar um método de análise computadorizada da densidade mamográfica e, ao mesmo tempo, avaliar os efeitos da tibolona na densidade dessas mamografias. Em nosso estudo, foram avaliadas 26 pacientes na pós menopausa e que tinham indicação do uso de terapia hormonal oral, de acordo com o protocolo vigente no Setor de Endocrinologia Ginecológica do Centro de Saúde Escola da Faculdade de Medicina de

Ribeirão Preto-USP. Essas pacientes receberam tibolona na dose de 2,5 mg/dia por 24 semanas. Todas foram submetidas à mamografia antes e após o uso da droga sendo, durante a realização do exame, colocado sobre a plataforma de compressão da mama (Buck) um objeto de referência (escala em acrílico confeccionada para essa finalidade) na intenção de normalizar os exames pré e pós-tratamento. Além disto, as mamografias foram submetidas à avaliação de dois examinadores com o intuito de verificar variações da densidade mamográfica. Essas mesmas mamografias, após normalização pelo objeto de referência, também foram submetidas à análise computadorizada da densidade. Foram realizadas comparações entre os resultados da avaliação da densidade da mama antes e após o uso da tibolona tanto nos laudos dos examinadores, quanto nas imagens digitalizadas. Foi feito também comparação inter-examinadores. As análises comparativas das densidades das grafias antes e após o uso da tibolona não mostraram variações significativas tanto na análise dos examinadores quanto na análise computadorizada. A análise comparativa inter-examinadores mostrou uma tendência à variação entre as classificações da densidade mamográfica, apesar de não ser estatisticamente significativa. Podemos concluir que a tibolona, se administrada a pacientes na pós meno-

pausa, na dose de 2,5 mg/dia por 24 semanas não causa variação da densidade mamográfica. Desta forma, a avaliação computadorizada da densidade mamográfica pode ser usada como método auxiliar aos radiologistas, em casos de mamas mais densas permitindo uma melhor avaliação desses casos.

PROLIFERAÇÃO E APOPTOSE EM ENDOMÉTRIO TÓPICO E ECTÓPICO DE PACIENTES COM ENDOMETRIOSE PERITONEAL, OVARIANA E DE SEPTO RETO-VAGINAL

Flávia Maciel de Aguiar

Orientador: Prof. Dr. Rui Alberto Ferriani
Dissertação de Mestrado apresentada em 23/02/2007

Tanto o endométrio tópico quanto o ectópico de mulheres com endometriose exibem uma série de anormalidades. A importância da proliferação celular e da apoptose na gênese da endometriose vem sendo estudada, mas os resultados ainda são controversos. O objetivo desse estudo foi comparar o padrão de pro-

liferação celular e de apoptose no endométrio tópico e ectópico de pacientes com endometriose, avaliando separadamente as lesões peritoneais, os endometriomas ovarianos e as lesões de septo reto-vaginal. Foi avaliada a expressão do marcador de proliferação celular PCNA e o marcador de apoptose *fas* em 22 amostras de endométrio tópico e ectópico de mulheres com endometriose, na fase proliferativa do ciclo menstrual (lesão peritoneal = 6 casos; lesão ovariana = 10 casos; lesão de septo reto-vaginal = 6 casos), avaliando separadamente tecido glandular e estromal. Foi observado maior índice de proliferação celular (IPC) no componente glandular do tecido endometrial ectópico quando comparado ao tópico ($0,12 \pm 0,04$ e $0,18 \pm 0,06$, respectivamente) ($p = 0,034$). No tecido ectópico, foi observado maior IPC na lesão peritoneal quando

comparada somente com a lesão de septo reto-vaginal ($0,14 \pm 0,07$ e $0,01 \pm 0,01$, respectivamente) ($p=0,009$). Na avaliação do estroma, encontramos maiores IPC no tecido tópico do que no ectópico ($0,05 \pm 0,01$ e $0,02 \pm 0,01$, respectivamente) ($p=0,01$). O estroma do endométrio tópico das lesões peritoneais apresentou maior IPC que o correspondente da lesão

ovariana ($0,09 \pm 0,02$ e $0,04 \pm 0,01$, respectivamente) ($p=0,04$). Não foi observado diferença na expressão do marcador *fas* entre o endométrio tópico e ectópico, ou entre as diversas lesões endometrióticas.

Os resultados confirmam a participação de mecanismos de proliferação celular na gênese da endometriose, com especial importância nas lesões peri-

toneais, reforçando a teoria de que estas lesões sofrem regulação distinta dos seus mecanismos intrínsecos de crescimento e manutenção. A via de apoptose relacionada às proteínas de membrana da família do *fas/fas-L*

parece não ser importante, mas futuros trabalhos são necessários para confirmar estes dados.

OCORRÊNCIA FAMILIAL E ASSOCIAÇÃO DE POLIMORFISMOS DOS GENES H19 E IGF2 COM AS SÍNDROMES HIPERTENSIVAS GESTACIONAIS

Francielle Marques Araujo

Orientadora: Profa.Dra. Ester Silveira Ramos

Dissertação de Mestrado apresentada em 05/03/2007

As síndromes hipertensivas gestacionais [Pré-eclâmpsia/eclâmpsia (PE/E), hipertensão gestacional (HG) e hipertensão arterial crônica (HAC)] estão entre as maiores causas de morte materna e fetal. A PE é a mais prevalente dessas síndromes e o papel dos fatores genéticos na sua etiologia é bem aceito, embora o padrão de herança seja ainda assunto para debate. Os genes *H19* e *IGF2* sofrem *imprinting* (marcação) genômico e estão envolvidos na formação placentária e no desenvolvimento fetal. O objetivo do presente trabalho foi a pesquisa de ocorrência familiar e da associação com os polimorfismos *H19/RsaI* e do *IGF2/ApaI* das síndromes hipertensivas gestacionais e do peso do recém-nascido. Todas as pacientes do estudo foram atendidas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética deste hospital e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Para a condução do estu-

do familiar foram selecionadas 226 mulheres (75 apresentavam PE, 49 com HG e 102 do grupo controle). Os dados foram analisados pelos Testes Exato de Fisher e do Qui-quadrado, resultando em uma maior frequência estatisticamente significativa ($p < 0,05$) de parentes de primeiro-grau com PE/E entre o grupo de PE/E comparado aos outros grupos. Não foi observada influência da “cor da pele” na distribuição entre os grupos de pacientes. Para a pesquisa de polimorfismos de comprimento de fragmento de restrição *H19/RsaI* (alelos A e B) e *IGF2/ApaI* (alelos A e G) através da reação em cadeia da polimerase, foi extraído DNA de sangue periférico de 236 pacientes (55 apresentavam PE, 40 com HG, 34 com HAC e 107 do grupo controle). Os resultados, analisados através dos Testes do Qui-quadrado e G, não mostraram associação estatisticamente significativa entre os polimorfismos e as síndromes hipertensivas gestacionais ou HAC. Houve uma maior frequência do alelo G na população estudada. Foi observado que em torno de 80% das pacientes dos quatro grupos estudados apresentou pelo menos uma cópia do alelo B e uma do alelo G, concomitantemente. A associação do peso do recém-nascido com os polimorfismos foi analisada utilizando-se os Testes Kolmogorov-Smirnov ($a P < 0,05$) e os Não-paramétricos de Kruskal-Wallis ($a P < 0,05$), não tendo sido evidenciadas diferenças estatisticamente significativas. No grupo da PE houve uma diminuição estatisticamente significativa do peso dos recém-nascidos quando não havia correção para a idade gestacional.

Embora não tenha sido evidenciada correlação entre os polimorfismos e os fenótipos estudados, trabalhos futuros com um número amostral maior serão importantes para auxiliar no entendimento do envolvimento de fatores epigenéticos nas síndromes hipertensivas gestacionais e fornecer indícios para a prevenção, o tratamento e o aconselhamento genético.

IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA

ADMINISTRAÇÃO PROFILÁTICA E TERAPÊUTICA DA LECTINA KM+ PROTEGE CAMUNDONGOS CONTRA INFECÇÃO POR *Paracoccidioides brasiliensis* ATRAVÉS DE UM MECANISMO DEPENDENTE DE INTERLEUCINA-12

Kely Cristine Coltri

Orientador: Prof. Dr. Ademilson Panunto Castelo
Tese de Doutorado apresentada em 17/01/2007

Demonstrou-se previamente que KM+, uma lectina ligante de manose de sementes de jaca (*Artocarpus heterophyllus*), induz a produção de interleucina (IL) -12 por macrófagos, o que propicia o desenvolvimento de uma resposta imunitária do tipo T helper (Th)1 e protege contra *Leishmania major*. Devido à resistência a infecção por *Paracoccidioides brasiliensis* ser altamente correlacionada com a indução de resposta Th1, no presente estudo objetivamos de-

terminar o efeito profilático e terapêutico de KM+ extraído de planta (jfKM+), bem como do recombinante dessa lectina (rKM+), no curso da paracoccidioidomicose experimental. Nesse sentido, jfKM+ ou rKM+ foi administrada profilaticamente em camundongos BALB/c, 10 e 3 dias antes da infecção, ou terapeuticamente, 10 dias após a infecção com *P. brasiliensis*. Nos dias 14 e 30 pós-infecção, pulmões dos camundongos tratados com KM+ apresentaram um número de unidades formadoras de colônias 86% menor que a do grupo controle e ausência ou poucos granulomas bem organizados. Além disso, macerados dos pulmões dos camundongos tratados com KM+ apresentaram maiores níveis de óxido nítrico, IL-12, interferon-gama e fator de necrose tumoral-alfa, enquanto nos grupos controles foram detectados altos níveis de IL-4 e IL-10. A fim de estudarmos o papel imunomodulador de KM+, usamos camundongos que eram deficientes de IL-12 e MyD88. Camundongos deficientes de IL-12 infectados com *P. brasiliensis*, quando tratados com KM+, mantinham padrões de gravidade da infecção similares aos animais WT não vacinados. Além disso, KM+ não foi capaz de induzir a produção de IL-12 por macrófagos de animais defi-

cientes de MyD88. Assim, mostramos que KM+ induz a proteção contra a infecção por *P. brasiliensis* por um mecanismo dependente da produção de IL-12, que é dependente da sinalização via receptores do tipo Toll.

Esses resultados indicam que a profilaxia e terapia com jfKM+ ou rKM+ induzem resposta imune do padrão Th1 contra *P. brasiliensis*, o que leva a um efeito benéfico na gravidade da infecção. A proteção mostrada pela terapia com KM+ expande seu potencial como uma nova molécula imunoterapêutica.

AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE INDUZIDA POR FRAGMENTOS OU MUTAÇÕES PON-

TUAIS DA VACINA DNA-hsp65 NA TUBERCULOSE EXPERIMENTAL

Tatiana Schneider Vieira de Moraes

Orientador: Prof. Dr. Célio Lopes Silva
Dissertação de Mestrado apresentada em 31/01/2007

O número crescente de casos de tuberculose (TB) e o aparecimento de cepas de *Mycobacterium*

tuberculosis (Mtb) resistentes a múltiplas drogas (MDR), e recentemente das chamadas cepas extremamente resistentes (XDR) demonstram a importância do combate a TB para a saúde pública mundial. Apesar da vacina de uso corrente, BCG, proteger contra as formas mais graves de TB durante a infância e TB extrapulmonar, em adultos, a eficácia da mesma é muito variável. Nesse sentido, é extremamente necessário desenvolver novas vacinas e imunoterápicos mais eficazes contra a infecção por Mtb. A vacina gênica pcDNA3-hsp65, desenvolvida pelo nosso grupo de pesquisa, não só apresenta atividade preventiva contra o estabelecimento da TB experimental como também apresenta atividade terapêutica contra a doença já estabelecida. Essa vacina é composta pelo vetor pcDNA3, o gene hsp65 de 1342pb que codifica a proteína de choque térmico de 65kDa (Hsp65) de *Mycobacterium leprae* e por fragmento não codante, downstream ao gene. Estudos prévios do nosso laboratório demonstraram que essa proteína apresenta atividade proteolítica sobre substratos bio-

ativos, sugerindo um possível e importante papel na atividade de apresentação de antígenos. Visando identificar a relevância da proteína Hsp65 como antígeno imunodominante, assim como sua atividade peptidase no auxílio da geração de uma resposta imune protetora contra a TB experimental murina, foram estudadas as seguintes construções: a) deletadas: pcDNA3-G (gene hsp65 sem o fragmento downstream); pcDNA3-NT (510pb da região N-terminal do gene hsp65); pcDNA3-DS (fragmento downstream sozinho); pcDNA3-N59 (59pb da região N-terminal do gene hsp65); e b) mutadas: pcDNA3-K168/A (perda de 25% da atividade proteolítica); pcDNA3-R407/A (perda de 62% da atividade proteolítica) e pcDNA3-K409/A (perda total da atividade proteolítica). Em relação a imunogenicidade, todas as construções desencadearam produção de anticorpos anti-Hsp65, do tipo IgG1 e IgG2a, com destaque para as construções mutadas que apresentaram altos níveis de anticorpos, bem como resposta linfoproliferativa positiva, presença de células T de memória no baço e produção de IFN- γ em con-

centrações comparáveis com a vacina original. Entretanto, em relação aos ensaios de proteção, somente a vacina DNA-hsp65 original foi capaz de reduzir o número de unidades formadoras de colônia, com produção significativa de IFN- γ , citocina associada ao padrão Th1 de resposta, e menor comprometimento do parênqui-

ma pulmonar. Sendo assim, é necessária a presença do gene hsp65 completo dentro da vacina de DNA, sugerindo que a região downstream, não codificante, desempenha uma função importante na expressão da proteína. Além disso, é necessária a conservação da atividade proteolítica da proteína Hsp65 para assegurar uma efetiva indução da resposta imune no hospedeiro.

INJÚRIA HEPÁTICA E PERFIL DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS EM CAMUNDONGOS BALB/c INOCULADOS COM VÍRUS DENGUE-2 POR VIA SUBCUTÂNEA

Rafael Freitas de Oliveira França

Orientador: Prof. Dr. Benedito A. Lopes da Fonseca
Dissertação de Mestrado apresentada em 12/02/2007

A dengue é considerada como uma das mais importantes arboviroses que afetam países em desenvolvimento. Até o presente momento não há uma qui-

mioterapia específica contra os vírus dengue e as tentativas de combate ao vetor têm se mostrado insuficientes. Aceita-se que o desenvolvimento de uma vacina, que induza imunidade aos quatro sorotipos virais, viria a ser a melhor de forma de combate à doença. No entanto, as pesquisas para o desenvolvimento de vacinas esbarram no principal obstáculo: a falta de um modelo animal adequado e de fácil manipulação para o estudo da dengue. No presente estudo, camundongos BALB/c foram usados para se avaliar a capacidade do vírus dengue-2 em induzir dano tecidual. Para tal fêmeas de quatro semanas de idade foram inoculadas com 1×10^5 UFP/ml de vírus dengue 2 (*New Guinea C*) por via subcutânea e então sacrificados nos dias 1, 3, 5, 7, 14 e 21 após a inoculação. Amostras de fígado foram coletadas, fixadas, montadas em lâminas histológicas e posteriormente coradas por HE. A análise histopatológica evidenciou a presença de infiltrados celulares inflamatórios próximos aos ductos biliares nos animais sacrificados nos dias 5, 7 e 14 após a inoculação. Os infiltrados eram caracterizados principalmente por presença de células mononucleares. Os níveis de expressão de mRNA para citocinas

foram quantificados no fígado dos animais por Real Time PCR. Os resultados mostraram altos níveis de expressão de mRNA para IL-12 e TNF-k tendo início a partir do 5º dia após a inoculação, com posterior decaimento a níveis normais no 21º dia, coincidindo com a regressão dos infiltrados celulares e pico de expressão de mRNA para TGF- 2. Não foram encon-

trados níveis significantes para mRNA de IL-2, IL-4, IL-10 e IFN-3. Não foram detectados níveis virêmicos no fígado em qualquer um dos dias após a infecção, seja por Real Time PCR ou imunohistoquímica. Os níveis de transaminases hepáticas (AST/ALT), marcadores enzimáticos de injúria no fígado, mostraram-se ligeiramente elevados no dia 7 após a inoculação. Após re-infecção dos animais com sorotipo viral dife-

rente do usado na primo-infecção os mesmos parâmetros foram analisados. Não houve diferenças no dano tecidual e expressão de mRNA de citocinas nos animais re-inoculados, se comparados aos animais mono-inoculados. Este estudo foi o primeiro a utilizar camundongos com sistema imune íntegro, inoculados por uma rota natural de infecção, para análise da imunopatologia dos vírus dengue. Os achados sugerem que após inoculação, os animais apresentem uma inflamação hepática transitente provavelmente imuno-mediada como mostra a produção local de citocinas e infiltração celular no fígado. No entanto, em períodos mais tardios, os

animais recuperam-se desta leve inflamação sem maiores complicações.

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui
Dissertação de Mestrado apresentada em 19/01/2007

NEUROLOGIA

ESTUDO DOS ASPECTOS FONOLÓGICOS E LEXICAIS DA LINGUAGEM EM CRIANÇAS DE 03 A 07 ANOS DE IDADE PORTADORAS DO HIV

Raphaela Barroso Guedes

O objetivo desse trabalho foi verificar a competência lexical e a presença de distúrbios fonológicos na linguagem de crianças portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV). A população estudada foi composta por 31 crianças com idades entre três anos e sete anos e onze meses, de ambos os sexos. Para a avaliação foi utilizado o ABFW - Teste de Linguagem Infantil nas áreas de fonologia e vocabulário. Na avaliação do vocabulário 100% das crianças apresentaram resposta inadequada para a idade em

pelo menos dois campos conceituais distintos e na avaliação fonológica 67,7% das crianças avaliadas fizeram uso de algum processo cuja idade prevista para a eliminação do uso produtivo já ultrapassaram, portanto,

considerados como portadores de distúrbio fonológico. Além disso, as crianças que apresentaram maior comprometimento da linguagem foram aquelas em estado mais avançado da doença. Este trabalho nos mostrou que o grupo estudado é de alto risco para alterações de linguagem e que o acompanhamento fonoaudiológico freqüente é fundamental para identificar as alterações precocemente e aumentar as possibilidades de superação das mesmas.

AVALIAÇÃO DO SISTEMA

VESTIBULAR E DA OSCILAÇÃO DO TRONCO NA DOENÇA DE PARKINSON

Juliana de Oliveira Minati

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui
Dissertação de Mestrado apresentada em 08/02/2007

Introdução: A instabilidade postural é um dos sintomas mais incapacitantes para os pacientes com

Doença de Parkinson (DP). Devido a esta instabilidade os pacientes tornam-se inseguros e são vítimas de freqüentes quedas, uma das principais causas de hospitalização. O medo de novas quedas pode ser prejudicial à qualidade de vida por restringir a independência e o convívio social, o que mostra a importância em estudar as causas que levam a esta instabilidade postural. **Objetivos:** Avaliar a oculomotricidade, a função dos canais semicirculares horizontais e a oscilação do tronco em pacientes com DP. Comparar a oscilação do tronco com o grau de evolução da doença entre pacientes com DP e indivíduos controles. Analisar o impacto da informação visual e proprioceptiva na instabilidade postural de pacientes com DP. **Casuística e Métodos:** Participaram deste estudo 32 pacientes com diagnóstico de DP idiopática e 21 voluntários na mesma faixa etária. Os pacientes acompanhados pelo Ambulatório de Distúrbios do Movimento (AEXP) do HCFMRP-USP foram submetidos à avaliação oculomotora (sacádico, rastreo e optocinético)

e prova calórica. As escalas de Hoehn & Yahr, de atividades diárias de Schwab & England e do equilíbrio de Berg foram aplicadas e a medida da oscilação do tronco realizada por um sensor de campo magnético (POLHEMUS® 3SPACE ISOTRAK II) que permite detectar movimentos de rotação e translação no espaço. Os testes incluíram 4 condições: olhos abertos sobre superfície firme (OAF); olhos fechados sobre superfície firme (OFF); olhos abertos sobre superfície instável (OAI) e; olhos fechados sobre superfície instável (OFI). Cada medida teve duração de 60 segundos e foi comparada com a dos voluntários. **Resultados:** Foram encontradas alterações na oculomotricidade (sacádico, rastreo e optocinético). Predomínio labiríntico na prova calórica foi observado em 67% pacientes avaliados. Houve aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) da oscilação do tronco dos pacientes com DP em comparação ao grupo controle nas variáveis deslocamento (cm) e velocidade (cm/s) de oscilação nos eixos antero-posterior (AP) e

lâtero-lateral (LL). Não foram observadas alterações estatisticamente significativas na condição OFF. Os pacientes com DP apresentaram aumento significativo da oscilação do tronco sob supressão de informações visuais e alteração de informações proprioceptivas. **Conclusões:** 1) Os resultados reforçam a idéia de que os movi-

mentos oculares estão alterados em pacientes com DP; 2) A presença de predomínio labiríntico observado na prova calórica parece não ser consequência da DP; 3) O controle do equilíbrio durante a postura estática está alterado na DP; 4) Pacientes com DP exibem aumento da oscilação do tronco quando há mudanças súbitas nas condições sensoriais; 5) O estágio da doença influencia no controle do tronco de pacientes com DP.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA EM PACIENTES COM TRAUMATISMO CRÂNIO ENCEFÁLICO: CORRELAÇÕES FUNCIONAIS, SOCIAIS E COGNITIVAS NA FASE HOSPITALAR E TARDIA

Karina Tavares

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Massaiti Takayanagui
Dissertação de Mestrado apresentada em 09/02/2007

