



## **COMISSÃO ORGANIZADORA**

### **COORDENADOR**

Prof. Dr. FERNANDO CENDES

### **REPRESENTANTE CPG/FCM**

Prof. Dr. JOSE BARRETO CAMPELLO CARVALHEIRA

### **REPRESENTANTE COMITÊ ETICA/FCM**

Prof. Dr. CARLOS EDUARDO STEINER

### **MEMBROS**

Prof. Dr. EDSON ANTUNES

Prof. Dr. GIL GUERRA JÚNIOR

Prof. Dr. HEITOR MORENO JÚNIOR

Prof. Dr. LI LI MIN

Prof. Dr. NELSON ADAMI ANDREOLLO

Prof. Dr. RODRIGO PESSOA CAVALCANTE LIRA

Prof. Dr. ROGER FRIGÉRIO CASTILHO

Prof. Dr. JOAQUIM BUSTORFF DA SILVA

Prof. Dr. LUIZ GUILHERMO BAHAMONDES

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> MARIA INÊS MONTEIRO

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARIA DE FÁTIMA SONATI

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARILISA BERTI DE AZEVEDO BARROS

### **SECRETÁRIA**

SORAIA MARGARETH ALEXANDRE

## REVISORES:

PROFESSOR	DEPARTAMENTO
ADILSON ROBERTO CARDOSO	ANESTESIOLOGIA
ALBERTO CLIQUET JUNIOR	ORTOPEDIA
ANDREA TREVAS MACIEL GUERRA	GENÉTICA MÉDICA
ANDREI CARVALHO SPOSITO	CLÍNICA MÉDICA
ANGELICA ZANINELLI SCHREIBER	PATOLOGIA CLÍNICA
ANTONIO LUIS EIRAS FALCAO	CIRURGIA
APARECIDA MARI IGUTI	SAÚDE COLETIVA
ATHANASE BILLIS	ANATOMIA PATOLÓGICA
CARMEN SILVIA BERTUZZO	GENÉTICA MÉDICA
CECILIA AMELIA FAZZIO ESCANHOELA	ANATOMIA PATOLÓGICA
CELIA REGINA GARLIPP	PATOLOGIA CLÍNICA
CLARISSA DE ROSALMEIDA DANTAS	PSICOLOGIA MÉDICA E PSIQUIATRIA
CLAUDIA VIANNA MAURER MORELLI	GENÉTICA MÉDICA
CLAUDIO EDUARDO MULLER BANZATO	PSICOLOGIA MÉDICA E PSIQUIATRIA
EDSON ANTUNES	FARMACOLOGIA
EGBERTO RIBEIRO TURATO	PSICOLOGIA MÉDICA E PSIQUIATRIA
EGBERTO RIBEIRO TURATO	PSICOLOGIA MÉDICA E PSIQUIATRIA
ELIANA MARTORANO AMARAL	TOCOGINECOLOGIA
ELIANE MARIA INGRID AMSTALDEN	ANATOMIA PATOLOGICA
FABIO HUSEMANN MENEZES	CIRURGIA
FABIO ROGERIO	ANATOMIA PATOLOGICA
FLAVIO CESAR DE SA	SAÚDE COLETIVA
GIL GUERRA JÚNIOR	PEDIATRIA
GLAUCIA COELHO DE MELLO	FARMACOLOGIA
HERLING GREGORIO AGUILAR ALONZO	SAÚDE COLETIVA
ILKA DE FATIMA SANTANA FERREIRA BOIN	CIRURGIA
ISCIA LOPES CENDES	GENÉTICA MÉDICA
IVAN FELIZARDO CONTRERA TORO	CIRURGIA
JOANA FROES BRAGANCA BASTOS	TOCOGINECOLOGIA
JOAQUIM MURRAY BUSTORFF SILVA	CIRURGIA
KLEBER YOTSUMOTO FERTRIN	PATOLOGIA CLÍNICA
LAURA STERIAN WARD	CLÍNICA MÉDICA
LILIANA AP. LUCCI DE A ANDRADE	ANATOMIA PATOLÓGICA
MARCOS TADEU NOLASCO DA SILVA	PEDIATRIA
MARIA ELENA GUARIENTO	CLÍNICA MÉDICA
MARIA ELISABETE R. F. GASPARETTO	CEPRE
MARIA HELOISA DE SOUZA LIMA BLOTTA	PATOLOGIA CLÍNICA
MILENA SIMIONI	GENÉTICA MÉDICA



ORLANDO PETRUCCI JUNIOR	CIRURGIA
PATRICIA MORIEL	PATOLOGIA CLÍNICA
RICARDO DE LIMA ZOLLNER	CLÍNICA MÉDICA
ROBERTO TEIXEIRA MENDES	PEDIATRIA
RODRIGO MIGUEL MARIN	CLÍNICA MÉDICA
SILVIA DE BARROS MAZON	PATOLOGIA CLÍNICA
SILVIA MARIA SANTIAGO	SAÚDE COLETIVA
SOPHIE FRANCOISE M. DERCHAIN	TOCOGINECOLOGIA
VERA LUCIA GIL DA SILVA LOPES	GENÉTICA MÉDICA
ROGER FRIGÉRIO CASTILHO	PATOLOGIA CLÍNICA

## SUMÁRIO:

(14.1)	DETECÇÃO DE COCAÍNA E SEUS PRODUTOS DE BIOTRANSFORMAÇÃO EM AMOSTRAS DE UNHAS POSTMORTEM.	10
(14.2)	FATORES GERADORES DO ABSENTEÍSMO DOS PROFISSIONAIS DE ENFERMAGEM DE UM HOSPITAL PÚBLICO E UM PRIVADO.	11
(14.3)	ESTUDO DO POLIMORFISMO rs2069762 DO GENE IL-2 EM PACIENTES COM CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIREOIDE.	12
(14.4)	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DOS MACRÓFAGOS M1 E M2 NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE HUMANA.	13
(14.5)	A DOSAGEM SÉRICA DE IL-6R NÃO DISTINGUE MALIGNIDADE EM PACIENTES COM NÓDULOS TIREOIDIANOS NEM DIFERENCIA OS PACIENTES LIVRES DE DOENÇA DAQUELES COM DOENÇA ATIVA.	14
(14.6)	ADVERSE REACTIONS AND CISPLATIN EXCRETION IN URINE OF PATIENTS WITH HEAD AND NECK CANCER UNDERGOING CHEMOTHERAPY.	15
(14.7)	ROLE OF SCN1A GENE IN CHILDHOOD EPILEPTIC ENCEPHALOPATHIES.	16
(14.8)	FATORES DE RISCO CLÍNICOS E RADIOLÓGICOS PARA O PIOR PROGNÓSTICO DA ENTEROCOLITE NECROSANTE EM RECÉM NASCIDOS.	17
(14.9)	POLIMORFISMOS NO GENE LEP E LEPR PODEM AUMENTAR O RISCO PARA O CARCINOMA DIFERENCIADO DA TIREOIDE.	18
(14.10)	CONSTRUCTION AND VALIDATION OF A NEXT-GENERATION SEQUENCING -PANEL TO INVESTIGATE MUTATIONS IN PATIENTS WITH DRAVET SYNDROME AND OTHER CHILDHOOD EPILEPTIC ENCEPHALOPATHIES.	19
(14.11)	SEQUENCE VARIANT IN THE ITGA9 GENE AS A RISK FACTOR FOR DEPRESSION IN PATIENTS WITH MESIAL TEMPORAL LOBE EPILEPSY.	20
(14.12)	OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA DESENCADEIA ESTRESSE DO RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO E RESISTÊNCIA À INSULINA EM AMÍGDALA DE RATOS.	21
(14.13)	ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DO INFLAMASSOMA NLRP3 NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA INDUZIDA PELO FUNGO DIMÓRFICO PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS.	22
(14.14)	PERCEPÇÃO DOS PAIS SOBRE O DESENVOLVIMENTO COMUNICATIVO DA CRIANÇA SURDA USUÁRIA DE IMPLANTE COCLEAR.	23
(14.15)	PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM PROGRAMA DE AÇÕES PREVENTIVAS EM FONOAUDIOLOGIA EM AMBULATÓRIO DE PEDIATRIA EM UM HOSPITAL TERCIÁRIO.	24
(14.16)	PERFIL EPIDEMIOLÓGICO, CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, SEGURANÇA E EFICÁCIA RELACIONADA AO USO DA COLISTINA NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES.	25
(14.17)	Caryocar brasiliense SUPERCRITICAL CO2 EXTRACT POSSESSES ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES USEFUL FOR PERSONAL CARE PRODUCTS.	26
(14.18)	A TOOL FOR HIGH THROUGHPUT SEQUENCING DATA QUALITY CONTROL.	27
(14.19)	FATHER OF ADOLESCENT GIRLS WITH ANOREXIA NERVOSA OR BULIMIA: A QUALITATIVE STUDY ABOUT THEIR LIFE EVENTS AND EMOTIONAL EXPERIENCES.	28
(14.20)	A AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE C-MET E DE STAT3 NA DIFERENCIAÇÃO DE TIPOS HISTOLÓGICOS DO CÂNCER DE TIREOIDE.	29
(14.21)	NÍVEIS SÉRICOS DE ADIPONECTINA, LEPTINA RESISTINA E GRELINA IDENTIFICAM MALIGNIDADE EM NÓDULOS TIREOIDIANOS.	30
(14.22)	PROGRAMA DE VALORIZAÇÃO DA ATENÇÃO BÁSICA: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA	31