Introdução: Dentre as causas externas, o traumatismo crânio encefálico (TCE) é o principal responsável pelo alto índice de mortalidade e incapacida-

de temporária ou permanente na população adulta jovem. Além disso, gera repercussões tanto sociais quanto econômicas devido aos gastos com internação hospitalar e reabilitação comprometendo a qualidade de vida e o retorno ao trabalho. **Objetivo:** Avaliar os pacientes com TCE internados em um hospital universitário terciário, assim como, suas características clínicas, fatores funcionais; cognitivos e qualidade de vida e verificar possíveis correlações entre a gravidade da lesão e a qualidade de vida após seis meses de alta hospitalar. **Casuística e métodos:** Analisaram-se prospectivamente 50 pacientes com TCE internados na Enfermaria da Clínica Neurológica da Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (UE - HCFMRP-USP). Os pacientes foram submetidos a uma avaliação: clínica, sócio-econômica (Associação Nacional de Empresas e Pesquisa - ANEP), cognitiva (Mini-exame do Estado Mental), capacidade funcional (índice de Barthel), qualidade de vida (WHOQOL-bref), gravidade do trauma (Revised Trauma Score - RTS), gravidade do TCE (Escala de Coma de Glasgow - ECG), gravidade das lesões

(Abbreviated Injury Score - AIS e Injury Severity Score - ISS). **Resultados:** Houve um predomínio de adultos jovens do sexo masculino (88%) pertencentes às classes sociais C e D. Quanto à gravidade do TCE observou-se que a maioria apresentava TCE grave (52%), e os acidentes de trânsito foram as causas mais frequentes perfazendo um total de 62%. Dos pacientes graves 80% tiveram indicação de internação no CTI e o tempo total de internação hospitalar oscilou entre 2 e 133 dias, com uma mediana de 18,5 dias. Observou-se uma forte correlação negativa com significância estatística entre o tempo de internação hospitalar com a ECG e com o RTS. Foram encontradas melhora da capacidade cognitiva, funcional e da ECG após seis meses da alta hospitalar. Foram encontra-

das 166 lesões anatômicas perfazendo uma média de $3,32 \pm 1,42$ lesões por pacientes. As lesões graves com e sem risco iminente de vida foram as mais frequentes (AIS 3 e 4). Quanto à gravidade das lesões do trauma, a maioria foi classificada como moderada, com uma média de ISS de $17,60 \pm 8,62$. As regiões corpóreas mais acometidas foram face, membros superiores e tórax. O escore médio do RTS foi de $6,330 \pm 1,305$. Quanto a qualidade de vida, houve uma melhora em pacientes com TCE grave observada após 6 meses da alta hospitalar. **Conclusões:** 1) As principais causas do trauma dos pacientes com TCE atendidos na Unidade de Emergência - HCFMRP - USP são os acidentes de trânsito, a violência interpessoal e as quedas; 2) a maioria da população com TCE aten-

dida na Unidade de Emergência - HCFMRP - USP apresenta traumas graves e necessidade de hospitalização em CTI; 3) a gravidade do TCE e do trauma é um fator preditivo para a internação hospitalar sendo que o aumento de 1 ponto na ECG promove, em média, um decréscimo de 4,11 dias na duração da internação e a diminuição de 1 ponto no RTS prolonga o tempo de hospitalização em 11,86 dias; 4) houve forte correlação entre o tempo de internação hospitalar, ECG e o RTS. 5) os pacientes com TCE apresentam melhora significa-

tiva dos déficits cognitivos e funcionais após o evento traumático 6) a capacidade funcional está associada com a qualidade de vida, assim com a função cognitiva; 7) condições sócio-econômicas, idade, cognição e capacidade funcional influenciam na qualidade de vida dos pacientes com TCE.

ESTUDO DA DOSAGEM DO GENE SMN1 PELAS TÉCNICAS PCR QUANTITATIVA EM TEMPO REAL (QRT-PCR) E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DESNATURANTE DE ALTA EFICIÊNCIA (DHPLC) EM UMA AMOSTRA DA POPULAÇÃO BRASILEIRA, EM PACIENTES COM AMIOTROFIA ESPINAL PROGRESSIVA INFANTIL E SEUS RESPECTIVOS PAIS

Keity Cristina Bueno

Orientador: Prof. Dr. Wilson Marques Júnior

Dissertação de Mestrado apresentada em 02/03/2007

As amiotrofias espinais progressivas infantis (AEPIs) são a segunda doença autossômica recessiva mais letal, após a fibrose cística, afetando aproxi-

madamente 1/24.000 nascidos vivos, com uma frequência de portador de aproximadamente 1/50. É causada pela deleção homozigota do gene SMN1 (Survival Motor Neuron - sobrevivência do neurônio motor) em aproximadamente 95% dos pacientes. Problemas com o diagnóstico e aconselhamento genético ocorrem com pacientes que não apresentam a deleção homozigota do gene SMN1. Por se tratar de doença grave e ainda sem tratamento curativo, o aconselhamento genético é de fundamental importância, mas sua acurácia é comprometida pela ausência de dados definitivos a respeito da existência de mutações “de novo” e, em nosso país, pelo desconhecimento da frequência de portadores em nossa população. O objetivo deste trabalho foi o de determinar a frequência de portadores e de mutações “de novo” em uma amostra da população brasileira, e comparar a efetividade de duas técnicas para a detecção dos portadores, a PCR quantitativa em tempo real (QRT-PCR) e a cromatografia líquida desnaturante de alta performance (DHPLC). Nós analisamos o número de cópias do gene SMN1 em 100 indivíduos controle e 48 pais de pacientes com deleção homozigota do gene SMN1. Dentre os indivíduos controle, 97 (97%) apresentaram duas ou mais cópias do gene SMN1 e três indivíduos (3%) apresentaram uma única cópia do gene. Dos 48 pais, 45 (93.8%) apre-

sentaram uma única cópia do gene SMN1. Entretanto, três pais (6.2%) apresentaram dosagem normal do gene SMN1 (duas ou mais cópias), o que indica ter ocorrido deleção “de novo” ou que o pai apresenta dois genes SMN1

em um cromosomo e nenhuma cópia no outro (2+0). Os resultados obtidos com as duas técnicas foram coincidentes e a sensibilidade e especificidade dos dois métodos foram equivalentes: uma frequência de portadores de 3% e uma frequência de deleções “de novo” ou duplicação 2+0 de 6.2%. Estes dados mostram que o gene SMN1 tem uma apresentação populacional semelhante às demais regiões do mundo onde a proporção de casamentos consanguíneos não é muito elevada e que mutações “de novo” ou genótipos tipo 2+0 estão presentes. Estes dados contribuem para o conhecimento do comportamento do gene SMN1 em nossa população e para um aconselhamento genético efetivo das famílias envolvidas com esta doença de início precoce, incapacitante e letal.

AVALIAÇÃO DA FORÇA MUSCULAR E DA CONTRATURA ARTICULAR DAS MÃOS EM PACIENTES COM DISTROFIA MUSCULAR DE DUCHENNE

Fabiana Luísa Mattar de Oliveira

Orientadora: Profa. Dra. Cláudia F.da Rosa Sobreira
Dissertação de Mestrado apresentada em 08/03/2007

A distrofia muscular de Duchenne (DMD) é uma doença muscular degenerativa, ligada ao cromossomo X, caracterizada pela ausência da proteína distrofina. Vários tipos de dinamometria da mão foram desenvolvidos, com o intuito de obter medidas objetivas da força muscular para uma avaliação mais acurada dos pacientes nos estudos clínicos, sobretudo naqueles visando avaliação de novas terapias. Entretanto, estudos sobre contraturas e mensuração da força muscular das mãos, em pacientes com DMD são raros. Nossos objetivos foram determinar a idade do acometimento da mão na DMD, quantificando a força muscular através da avaliação manual e da dinamometria, e analisando o desenvolvimento das contraturas através

da goniometria. Adicionalmente, propusemos verificar as relações entre idade, força muscular da mão, contraturas e incapacidade funcional. Delineamos um estudo pontual, caso-controle, com 40 pacientes com DMD seguidos no Ambulatório de Doenças Neuromusculares do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP e 80 indivíduos hígidos de idades similares às dos pacientes. Os demais dados antropométricos (peso, estatura e comprimento da mão) também foram semelhantes entre os grupos. Aplicamos dinamometria de preensão palmar e de pinças tridigital, lateral e pulpar; avaliação manual da força muscular utilizando a escala do Medical Research Council (MRC); goniometria das articulações do antebraço, do punho e da mão e aplicação da escala de capacidade funcional de Vignos e Archibald modificada por Brooke e colaboradores. Todas as medidas foram realizadas bilateralmente. As contraturas foram mais frequentes na mão não dominante. A restrição do movimento de supinação foi a primeira a aparecer, por volta dos 8,4 anos, sendo também a mais frequente (55% dos pacientes). Adicionalmente, observamos no punho restrição da extensão (32,5% dos pacientes) e do desvio radial (27,5% dos pacientes) e os dedos em flexão. Fraqueza muscular da mão foi observada desde as fases iniciais da doença, embora sua progressão tenha ocorrido posteriormente, ao final da primeira década de vida. A diferença de força entre as mãos dominante e não dominante reduziu com a idade, nos controles e aumentou nos pacientes. Comparação entre a força dos músculos extensores e flexores de punho e dedos, medida através da escala do MRC, demonstrou fraqueza predominante dos extensores. Os valores de dinamometria de preensão palmar e de pinças foram significativamente correlatos com a capacidade funcional nos pacientes com DMD, embora a correlação tenha sido maior quando utilizada a soma dos valores do MRC para a mão. Já que a

fraqueza dos músculos extensores de punho e dedos precedeu a ocorrência das contraturas, concluímos que estas são conseqüentes à perda de força muscular, estando possivelmente relacionadas ao desequilíbrio entre as

forças de músculos antagonistas. Devido ao predomínio das contraturas em flexão, inferimos que a posição de repouso pode influenciar no desenvolvimento des-

tas deformidades. Concluímos que a fraqueza da mão está presente desde os estágios iniciais da DMD, precedendo as contraturas e que se correlaciona com o

grau de incapacidade funcional. Apesar da fraqueza precoce, observamos aumento da força muscular da mão durante a primeira década, não relacionada ao tratamento, provavelmente decorrente do desenvolvimento físico da criança. Portanto, a dinamometria da mão deve ser aplicada com cautela em estudos que visem à avaliação de medidas terapêuticas nos pacientes mais jovens com DMD, considerando-se que há um aumento inicial da força muscular da mão como parte da história natural da doença.