	DA PRÁTICA DE SUPERVISÃO.	
(14.23)	RNA AND PROTEIN EXTRACTION FROM RAT HIPPOCAMPUS OBTAINED THROUGH LASER CAPTURE MICRODISSECTION AND A COMPARATIVE PROTEOMIC ANALYSES BETWEEN TWO DIFFERENT MASS SPECTROMETERS.	32
(14.24)	NÍVEIS PLASMÁTICOS DE LDL OXIDADA E METALOPROTEINASE 8 ESTÃO ASSOCIADAS COM ATROSCLEROSE CAROTÍDEA EM INDIVÍDUOS COM LESÃO MEDULAR.	33
(14.25)	FREQUÊNCIA E CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DAS CÉLULAS CD4+CD28NULL EM PACIENTES COM PSORÍASE E INDIVÍDUOS CONTROLE.	34
(14.26)	COMPARISONS ON WHOLE EXOME CAPTURING COVERAGE AND EFFICIENCY AMONG DIFFERENT POPULATIONS.	35
(14.27)	FATORES QUE INFLUENCIAM AS FAMÍLIAS A DOAR OS ÓRGÃOS DE SEUS ENTES QUERIDOS PARA PROCEDIMENTOS DE TRANSPLANTES.	36
(14.28)	CONCENTRAÇÕES SÉRICAS E POLIMORFISMO DE INTERLEUCINA 10 (IL-10) EM PACIENTES COM NÓDULOS TIREOIDIANOS MENTOS DE TRANSPLANTES.	37
(14.29)	DISTINCT TEMPORAL LOBE EPILEPSY (TLE) SUB SYNDROMES HAVE DIFFERENT PATTERNS OF ALTERED FUNCTIONAL CONNECTIVITY.	38
(14.30)	A EXPRESSÃO DE DREAM PODE CARACTERIZAR NÓDULOS TIREOIDIANOS MALIGNOS E MODIFICAR SUAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICOS.	39
(14.31)	ESTRATÉGIAS ESPONTÂNEAS NA BUSCA DE EGOSINTONIA RELATADAS POR PACIENTES COM TOC EM SEGUIMENTO AMBULATORIAL NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNICAMP: UM ESTUDO CLÍNICO-QUALITATIVO.	40
(14.32)	RESISTÊNCIA MECÂNICA À FLEXÃO DE MÉTODOS DE FIXAÇÃO PARA FRATURAS DE ÂNGULO EM MANDÍBULAS DE POLIURETANO.	41
(14.33)	INVESTIGAÇÃO GENOTÍPICA E FUNCIONAL DE GENES RELACIONADOS A PIGMENTAÇÃO DE PELE EM DANIO RERIO PARA CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO FENÓTIPO "NO-STRIPES" COM PROPÓSITO DE PRODUÇÃO DE LINHAGEM ISOGÊNICA.	42
(14.34)	ESTUDO RETROSPECTIVO DOS CASOS DE FRATURA DE MANDÍBULA TRATADOS PELA ÁREA DE CIRURGIA PLÁSTICA DA FCM-UNICAMP, NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2006 A DEZEMBRO DE 2011.	43
(14.35)	ESTILOS DE ENFRENTAMENTO DO CÂNCER DE MAMA DESENVOLVIDOS FACE ÀS IDEIAS SOBRE A DOENÇA: UM ESTUDO QUALITATIVO.	44
(14.36)	ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE LARVAS DE ZEBRAFISH EM NADO LIVRE DURANTE CRISES INDUZIDAS POR HIPERTERMIA.	45
(14.37)	GANHO EXCESSIVO DE PESO EM PACIENTES DO AMBULATÓRIO DE PSIQUIATRIA DE ADULTOS: ANÁLISE QUALITATIVA DAS PRÁTICAS ALIMENTARES E DO CUIDADO NUTRICIONAL.	46
(14.38)	PODE POLIMORFISMOS NO GENE ADIPOR2 MODULAR A GRAVIDADE CLÍNICA DA FIBROSE CÍSTICA?	47
(14.39)	ASSOCIAÇÃO DE BACTÉRIAS NO ESCARRO COM A GRAVIDADE CLÍNICA DA FIBROSE CÍSTICA.	48
(14.40)	DETERMINAÇÃO DA INTERAÇÃO DE MICRORGANISMOS EM PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA PELA FERRAMENTA MULTIFACTOR DEMENSIONALITTY REDUCTION.	49
(14.41)	POLIMORFISMOS DE REPETIÇÃO EM TANDEM NO GENE NOS-1 E 894G>T NO GENE NOS-3 PODEM INFLUENCIAR NA GRAVIDADE DA FIBROSE CÍSTICA?	50
(14.42)	A SALINA HIPERTÔNICA É UMA FERRAMENTA ÚTIL PARA A IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS VIAS AERÍFERAS NA FIBROSE CÍSTICA?	51

<b>(14.43)</b>	STAPHYLOCOCCUS AUREUS E PSEUDOMONAS AERUGINOSA NA FIBROSE CÍSTICA, ANTAGONISTAS?	52
<b>(14.44)</b>	FIBROSE CÍSTICA EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA: HOVE MUDANÇAS NO ESTADO CLÍNICO DOS PACIENTES NOS ÚLTIMOS DEZ ANOS?	53
<b>(14.45)</b>	POLIMORFISMOS NO GENE CLDN1 COMO FATOR DE RISCO AO CÂNCER DE COLORRETAL.	54
<b>(14.46)</b>	O POLIMORFISMO RS11362 NO GENE DEFB1 PODE MODULAR A GRAVIDADE NA FIBROSE CÍSTICA?	55
<b>(14.47)</b>	ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS RS1801133 (677C→T) E RS1801131 (1298A→C) NO GENE MTHFR AO RISCO E GRAVIDADE NO CÂNCER DE MAMA ESPORÁDICO.	56
<b>(14.48)</b>	ESTUDO COMPARATIVO ENTRE A EFICÁCIA, SEGURANÇA E FARMACOECONOMIA RELACIONADA A UTILIZAÇÃO DA COLISTINA E POLIMIXINA-B NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES.	57
<b>(14.49)</b>	EVALUATION OF CYCLOOXYGENASE-2 MRNA EXPRESSION AFTER PTZ-INDUCED SEIZURE IN ADULT AND LARVAE ZEBRAFISH BRAIN.	58
<b>(14.50)</b>	INDOMETHACIN TREATMENT PRIOR TO PTZ-INDUCED SEIZURE PROMOTES DOWN-REGULATION IN INTERLEUKIN-1 BETA TRANSCRIPT LEVELS AND DECREASES EPILEPSY-LIKE BEHAVIOR IN ZEBRAFISH LARVAE.	59
<b>(14.51)</b>	ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS -514C>T E -250G>A DO GENE LIPC COM AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS, TAMANHO E VOLUME DA HDL EM UMA AMOSTRA POPULACIONAL BRASILEIRA.	60
<b>(14.52)</b>	IDENTIFICAÇÃO DE PNEUMOCYSTIS JIROVECI A PARTIR DE AMOSTRAS CLÍNICAS PELA TÉCNICA DE LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP).	61
<b>(14.53)</b>	IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS PATOGÊNICOS PELO SEQUENCIAMENTO DO DNA A PARTIR DE FRASCOS DE HEMOCULTURAS OBTIDOS DE PACIENTES INTERNADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNICAMP.	62
<b>(14.54)</b>	“DIAGNÓSTICO DE PNEUMOCYSTIS JIROVECI ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PCR E NESTED-PCR EM AMOSTRAS DE ESCARRO, LAVADO BRONCO ALVEOLAR, SANGUE, SORO E PLASMA DE PACIENTES DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNICAMP”.	63
<b>(14.55)</b>	CARACTERIZAÇÃO DE LIPÍDIOS POR ESI-HRMS EM LINHAGENS DE NEOPLASIAS PARA PROSPECÇÃO DE BIOMARCADORES.	64
<b>(14.56)</b>	EFEITO SINÉRGICO IN VITRO ENTRE DOXORRUBICINA E SINVASTATINA EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS MAMÁRIAS(14.60) SINVASTATINA COMO MEDICAMENTO OFF-LABEL PARA GLIOBLASTOMA.	65
<b>(14.57)</b>	SINVASTATINA COMO MEDICAMENTO OFF-LABEL PARA GLIOBLASTOMA.	66
<b>(14.58)</b>	TUBB3GENE AND COPY NUMBER VARIATION ANALYSES IN PATIENTS WITH POLYMICROGYRIA.	67
<b>(14.59)</b>	ISOLADO CLÍNICO DE CANDIDA ALBICANS RESISTENTE A FLUCONAZOL: IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE MUTAÇÕES NO GENE ERG11	68
<b>(14.60)</b>	DNA QUALITY PARAMETERS TO IDENTIFY MOSAIC SOMATIC MUTATIONS USING NEXT GENERATION SEQUENCING TECHNOLOGY(14.65) ESTUDO DA RELAÇÃO FILOGENÉTICA ENTRE FUNGOS DO GÊNERO FUSARIUM OBTIDOS DO AR E ISOLADOS DE HEMOCULTURAS DE PACIENTES IMUNOCOMPROMETIDOS.	69
<b>(14.61)</b>	ESTUDO DA RELAÇÃO FILOGENÉTICA ENTRE FUNGOS DO GÊNERO FUSARIUM OBTIDOS DO AR E ISOLADOS DE HEMOCULTURAS DE PACIENTES IMUNOCOMPROMETIDOS.	70