ESTUDO QUALITATIVO E MORFOMÉTRICO DO NERVO LARÍNGEO RECORRENTE NO DIABETE EXPERIMENTAL CRÔNICO

Maria Carolina Dal Bem de Barros Oliveti

Orientadora: Profa. Dra. Valéria Paula Sassoli Fazan
Dissertação de Mestrado apresentada em 12/03/2007

O nervo laríngeo recorrente (NLR) é responsável pela inervação da maioria dos músculos intrínsecos da laringe. Apesar da existência de algumas descrições de paralisia das cordas vocais de etiologia desconhecida, em pacientes diabéticos, não existem descrições na literatura de avaliação morfométrica do NLR nesses pacientes, nem em modelos experimen-

tais de diabete. Diabete induzido experimentalmente pela injeção de estreptozotocina (STZ) é um modelo bem estabelecido de diabete tipo 1 e tem sido amplamente utilizado na investigação de neuropatia em animais. Assim, o objetivo do presente estudo foi investigar os parâmetros morfológicos e morfométricos do NLR no diabete experimental crônico, induzido pela STZ e o papel do tratamento convencional com insulina nas eventuais alterações encontradas. Ratos Wistar machos (N = 7) receberam uma injeção única de STZ endovenosa 12 semanas antes dos experimentos. Ratos controle (N = 7) receberam veículo e ratos tratados com insulina (N = 6) receberam, após confirmação do estado diabético, duas injeções diárias subcutâneas de insulina. No dia do experimento, animais foram perfundidos com solução fixadora e os NLR direito e esquerdo foram retirados e preparados para estudos de microscopia de luz. A morfometria foi realizada com o auxílio de um programa computacional. A análise estatística foi realizada de forma a comparar dados obtidos entre segmentos do mesmo lado, entre níveis iguais e lados diferentes e entre grupos. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Nossos resultados mostraram que os fascículos dos NLR são significativamente maiores nos

segmentos proximais, em ambos os lados e em todos os grupos estudados, bem como o número de fibras mielínicas finas. A comparação entre os grupos mostrou que o número de fibras mielínicas foi menor nos segmentos proximais dos animais diabéticos, o que sugere a presença de uma neuropatia de fibras finas. Os parâmetros morfométricos médios das fibras mielínicas se mostraram menores nos animais diabéticos, comparados aos controles e aos diabéticos tratados com insulina, sem, entretanto, alcançar níveis significativos. Esse resultado sugere a presença de uma neuropatia axonal concomitante, o que dificulta o diagnóstico de uma neuropatia de fibras finas. Nossos resultados mostram alteração das fibras mielínicas do NLR nesse modelo de

diabete experimental. Esses resultados podem colaborar na elucidação das patologias dos músculos laríngeos no diabete. Estudos em nível de microscopia eletrônica de transmissão, em andamento no nosso laboratório serão necessários para melhor elucidar a presença da neuropatia de fibras finas nesse nervo.

OFTALMOLOGIA, OTORRINOLARINGOLOGIA E CIRURGIA DA CABEÇA E PESCOÇO

MOVIMENTOS PERSECUTÓRIOS E SACÁDICOS PALPEBRAIS NA ORBITOPATIA DE GRAVES

Marcele Fonseca Falcão

Orientador: Prof. Dr. Antonio Augusto Velasco e Cruz
Tese de Doutorado apresentada em 08/01/2007

Os movimentos palpebrais sacádicos e persecutórios em 24 olhos de sujeitos normais e 20 olhos de pacientes com retração palpebral por orbitopatia de Graves foram medidos com uma técnica computadorizada de processamento de imagem que registrava a localização espacial, no meridiano vertical de um estímulo cromático de comprimento de onda na forma do azul. Para o estudo quantitativo dos parâmetros dos movimentos empregou-se o modelo matemático do oscilador harmônico subamortecido para os movimentos sacádicos e para o movimento persecutório foi uti-

lizado o modelo do oscilador harmônico forçado. O ajuste dos dois modelos foi extremamente bom (movimento sacádico $r = 0,99$ a $1,0$; movimento persecutório $r = 0,84$ a $0,99$). No grupo controle, os valores médios dos parâmetros dos movimentos sacádicos foram: a)

$71,73\text{mm/s} \pm 17,60\text{dp}$, Graves = $67,45\text{mm/s} \pm 20,92\text{dp}$; $t = 0,74$ $p = 0,46$, b) movimento ascendente: controle = $69,76\text{mm/s} \pm 17,58\text{dp}$; Graves = $58,56\text{mm/s} \pm 17,82\text{dp}$, $t = 2,09$ $p = 0,04$. Não houve correlação entre a magni-

tude da retração palpebral dos pacientes do grupo Graves e amplitude dos movimentos sacádicos palpebrais. Em relação ao movimento persecutório, também houve diminuição da amplitude no grupo Graves (controle = $6,41\text{mm} \pm 1,10\text{dp}$, Graves = $5,13\text{mm} \pm 1,53\text{dp}$, Mann Whitney ($U = 65.000$, $p = 0,0021$)).

Os resultados indicam que mesmo nas formas não miogênicas da orbitopatia da Graves um pequeno efeito de redução da amplitude dos movimentos palpebrais pode ser detectado com técnicas finas de semiologia da dinâmica palpebral.

IMUNOLocalização DA PROTEÍNA PRION CELULAR (PRPC) NA RETINA HUMANA

Roberta Martins Silva Costa

Orientador: Prof. Dr. João Pereira Leite

Tese de Doutorado apresentada em 09/03/2007

Prion celular é uma proteína constituinte da membrana celular de várias espécies de mamíferos que está presente em diversos tecidos, predominantemente no tecido nervoso. Esta proteína pode se con-

movimento descendente: controle = $12,03\text{mm} \pm 2,13\text{dp}$, Graves = $9,77\text{mm} \pm 2,76\text{dp}$; $t = 3,06$ $p = 0,004$, b) movimento ascendente controle = $11,82\text{mm} \pm 2,47\text{dp}$, Graves = $9,62\text{mm} \pm 2,39\text{dp}$; $t = 2,98$ $p = 0,005$; velocidade máxima, a) movimento descendente: controle =

verter em uma isoforma a partir de modificações na sua estrutura secundária e terciária, tornando-se insolúvel em detergentes, resistente a proteases e com tendência a formar agregados (amilóides). A presença desta isoforma modificada ou prion scrapie (PrP^{Sc}) nos tecidos induz outras proteínas normais a adquirirem esta nova conformação desencadeando-se uma reação em cascata que leva ao desenvolvimento das encefalopatias espongiformes, uma doença invariavelmente fatal na qual ocorre gliose e vacuolização neuronal. A identificação da presença e localização do PrP^{Sc} nos diversos tecidos é importante para auxiliar no esclarecimento de suas funções e da fisiopatologia das encefalopatias espongiformes. No presente trabalho foram verificados através dos métodos de imunohistoquímica e western blot, a presença e localização da proteína prion celular na retina humana e no nervo óptico. Trinta olhos de vinte e três doadores foram analisados por imunohistoquímica e um olho pelo método de Western blot utilizando-se três anticorpos diferentes (8G8, 3F4 e policlonal). Nove recuperações antigênicas foram testadas para se obter a melhor marcação possível nos tecidos estudados. Na imunohistoquímica houve marcação em todas as camadas

da retina e no nervo óptico com os três anticorpos testados, mas esta foi mais intensa nas camadas nuclear interna e externa e na camada de células ganglionares. Evidenciou-se uma linha com marcação muito intensa em toda a extensão da camada plexiforme externa, adjacente à camada nuclear interna, onde ocorrem as sinapses entre os fotorreceptores e os neurônios de primeira ordem. O método de Western Blot confirmou a presença da proteína na retina. Foi demonstrado que a proteína prion celular está presente na retina humana e no nervo óptico. Apesar de estar presente em todas as camadas dos tecidos analisados, o predomínio da prote-

ína na região sináptica da retina, corrobora a hipótese de que a proteína desempenhe um papel importante nas sinapses.

ORTOPEDIA

ESTUDO DOS EFEITOS DA MASSOTERAPIA NO ALÍVIO DA DOR E NA MELHORA DA QUALIDADE DE VIDA EM PACIENTES ONCOLÓGICOS SOB CUIDA-

DOS PALIATIVOS

Adriana Silva Martins Ferreira

Orientadora: Profa. Dra. Gabriela Rocha Lauretti

Dissertação de Mestrado apresentada em 08/02/2007

O intuito do presente estudo foi avaliar a massoterapia como técnica adjuvante no controle da dor oncológica. Participaram do estudo 34 pacientes portadores de neoplasia, os quais apresentavam dor EAN>5-cm. O grupo Massoterapia (M) recebeu

20-min de massoterapia em técnica padronizada por dez dias consecutivos, além do atendimento fisioterapêutico respiratório e motor diário. O grupo Controle (C) recebeu somente o atendimento fisioterapêutico respiratório e motor diário. Foram avaliados: dor (EAN e consumo de opióides), qualidade de vida (questionário EORTC QLQ-C30) e efeitos adversos. Os grupos foram demograficamente semelhantes entre si. O grupo M apresentou valores de EAN menores após o quinto de tratamento ($p<0,05$) enquanto o consumo

diário de morfina manteve-se constante ($p>0,05$) durante os dez dias de tratamento. O grupo C não apresentou diminuição da intensidade da dor e apresentou consumo diário de morfina crescente ($p<0,05$). A qualidade de vida foi classificada como melhor no grupo M, sendo a incidência de efeitos adversos semelhante entre os

grupos. Em conclusão, a realização de 10 dias subseqüentes de massagem padronizada em pacientes com dor oncológica resultou em menor consumo diário de morfina, melhor qualidade de vida, sem, contudo aumentar a incidência dos efeitos adversos, revelando-se uma técnica adjuvante alternativa para o tratamento da dor oncológica.

ANÁLISE ELETROMIOGRÁFICA DOS MÚSCULOS DA CINTURA ESCAPULAR E BRAÇO DURANTE A REALIZAÇÃO DE EXERCÍCIOS EM CADEIA CINÉTICA FECHADA SOBRE SUPERFÍCIE INSTÁVEL

Rodrigo de Andrade

Orientadora: Profa. Dra. Anamaria Siriani de Oliveira

Dissertação de Mestrado apresentada em 14/02/2007

O objetivo deste estudo foi comparar os valores de amplitude eletromiográfica dos músculos serrátil anterior, porção longa do bíceps braquial, porção longa do tríceps braquial, fibras superiores do trapézio, deltóide anterior, deltóide posterior, fibras claviculares do peitoral maior e o índice de coativação muscular dos pares deltóide posterior e peitoral maior, tríceps braquial e bíceps braquial e os pares serrátil anterior e trapézio superior durante a realização dos exercícios wall-press, bench-press e push-up, que possuem mesmas características biomecânicas, realizados a 100% e 80% do esforço máximo desenvolvido em cada exercício. Participaram do estudo 20 voluntários do sexo masculino, com idades entre 18 e 25 anos, sem história de doença ou trauma na região da cintura escapular e membro superior. Os valores de integral do envoltório linear foram obtidos de 3 contrações sustentadas de 4 segundos de duração, para cada um dos 3 exercícios propostos, com a mão apoiada sobre uma

bola suíça. Os valores médios de amplitude eletromiográfica e índice de coativação foram comparados por um modelo linear de efeitos mistos, com significância de $p < 0.05$. Os resultados do presente estudo mostraram que os valores de atividade eletromiográfica e índice de coativação muscular foram influenciados pelos exercícios

propostos, embora biomecanicamente semelhantes, mas não foram influenciados pelo nível de esforço realizado no apoio do membro sobre a bola. Embora os exercícios utilizados neste estudo apresentem biomecânica similar de execução e todos tenham sido realizados a 80% e 100% do esforço máximo, os re-

sultados parecem discordar com outros estudos que apontam a similaridade na execução dos exercícios como responsável por níveis comparáveis de ativação muscular.

EFEITOS MORFOLÓGICOS DA REMOBILIZAÇÃO MUS-

CULAR AVALIADOS SOB DIFERENTES PROTOCOLOS DE TREINAMENTO EM ESTEIRA APÓS SUSPENSÃO DOS MEMBROS POSTERIORES DE RATAS

Anabelle Cornachione

Orientadora: Profa.Dra. Ana Cláudia Mattiello-Sverzut
Dissertação de Mestrado apresentada em 15/02/2007

O desuso por tempo prolongado e a exposição real ou simulação da microgravidade induz a uma rápida e profunda transformação na arquitetura e na histoquímica das fibras dos músculos esqueléticos, principalmente tratando-se de músculos predominantemente lentos. Em grande parte, essas alterações mostram ser reversíveis com a remobilização do músculo afetado, principalmente quando esta é acompanhada por exercícios físicos. O objetivo deste estudo foi verificar

se as respostas teciduais de músculos de animais treinados em esteira em declive diferem significativamente daqueles treinados em esteira plana, após hipocinesia dos membros posteriores de ratos. Utilizou-se 36 ratas wistar (idade=90 dias), divididas em 6 grupos (n=6): Controle I, Controle II, Suspenso, Suspenso Livre, Suspenso Treinado Esteira em Declive e Suspenso Treinado Esteira Plana. Fragmentos dos músculos sóleo e tibial anterior foram processados sob diferentes métodos histoquímicos. A suspensão determinou, no sóleo, alterações citoarquiteturais como: centralização nuclear, splitting e redução do volume celular dos três tipos de fibras. Além disso, foi observado aumento significativo no número proporcional das fibras intermediárias/híbridas concomitante a uma diminuição das fibras tipo I. A densidade capilar aumentou com paralela diminuição da relação capilar/fibra. Algumas dessas alterações mostraram ser reversíveis após a realização dos protocolos de remobilização. Os três programas de

remobilização aqui adotados mostraram recuperar tanto o número proporcional e o volume das fibras quanto o número de capilares. Poucas foram as alterações induzidas pela hipocinesia no tibial anterior com a suspensão. Dentre estas, foi observado aumento significativo no número e no volume das fibras tipo I e diminuição apenas

no volume celular das fibras tipo IIB, as quais recuperaram seu volume após treinamento em declive e livre movimentação. Os protocolos de remobilização também mostraram estimular a angiogênese neste músculo. Nossos achados indicaram que os três programas de remobilização determinaram significativas alterações morfológicas, principalmente no músculo sóleo. Dentre os protocolos, o treinamento em declive destacou-se por induzir alterações de caráter mais regenerativo associado à modificações tróficas positivas, o que parece indicar melhor reestruturação do tecido pós procedimento de suspensão.

ANÁLISE DA CINEMÁTICA PATELAR POR MEIO DE IMAGENS DE RESSONÂNCIA NUCLEAR MAGNÉTICA EM INDIVÍDUOS COM SÍNDROME DA DOR FEMOROPATELAR

Lilian Ramiro Felício

Orientadora: Profa.Dra. Débora Bevilaqua-Grossi
Dissertação de Mestrado apresentada em 15/02/2007

A Síndrome da Dor Femoropatelar (SDFP) é uma das disfunções mais freqüentes do joelho, que

acomete adultos jovens do sexo feminino. Embora os fatores etiológicos da SDFP ainda não estejam bem estabelecidos, autores apontam as alterações da cinemática patelar como o principal fator causal. A intervenção conservadora é freqüentemente indicada para o tratamento destes indivíduos, abrangendo exercícios em cadeia cinética aberta (CCA) e cadeia cinética fechada (CCF). O objetivo deste trabalho foi analisar a morfologia e a cinemática patelar durante o repouso e exercícios em indivíduos saudáveis e com SDFP. Participaram deste trabalho, 20 voluntários clinicamente saudáveis e 19 com SDFP submetidos a exames de ressonância nuclear magnética (RNM) durante o repouso, contração isométrica voluntária máxima (CIVM) em CCA e CCF com o joelho posicionado a 15°, 30° e 45° de flexão. As imagens de RNM foram avaliadas pelo programa e-film medical na obtenção dos ângulos do sulco (AS), ângulo de congruência (AC), ângulo de tilt patelar (ATP), ângulo patelar lateral (APL), deslocamento lateral patelar (DLP) e o bisect offset (BO). O coeficiente de correlação intra-classe (ICC) foi aplicado para verificar a confiabilidade intra-examinador e o modelo linear de efeitos mistos aplicado para as comparações inter e intra-grupo, sendo estabelecido nível de significância de 5%. Os

resultados do ICC revelaram níveis excelentes de confiabilidade ($ICC > 0,75$) para todas as medidas de ambos os grupos. De acordo com os dados analisados, pode-se constatar que o grupo SDFP apresenta um maior deslocamento lateral da patela durante o repouso, CIVM em CCA e CCF com o joelho posicionado a 15° de

flexão em relação ao grupo controle. Na comparação entre os posicionamentos do joelho e entre as cadeias, para ambos os grupos verificou-se um melhor equilíbrio patelar com o joelho fletido a 30° e a 45° com a CIVM em CCA e CCF. Com o joelho posicionado a 15° de flexão, a patela apresenta-se em sua posição de maior instabilidade, mesmo durante a CIVM em CCF e CCA para ambos os grupos. Desta maneira pode-se concluir que exercícios em CCA e CCF com o joelho posicionado a 30° e a 45° apresentam uma melhor estabilidade patelar em relação aos exercícios com o joelho posicionado a 15° de flexão.

AVALIAÇÃO ELETROMIOGRÁFICA DE MÚSCULOS DA CINTURA ESCAPULAR E BRAÇO DURANTE A REALIZAÇÃO DE EXERCÍCIOS COM A EXTREMIDADE DISTAL DO SEGMENTO FIXA E CARGA AXIAL CONTROLADA

Helga Tatiana Tucci

Orientadora: Profa. Dra. Anamaria Siriani de Oliveira

Dissertação de Mestrado apresentada em 16/02/2007

O objetivo desta pesquisa foi avaliar e comparar a atividade eletromiográfica de sete músculos da cintura escapular e braço durante a realização dos exercícios wall-press, bench-press e push-up sobre uma superfície estável e com carga axial controlada em dois níveis de esforço isométrico, um máximo (100%) e outro submáximo (80%). Os exercícios foram realizados com o braço em 90° de flexão no pla-

no sagital, 0° de extensão do cotovelo e 90° de flexão da mão. Vinte voluntários do sexo masculino, saudáveis, destros e sem história de trauma no membro superior participaram da pesquisa. Os registros eletromiográficos e de força foram adquiridos, respectivamente, por sete canais para eletromiograma e por um canal auxiliar de um sistema de aquisição simultânea, ganho total de 50 vezes, 12 bits de faixa de resolução dinâmica e frequência de amostragem por canal de 4 KHZ. Os sinais mioelétricos foram captados por eletrodos ativos simples diferencial, ganho de 20 vezes, impedância de entrada de $10G\Omega$ e CMRR mínimo de 130 dB, colocados nos músculos serrátil anterior, porção anterior e posterior do músculo deltóide, porção clavicular do peitoral maior, fibras superiores do trapézio, cabeça longa do bíceps e tríceps braquial. Os exercícios foram realizados aleatoriamente, nos dois níveis de esforço isométrico, com intervalados entre si por 5 minutos. Os voluntários realizaram três repetições de cada exercício, com duração de 6 segundos cada, intervaladas entre si por 1,5 minutos e manutenção da força dentro dos valores previamente definidos, orientadas por um feedback sonoro. Os sinais brutos foram filtrados por um passa faixa de 20-500Hz, derivando os valores de amplitude eletromiográfica pelo cálculo da Root Mean Square (RMS). Os valores de RMS foram normalizados pelo valor máximo obtido de três contrações isométricas voluntárias máximas obtidas em prova de função muscular. A comparação dos valores normalizados entre os três exercícios nos dois níveis de esforço isométrico e entre o mesmo exercício nos dois níveis de esforço isométrico foi realizada através do Modelo Linear de Efeitos Mistos, com nível de significância de 5%. Os valores norma-

lizados de RMS dos músculos estudados, em valores percentuais, foram usados para graduar o nível de atividade elétrica obtido em cada exercício. Os resultados demonstraram que houve uma diferença nos valores de RMS normalizados dos músculos avaliados nas comparações feitas entre os três exercícios, não confirmando

a hipótese inicial deste trabalho, pois os dois níveis de esforços isométricos não foram capazes de influenciar a resposta eletromiográfica. Diferenças entre amplitudes de ativação normalizadas foram constatadas, variando entre os níveis mínimo e alto. O bench-press gerou maiores níveis de atividade eletromiográfica para

a maioria dos músculos, possivelmente pelo maior esforço isométrico realizado. O wall-press gerou maior atividade eletromiográfica para a maioria dos músculos quando comparado ao push-up, apesar do esforço isométrico gerado ser menor. Este trabalho concluiu que, apesar de exercícios com carga axial, mesmo com

esforço isométrico controlado, causaram diferentes níveis de atividade eletromiográfica nos músculos avaliados.

IONTOFORESE COM ÁCIDO ACÉTICO A 5% VERSUS GALVANIZAÇÃO NO TRATAMENTO CONSERVADOR DA TENDINITE CALCÁRIA DO MANGUITO ROTADOR DO OMBRO

Vânia Aparecida Fanelli

Orientadora: Profa. Dra. Anamaria Siriani de Oliveira
Dissertação de Mestrado apresentada em 26/02/2006

A lesão de isquemia e reperfusão é considerada a maior causa de falência de retalhos transferidos e membros reimplantados. O tabagismo está associa-

do à depleção do sistema antioxidante endógeno e um estado trombogênico, além de graus variáveis de vasoconstricção cutânea. Utilizando retalhos epigástricos em ratos que receberam pentoxifilina e heparina no perioperatório, objetivou-se avaliar se estas drogas poderiam atenuar os efeitos do tabaco na lesão de isquemia e reperfusão na pele. Os parâmetros estudados foram: níveis séricos de Malonildialdeído (MDA), atividade sérica da Mieloperoxidase (MPO) e percentual de sobrevivência dos retalhos. Foram distribuídos aleatoriamente 36 ratos em 2 grupos: 18 ratos foram expostos ao tabaco durante 4 semanas no pré-operatório e 18 não o foram. Cada grupo foi subdividido em 3 subgrupos de 6 ratos que receberam: pentoxifilina (P) (25mg/kg/dia) intraperitonealmente 1 dia antes da operação e 7 dias pós operatório, heparina (H) (150 U/kg) intraperitonealmente 1 dia antes da

operação e 7 dias pós operatório e controle (C) (solução salina) intraperitonealmente 1 dia antes da operação e 7 dias pós operatório. Confeccionou-se um retalho epigástrico por animal e o submeteu à 3h de isquemia e 5 min de reperfusão. Ao final deste período o sangue do efluente venoso do retalho foi coletado para análises

bioquímicas de MDA e MPO séricas. Após 7 dias do procedimento, os ratos foram novamente anestesiados para avaliar a viabilidade dos retalhos. A lipoperoxidação (MDA) e o grau de necrose foram significativamente maiores no grupo fumante, quando comparados ao não-fumante, Os ratos tratados com heparina apresentaram níveis significativamente baixos de MDA e melhor viabilidade dos retalhos. Não houve diferença em relação aos níveis de MPO e a pentoxifilina não foi efetiva em contrapor os efeitos do tabaco. Estes achados sugeriram um efeito benéfico da heparina tanto na redução da hipoperoxidação como na viabilidade dos retalhos submetidos à isquemia e reperfusão e expostos ao tabaco. A heparina pode representar uma alternativa para atenuar os efeitos do fumo em situações de urgência.

ESTUDO DE CORRELAÇÃO ENTRE DIFERENTES MÉTODOS QUANTITATIVOS DE AVALIAÇÃO MUSCULAR OBTIDOS DE SUJEITOS PORTADORES DE MIOPATIA

Cláudio Gregório Nuernberg Back

Orientadora: Profa. Dra. Ana Cláudia Mattiello Sverzut
Dissertação de Mestrado 28/02/2007

Objetivo: Este trabalho teve como objetivo correlacionar os achados morfológicos de fragmentos musculares do músculo bíceps braquial obtidos de biópsia muscular com a performance funcional da flexão do cotovelo medida por dinamômetro isocinético em sujeitos com miopatia. **Método:** Participaram deste estudo 22 sujeitos com miopatia, porém, 10 sujeitos foram excluídos após a realização do teste de desempenho muscular funcional. Dos doze sujeitos, três eram do sexo feminino (idade média de 27,3 anos; desvio padrão-DP= 13,3) e nove eram do sexo masculino (idade média de 40,2 anos; DP= 11). Os sujeitos foram biopsiados, para confirmação da hipótese diagnóstica, e foi determinada a área de secção transversa relativa, diâmetro menor, proporção das fibras tipo 2 (FT2) e subtipos (FT2a, FT2ab, FT2b) dos fragmentos de músculos bíceps braquial pela técnica da ATPase. Posteriormente, um mês após a realização da biópsia, os sujeitos realizaram teste isométrico a 90° de flexão do cotovelo e teste isocinético concêntrico de flexão e extensão do cotovelo em dinamômetro isocinético tendo sido avaliados: pico de torque (PT) isométrico, a 90°s⁻¹ e 180°s⁻¹, trabalho, potência, índice de fadiga, tempo para alcançar pico de torque a 90°s⁻¹ (tPT90) e 180°s⁻¹ (tPT180). Para análise final do

desempenho funcional foi calculado o torque relativo (TR-em porcentagem): $PT90^{\circ}s^{-1}/PT$ isométrico (TR90) e $PT180^{\circ}s^{-1}/PT$ isométrico (TR180). A análise estatística utilizou correlação de Spearman (r). Resultados: A

área relativa das FT2b se correlacionou positivamente com TR90, ($r=0,71$, $p=0,009$) e com TR180, ($r=0,73$, $p=0,007$). Para a área transversa relativa das FT2a foi observada correlação negativa, moderada, com TR180 ($r=-0,62$, $p=0,03$) e baixa, com TR90 ($r=-0,57$, $p=0,05$). Não houve correlação entre a área transversa relativa, proporção e diâmetro dos diferentes tipos de fibras com as variáveis funcionais como PTI, PT90, PT180, potência, trabalho, índice de fadiga, tPT90 e tPT180. **Conclusão:** Há evidências de que o desempenho funcional muscular destes sujeitos foi influenciado por variações na proporção de FT2b do bíceps braquial. Por outro lado, o comportamento contrátil das FT2a parece ter sido modificado pela doença de base, sugerindo que teste funcional isométrico/isocinético pode ser utilizado como um instrumento

clínico para colaborar na aquisição de informações sobre a função muscular de pacientes portadores de miopatia.

ANÁLISE ELETROMIOGRÁFICA DOS MÚSCULOS PARAVERTEBRAIS EM PACIENTES COM ESCOLIOSE IDIOPÁTICA

Priscila Elisa Siqueira Gianin

Orientadora: Profa. Dra. Anamaria Siriani de Oliveira
Dissertação de Mestrado apresentada em 28/02/2007

A escoliose idiopática do adolescente (EIA), por causar importantes alterações biomecânicas, tem levado pesquisadores a estudar a atividade eletromiográfica dos músculos paraespinhais em pacientes com

EIA. Assim, o objeto deste estudo foi avaliar a atividade eletromiográfica do músculo eretor da espinha em dois grupos: um controle constituído por 15 indivíduos saudáveis e um com 15 indivíduos com EI, ambos os sexos,

destros e pareados por sexo, idade, altura e índice de massa corporal. Os valores de RMS foram comparados em 40%, 60% e 80% do esforço isométrico máximo através de índices (média eletromiográfica) e pela comparação de RMS normalizados. Os resultados evidenciaram não haver diferença de ativação muscular do grupo EIA em comparação ao grupo CONTROLE. Entretanto, foram observadas diferenças na atividade EMG na região da quinta vértebra lombar em 80% do esforço isométrico, predominando maior atividade para o lado esquerdo, correspondendo à convexidade da curva escoliótica, desencorajando o uso de exercícios isométricos de extensão do tronco a 80% da CIVM em pacientes com EIA para evitar a progressão da curvatura escoliótica. O mesmo procedimento associado a indicação de exames periódicos em indivíduos saudáveis com assimetria de ativação eletromiográfica devem ser realizados como prevenção do aparecimento da curva escoliótica.

DESENVOLVIMENTO DA CIFOSE TORÁCICA E LORDOSE LOMBAR EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES NORMAIS

Carlos Alberto Giglio

Orientador: Prof. Dr. José Batista Volpon
Tese de Doutorado apresentada em 01/03/2007

Vários parâmetros morfológicos variam com o crescimento do indivíduo, o que torna importante estabelecer faixas de normalidade de acordo com a idade. Tal fato acontece também com as curvaturas da coluna torácica e lombar, que influenciam significativamente a postura. Entretanto, as variações fisiológicas das curvaturas da coluna, no plano sagital, ao longo do crescimento do indivíduo não estão bem caracterizadas, o que dificulta a diferenciação entre situações normais e patológicas. Assim, o objetivo desta pesquisa foi estudar uma população normal de sujeitos em desenvolvimento e estabelecer os limites fisiológicos para a cifose torácica e lordose lombar, para as diferentes faixas etárias. Inicialmente, foi desenvolvido um pantógrafo, com o objetivo de, de forma confiável, estabelecer o perfil e medir as curvas aparentes torácicas e lombares. O aparelho constou fundamentalmente de um suporte vertical ao qual foi acoplado um braço móvel que realiza movimentos de avanço e recuo, de acordo com a superfície de apoio. Este braço é acionado por

um motor e percorreu o trajeto dos processos espinhosos de C₇ a L₅. O movimento é enviado a um potenciômetro que alimenta um programa de computador, o que resulta no desenho do traçado da superfície dorsal da coluna.

Assim, são medidos os ângulos cifótico e lordótico aparentes. A população em estudo foi constituída de 718 indivíduos hígidos, de ambos os gêneros, sem antecedentes de alterações posturais e da coluna, com peso e estatura dentro da faixa normal, sem frouxidão ligamentar, e na faixa etária compreendida entre cinco e vinte anos. Todos tiveram suas curvaturas dorsal e lombar examinadas e medidas pelo pantógrafo. Os dados foram analisados estatisticamente e obtidas as tendências e significâncias de cada curva para cada faixa etária. Os resultados mostraram que a cifose torácica apresentou tendência para aumentar na faixa etária estudada, sendo que o o melhor modelo que caracteriza a variação é o de regressão linear com a expressão: ângulo de cifose = 25,14 + 0,58 .idade. A lordose também apresentou tendência linear para aumento com a idade e com a expressão: lordose = 24,22

+ 0,51 .idade. Não foi encontrada diferença significativa entre os gêneros. O pantógrafo mostrou ser um instrumento sensível e prático.

PROTÓTIPO PARA AVALIAÇÃO DA FORÇA DOS MÚSCULOS ABDUTOR CURTO DO POLEGAR E O ABDUTOR DO QUINTO DEDO

Ricardo Assan

Orientador: Prof. Dr. Nilton Mazzer

Dissertação de Mestrado apresentada em 06/03/2007

A pesquisa da função dos músculos abdutor curto do polegar e abdutor do quinto dedo poderá contribuir principalmente na validação de programas de reabilitação, realizando medidas objetivas da força muscular. Nenhum dos estudos realizados anteriormen-

te possibilitou a aquisição dos dados através do computador. Portanto, este trabalho teve como objetivo, desen-

volver um aparelho capaz de medir e quantificar, com precisão, a força exercida pelos músculos abdutor curto do polegar e abdutor do quinto dedo e, por fim, fornecer esses dados através de um software de computador. Depois de finalizado, o prototipo foi submetido a testes de calibração em bancada utilizando pesos de 0 a 3500 gramas, através dos quais obteve-se uma curva de calibração cujo coeficiente de correlação linear (R^2), foi próximo de 1. Após a calibração o aparelho foi utilizado para avaliarmos as forças dos músculos estudados, em 60 voluntários, 30 homens e 30 mulheres, com a faixa etária entre 20 a 50 anos de idade. O único critério para a inclusão do voluntário no estudo foi a ausência de qualquer tipo de doenças nos membros superiores. Os resultados demonstraram que a força de ambos os músculos foi consistentemente maior nos homens quando comparados às mulheres. O protótipo apresentou uma leitura objetiva da força nas avaliações dos músculos abdutores curto

do polegar e do quinto dedo. A versão final do protótipo demonstrou ser adaptável a ambas as mãos, de fácil aplicação. Sua construção foi de baixo custo.

HISTOLOGIA DO FOCO ALVO NO TRANSPORTE ÓSSEO

Flávio Luís Garcia

Orientador: Prof. Dr. Celso H. F. Picado

Tese de Doutorado apresentada em 26/03/2007

O transporte ósseo é baseado no princípio da osteogênese por tração descrito por Ilizarov, sendo um método consagrado no tratamento de falhas ósseas segmentares. Um dos seus aspectos mais problemáticos e paradoxalmente o menos estudado é a consolidação do foco alvo. O objetivo deste trabalho foi analisar a histologia do foco alvo em um modelo experimental de transporte ósseo fixado com placa. Nove

ovelhas adultas foram submetidas à correção de falha diafisária tibial de 1 cm utilizando um sistema de transporte ósseo fixado com placa, com período de latência de uma semana e deslocamento do fragmento transportado de 0,2 mm quatro vezes ao dia. Os animais foram submetidos a radiografias periódicas e divididos em três grupos com três ovelhas cada, conforme o período de observação de 3, 6 ou 12 semanas entre a fixação do fragmento ósseo transportado e a eutanásia. O estudo histológico do foco alvo e do regenerado foi feito em lâminas coradas pelo tricrômico de Masson, com a caracterização dos modelos de ossificação e a quantificação por histomorfometria dos tecidos ósseo, fibroso, cartilaginoso, vasos sanguíneos e, quando presentes, do hematoma e tecido necrótico. Os resultados mostraram que o regenerado foi formado principalmente por

ossificação intramembranosa que progrediu no mesmo sentido do transporte, enquanto no foco alvo o osso neoformado resultou na sua maior parte de ossificação endocondral, tal como descrito na consolidação secundária ou indireta de uma fratura, porém de forma mais lenta do que esta. Este modelo experimental poderá servir de base para futuras investigações sobre fatores que possam influenciar a consolidação do foco alvo.

PATOLOGIA

ETANOL, DEFICIÊNCIA DE ÁCIDO FÓLICO E ASSOCIAÇÃO DESSES DOIS FATORES DURANTE A GESTAÇÃO DE CAMUNDONGOS SWISS

Cristiane Minot Gutierrez

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cesar Peres

Tese de Doutorado apresentada em 09/02/2007

Embora os efeitos teratogênicos do etanol sejam bem conhecidos, ele ainda é um agente exógeno muito usado por mulheres em idade reprodutiva e sabe-se que ele interfere com o transporte, absorção e metabolismo do ácido fólico. O objetivo deste trabalho foi determinar os efeitos da administração de etanol, da deficiência do ácido fólico na dieta e da associação desses dois fatores durante a gestação de camundongos Swiss. O estudo foi feito com dois experimentos, no primeiro examinou-se a influência do etanol diluído em salina a 25% (v/v) em doses baixa (0,4g/Kg de peso corporal) e alta (4,0g/Kg de peso corporal) em animais alimentados com ração comercial e no segun-

do a influência do etanol nas mesmas doses em animais alimentados com dieta deficiente em folato. Em ambos os experimentos os animais foram divididos em 6 grupos com 6 animais cada: C= controle; Eb= etanol baixa dose; Ea= etanol alta dose (Experimento 1) e DF= controle da deficiência de folato; DFEB= etanol baixa dose; DFEa= etanol alta dose (Experimento 2). Os animais dos Grupos C e DF receberam apenas salina. As doses de etanol e salina foram administradas por via intraperitoneal, em três dias consecutivos da gestação: 7^o, 8^o e 9^o. A eutanásia foi realizada em câmara de CO₂ no 18^o dia gestacional e os implantes foram retirados por cesárea. Anomalias congênitas foram encontradas apenas no Grupo Ea, representadas por defeito de fechamento do tubo neural isolado (6,45%), agenesia de membros e cauda (6,45%), defeito de fechamento do tubo neural associado a defeito da face média (2,15%) e gastrosquise (1,08%). Foi observada entre os grupos variação no número de fetos vivos (C= 98,97%; Eb= 97,98%; Ea= 87,74%; DF= 90,91%; DFEB = 72,22%; DFEa= 61,39%), de reabsorções (C= 1,03%; Eb= 2,02%; Ea= 1,89%; DF= 8,08%; DFEB= 14,44%; DFEa= 18,81%) e de mortes fetais tardais (C= 0; Eb= 0; Ea= 10,38%; DF= 1,01%; DFEB= 13,33%; DFEa= 19,80%). Houve variação no comprimento vértice-sacral fetal (machos/fêmeas: C= 2,6/2,5cm; Eb= 2,5/2,5cm; Ea= 2,4/2,3cm; DF=2,4/2,3cm; DFEB= 2,0/2,0cm; DFEa= 1,9/1,8cm), no peso corpóreo fetal (machos/fêmeas: C= 1,50/1,40g; Eb= 1,49/1,40g; Ea= 1,31/1,19g; DF= 1,28/1,17g; DFEB= 0,81/0,82g; DFEa= 0,83/0,73g), no diâmetro placentário (machos/fêmeas: C=0,8/0,8cm; Eb= 0,8/0,7cm; Ea= 0,8/0,7cm; DF= 0,8/0,8cm; DFEB= 0,8/0,8cm; DFEa= 0,7/0,7cm) e no peso placentário (machos/fêmeas: C= 0,14/0,12g; Eb= 0,14/0,11g; Ea= 0,12/0,10g; DF= 0,13/0,11g; DFEB= 0,09/0,09g; DFEa= 0,09/0,09g). Os resultados indicam que

dose alta de etanol durante o consumo de ração comercial é mais deletério que dose baixa, pois além de provocar anomalias congênitas, causou restrição do crescimento intra-uterino e placentário e produziu mortes

fetais tardias. A deficiência de ácido fólico, por si só, também é deletéria, interferiu com o desenvolvimento fetal e placentário e produziu reabsorções. A associação da deficiência de folato e etanol, agravou ainda mais esse desenvolvimento e produziu um maior número de reabsorções e mortes fetais tardias. Além disso, na deficiência de folato, dose baixa de etanol foi tão deletéria quanto dose alta, indicando que a nutrição materna tem um papel fundamental no desenvolvimento fetal. Dessa forma, a ação sinérgica de dois fatores isolados, etanol e deficiência de ácido

fólico permite reforçar a noção do risco humano em condições semelhantes, já que mulheres jovens tendem a apresentar mais deficiência de ácido fólico e estão mais expostas a comportamentos que levam ao consumo de etanol.

ASPECTOS MÉDICO-LEGAIS E PREVENTIVOS DOS CASOS DE AFOGAMENTOS NA REGIÃO DE RIBEIRÃO PRETO

Rodrigo Thadeu de Araújo

Orientador: Prof. Dr. Marco Aurelio Guimarães

Dissertação de Mestrado apresentada em 23/03/2007

Esta é a primeira descrição específica de casos de afogamento, em uma área não-litorânea no Brasil, realizada na região de Ribeirão Preto, Estado de São Paulo. É uma região cujos padrões sociais são comparáveis aos de países desenvolvidos. Um total de 89 casos foi analisado. Esses casos ocorreram entre 2001 e 2004, com coeficiente de mortalidade de 2,44 casos por 100.000 habitantes por ano. Foi delineado o padrão de afogamentos fatais avaliando-se os parâmetros de idade, sexo e sazonalidade. O perfil predominantemente

observado foi o de homens brancos, em idade economicamente produtiva (15 a 59 anos), acidentalmente afogados em rios e represas de áreas rurais, de ocorrência durante o verão e o outono. O estudo dessas fatalidades pode permitir o desenvolvimento de programas de prevenção de afogamento em áreas não-litorâneas e não-turísticas no Brasil e em outros lugares do mundo.

SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

O ALEITAMENTO MATERNO EXCLUSIVO QUANTIFICADO NO PRIMEIRO DIA DE VIDA

relacionada com possíveis variáveis de interferência. **Resultados:** Os TP durante a validação apresentaram valor de correlação mínimo de $r = 0,9952$. Foram avaliadas 307 mamadas e em média, registrou-se $3,4 \pm 1$ mamadas por período de 8 horas de observação. O ganho médio por mamada foi de $1,5 \pm 1,1$ g. A massa diária

de leite ingerida pelos recém-nascidos foi estimada em 15 ± 11 g. Esta massa não apresentou tendência de aumento durante as primeiras 24 horas pós-natais.

DO RECÉM-NASCIDO A TERMO SAUDÁVEL

Walter Santoro Junior

Orientador: Prof. Dr. Francisco Eulógio Martinez

Tese de Doutorado apresentada em 09/03/2007

Objetivo: Quantificar a massa de colostro ingerido por recém-nascidos, em regime exclusivo de aleitamento. **Métodos:** Por meio do teste de pesagem (TP) avaliou-se o aporte lácteo nas primeiras 24 horas de vida pós-natal de 90 recém-nascidos sadios. As massas foram medidas em períodos de 8 horas. O TP foi validado por meio da pesagem de massas padrão, e da variação de pesos das crianças após o acréscimo de massas conhecidas e após a oferta de massas lácteas de valores sabidos. A massa medida foi

Após a aplicação de um modelo de regressão linear múltipla a “presença de companheiro materno” foi a única variável relacionada a menores massas de

colostro ingerido ($p = 0,043$). **Conclusões:** O teste de pesagem se mostrou válido, mesmo no registro de pequenas massas lácteas. A massa ingerida foi 15 ± 11 g em 24 horas e não apresentou tendência temporal de incremento. A presença de companheiro materno foi relacionada a menores aportes.

ASPECTOS CLÍNICOS, EVOLUTIVOS E TERAPÊUTICOS DE UMA SÉRIE DE CASOS DE DERMATOMIOSITE/POLIMIOSITE JUVENIL ATENDIDOS EM UM SERVIÇO TERCIÁRIO

Janaíra Fernandes Severo Ferreira

Orientadora: Profa. Dra. Virginia Paes Leme Ferriani
Dissertação de Mestrado Apresentada em 12/03/2007

A DMJ/PMJ é uma doença rara, de etiologia desconhecida, caracterizada por vasculopatia, que afeta primariamente pele e/ou músculos e manifesta-se com uma inflamação e trombose mais intensas que nos adultos. Vários aspectos dessa doença ainda precisam de elucidação, principalmente em relação à etiologia, prognóstico e terapêutica. Dessa forma, surgiu o interesse em descrever o perfil dos pacientes com DMJ/PMJ atendidos em um ambulatório terciário de reu-

(62%). Uma paciente, sem antecedente de uso de imunossuppressores, desenvolveu leucemia linfóide aguda (estan-

do em remissão da DMJ) seis anos após o início do seguimento. Todos os nossos pacientes utilizaram corticoterapia e, em 84% dos casos, uma outra droga foi associada: metotrexate (68%), hidroxiclороquina (68%), ciclosporina (19%), ciclofosfamida (6,5%) e azatioprina (3%). Um número grande de pacientes fez uso de Imunoglobulina (Ig) (68%) em comparação a outros estudos. Observou-se, ainda, uma discordância na classificação da evolução clínica dos pacientes após dois e cinco anos do diagnóstico, embora nenhuma das classificações utilizadas na literatura para caracterização de curso clínico tenha sido validada. Ao final, sugerimos que seria mais fidedigno classificar os pacientes como monocíclicos, policíclicos ou crônicos após um período de cinco anos. Faz-se necessário, também, a realização de estudos prospectivos, multicêntricos e controlados para maior elucidação dessa doença.

MARCADORES DA FASE INFLAMATÓRIA AGUDA-TUBERCULOSE

Maria Luiza Dória Almeida

Orientador: Prof. Dr. Prof. Dr. Marco Antonio

matologia pediátrica. Foi realizado um estudo descritivo e retrospectivo, através da revisão de prontuários médicos, envolvendo 31 pacientes com diagnóstico de DMJ/PMJ em seguimento no referido serviço, no período de janeiro de 1993 a fevereiro de 2005. Em relação a outros estudos, já publicados na literatura, não houve diferenças no perfil demográfico dos pacientes, com predomínio do sexo feminino (71%), média de idade ao diagnóstico de 7,4 anos e relação de 14,5 casos de DMJ para cada 01 caso de PMJ. A frequência das manifestações clínicas encontradas foi: fraqueza muscular (97%); pápulas ou sinal de Gottron (96%); heliótropo (86%); febre (51,6%); eritema malar (38%); artrite (35,5%); eritema palmar (31%); disfagia (26%); úlceras de pele (17%); alopecia (12%); sinal do xale (10%); telangiectasias (10%); disфонia (7%); edema de membros (7%); lipodistrofia (3%). Observamos envolvimento pulmonar assintomático em três de nossos seis pacientes submetidos à prova de função pulmonar. A presença de colestase, apesar de uma rara manifestação descrita na literatura, foi observada em quatro pacientes (13%). Havia calcinose em 38% dos pacientes e, em dois desses, já estava presente ao diagnóstico. Dos 21 pacientes submetidos à densitometria óssea, 13 apresentaram osteopenia/osteoporose

Barbieri

Tese de Doutorado apresentada em 30/03/2007

A tuberculose é um problema de saúde pública de magnitude apreciável pela sua prevalência, mortalidade, e associação com o vírus HIV. Doença granulomatosa que atinge principalmente o pulmão, expressa uma riqueza e heterogeneidade de eventos determinados pela lesão inflamatória. O propósito deste estudo foi avaliar marcadores da resposta inflamatória (micronutrientes, protéicos e imunológicos) da fase aguda em pacientes com tuberculose ativa no diagnóstico e tratamento. A pesquisa foi dividida em 2 partes. A primeira constituiu-se de 65 portadores de tuberculose avaliados no momento do diagnóstico e nas 1ª, 3ª, 5ª, 8ª semanas de tratamento. As variáveis nesta parte foram níveis plasmáticos de: Proteína-C Reativa (PCR), Alfa-1-Antitripsina (AAT), alfa-1-Acido-Glicoproteína (AAG), Alfa-2-Macroglobulina (AMG), frações do complemento C3 e C4, micronutrientes: Zinco, Cobre, Selênio, relação Cobre/Zinco, manifestações clínicas e alterações radiológicas. O

resultado do escarro (presença de bacilos) formou os grupos de estudos: evolutivos (I- boa evolução, II- intermediária, III- insucesso). No diagnóstico, compararam-se os resultados com os de 30 indivíduos saudáveis. Para o segmento, confrontaram-se os grupos entre si em cada semana. Utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis; nas variáveis que houve significância se aplicou o de Dunn. Na evolução ao longo do tempo usou-se o de Friedman. Dos micronutrientes apenas o zinco não apresentou diferença no diagnóstico. As proteínas AAT, AAG, C3, C4 e PCR, são mais expressivas nos doentes. Um importante

achado foi que a AAT e AAG estão alteradas precocemente e identifica o grupo I na 1ª semana, enquanto que C3 e PCR o fazem a partir da 5ª semana. O efeito do tratamento ao longo do tempo apresentou-se significativo em todos os marcadores protéicos. Houve diferenças entre as semanas iniciais e as finais, para AAT, AAG, C4 e PCR; para AMG, a diferença foi no grupo I, e para C3, no grupo II. Não houve diferença entre a semana 0 e 1, e também entre a semana 5 e 8. Já na segunda parte, foram estudados 28 pacientes, 16 HIV positivo e 12 negativo, amostra de sangue incubado por 16-24 horas gerando 2 resultados: com e

sem estímulo (antígeno micobacteriano). As variáveis imunológicas testadas foram as citocinas: Interferon-gama (INF- γ), fator de necrose tumoral (TNF- α), as interleucinas ILs (2, 12p70, 4, 10, 5, 13) e proteína-10 (IP-10). As interleucinas ILs (2, 12p70, 4, 5 e 13) são significativamente deferentes quando se comparam os resultados estimulados nos grupos HIV positivo e negativo. Todas as citocinas têm níveis mais altos nos negativos, excetuando-se TNF- α . A IL-10 teve níveis superiores no sexo masculino, IL-13 na idade mais avançada, TNF- α foi maior para IMC<18,5. Para os sintomas, alterações significantes foram: febre IL-10 e IP-10; Sudorese noturna IL-13 e IP-10; perda de peso ILs (5, 13) e IP-10; hemoptise ILs (2, 12p70, 10) e IP-10; dor torácica ILs (12p70, 5, 10, 13) e IP-10. Conclui-se que os micronutrientes contribuem para o diagnóstico e estadiamento da doença; as proteínas são indicadores de prognósticos; e as citocinas preliminarmente revelam os diversos perfis inflamatórios da tuberculose, expressando-se diferentemente sob estímulo e com alterações imunológicas.

SAÚDE MENTAL

Errata: no resumo de tese: ADAPTAÇÃO PSICOSSOCIAL E QUALIDADE DE VIDA DE VÍTIMAS DE ACIDENTES DE TRÂNSITO. Autora: Sílvia Helena Tenan Magalhães; publicado no vol. 39, nº 4 /2006, p. 648-9, onde está Dissertação de Mestrado, leia-se Tese de Doutorado.

GÊNERO, CULTURA E VIO-LÊNCIA/VITIMIZAÇÃO ASSO-CIADAS AO ALCOOL (UM ESTUDO NO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO): V I O L Ê N C I A ENTRE CASAIS, ABUSO SEXUAL E CONSUMO DE ALCOOL (UM RECORTE DO PROJETO GENACIS)

Janaina Barbosa de Oliveira

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guilherme Graeff
Dissertação de Mestrado apresentada em 28/02/2007

A violência entre casais e o abuso sexual ocorrem cotidianamente e nos âmbitos social e familiar. É um problema relevante no Brasil, pois afeta um número significativo de pessoas, em sua grande maioria mulheres, e produz inúmeros agravos à saúde física, reprodutiva e mental. Os homens, especialmente jovens, estariam mais sujeitos que as mulheres à violência em locais públicos, especialmente ao homicídio, cometido tanto por estranhos quanto por conhecidos. Já as mulheres estão mais sujeitas a agressões perpetradas por pessoas conhecidas e íntimas. Isso pode significar violência repetida e continuada que, muitas vezes, perpetua-se cronicamente por muitos anos ou até vidas inteiras. O objetivo geral deste trabalho foi analisar violência entre casais e abuso sexual (através das variáveis das seções N e O do Questionário Genacis), associadas ao padrão de consumo de álcool

e dados sociodemográficos, especialmente gênero. O método foi o de um estudo transversal do tipo inquérito epidemiológico em amostra estratificada por conglomerados, sendo representativa dos níveis socioeconômicos e educacionais da população. Foi um recorte do projeto Genacis, realizado no município de São Paulo, cuja amostra totalizou 1473 pessoas de 18 anos ou mais. A coleta de dados foi realizada através da aplicação do questionário Genacis em entrevistas nos domicílios sorteados por uma equipe de entrevistadores treinados. A análise estatística univariada utilizou o teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher, no pro-

grama Stata 8.0. Os resultados mostraram uma taxa de 40% de recusa, a maioria de homens e famílias de estratos socioeconômicos mais altos, e moradores de prédios e condomínios. Houve predominância de mulheres (58,6%), pessoas casadas (41,1%), e com menos de 40 anos de idade (53,2%). Em relação à escolaridade, 3,7% eram analfabetos e houve concentração nas faixas de escolaridade mais baixas. Os homens tiveram padrões de consumo de álcool moderado e pesado, enquanto as mulheres em geral tiveram padrões mais leves ou eram abstinentes. Cerca de 8,3% da amostra relataram algum tipo de violência

física nos dois anos anteriores à entrevista. Tanto ser agressor como vítima se associou a ser jovem, ter companheiro (casado ou amasiado) e ser proveniente dos estratos socioeconômicos e educacionais mais bai-

xos. A violência doméstica esteve associada ao padrão de consumo pesado de álcool, tanto em vítimas quanto agressores. As mulheres sofreram episódios mais graves de violência. Ter sofrido abuso sexual (atual ou passado) esteve associado a ter relacionamento atual com parceiro com padrão pesado de consumo de álcool e ser agressor, para ambos os gêneros. Embora não tenham sido encontradas diferenças de gênero em relação à frequência de ser vítima ou agressor, nos homens agressores foi encontrado consumo mais pesado de álcool associadas ao incidente. Os resultados ressaltam a importância da associação entre o uso de álcool e risco de agressão (como perpetrador ou vítima) e tem importantes implicações na elaboração de políticas públicas e programas de tratamento desses problemas.

ESTUDO DA PREVALÊNCIA DO TRANSTORNO DE ANSIEDADE SOCIAL EM ESTUDANTES UNIVERSITÁRIOS

Carlos Alberto Baptista

Orientador: Prof. Dr. José Alexandre de Souza Crippa
Dissertação de Mestrado apresentada em 01/03/2007

Objetivos: O estudo avaliou 2319 estudantes universitários de diversos cursos de graduação, visando determinar a prevalência do transtorno de ansiedade social (TAS) e as características demográficas desta população. **Métodos:** Aplicou-se coletivamente em sala de aula a escala SPIN (Inventário de Fobia Social), em todos os sujeitos presentes que aceitaram participar. Após esta primeira fase da pesquisa, foram selecionados os indivíduos com escores ≥ 6 na versão

abreviada da SPIN (Mini-SPIN), e contatados por telefone para responderem ao módulo de ansiedade da SCID-IV. Foram realizadas análises descritivas (média, desvio padrão e frequência) e inferências sobre as variáveis estudadas. **Resultados:** Na primeira fase com a Mini-SPIN obtivemos uma prevalência aparente de 20,6% para o TAS. Após a aplicação da SCID, confirmou-se o diagnóstico em 56,3% da amostra selecionada pela Mini-SPIN, representando 11,6% da amostra total, considerada a prevalência real do transtorno. Quanto aos tipos de medos, a maioria dos sujeitos com TAS apresentavam medo de falar em público (91,6%), seguido do medo de comer em público (28,3%) e do medo de escrever em público (16,5%). Em relação à instituição e área dos cursos frequentados; 7,7% dos alunos da FMRP-USP, 13,3% da FFCLRP-USP e 10,3% da UNIFRAN foram classificados como portadores do transtorno, não havendo diferenças significativas ($\chi^2=0,02$; $p=0,9$). Verificou-se que os sujeitos do sexo feminino apresentaram significativamente maior prevalência TAS (N=161 ou 12,5%) do que os indivíduos do sexo masculino (N=76 ou 7,4%) ($\chi^2=15,8$, $p<0,0001$). A idade média de início do TAS foi de 11,4 anos ($\pm 0,27$) e o tempo médio de doença foi de 10,2 anos ($\pm 0,3$). Apenas dois sujeitos (0,8%) identificados como apresentando TAS, referiram terem sido diagnosticados previamente por um profissional de saúde como portadores do transtorno. Apenas seis indivíduos com TAS (2,5%) tomavam alguma medicação que poderia ser útil no tratamento farmacológico do transtorno. A maioria dos pacientes (N=151 ou 63,7%) foi classificada como apresentando TAS moderado, seguido por grau leve (N= 21 ou 21,9%) e grave (N= 34 ou 14,3%). Os indivíduos com TAS usavam com maior frequência (N=55 ou 23,2%) medicações gerais do que os não casos (N= 313 ou 14,8%) ($\chi^2=10,9$; $p<0,001$). Não foram encontradas