<b>(14.62)</b>	INVESTIGAÇÃO DE INFECÇÕES PULMONARES AGUDAS QUE MOTIVARAM INTERNAÇÃO HOSPITALAR DE PACIENTES HIV POSITIVOS.	71
<b>(14.63)</b>	IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DO GÊNERO FUSARIUM OBTIDOS DO AR DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNICAMP.	72
<b>(14.64)</b>	SPG4 MUTATIONS IN BRAZILIAN PATIENTS WITH HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA.	73
<b>(14.65)</b>	INOS INDUZ RESISTÊNCIA A INSULINA E DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL ATRAVÉS DA S-NITROSAÇÃO DA SIRT1.	74
<b>(14.66)</b>	ANÁLISE DE ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS ATRAVÉS DE SOFTWARE FREESURFER EM PACIENTES COM DISTONIA CRÂNIO-CERVICAL PRIMÁRIA.	75
<b>(14.67)</b>	INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE SORO AMILÓIDE A (SAA) E OBESIDADE COM A SOBREVIVÊNCIA DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA.	76
<b>(14.68)</b>	POLIMORFISMOS NOS GENES DO RECEPTOR DE ESTRÓGENO (ESR1 E ESR2) ALTERAM O RISCO E A GRAVIDADE CLÍNICA DO CÂNCER DE MAMA ESPORÁDICO?	77
<b>(14.69)</b>	IDENTIFICAÇÃO DE CANDIDA ATRAVÉS DE PCR EM TEMPO REAL EM SANGUE TOTAL.	78
<b>(14.70)</b>	VIVÊNCIAS EMOCIONAIS DE GESTANTES OBESAS COM GANHO PONDERAL ADEQUADO DURANTE O PRÉ-NATAL EM SERVIÇO OBSTÉTRICO DE REFERÊNCIA – UM ESTUDO CLÍNICO-QUALITATIVO.	79
<b>(14.71)</b>	AVALIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE IL-6, IL-10 E TGF-B EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA NA PÓS-MENOPAUSA.	80
<b>(14.72)</b>	AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS SLC23A2-05 E KRAS-LCS6 ENTRE PORTADORES DE CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO.	81
<b>(14.73)</b>	ANÁLISE DE PROTEOMA NO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LARINGE.	82
<b>(14.74)</b>	CARACTERIZAÇÃO DAS POPULAÇÕES DE LINFÓCITOS TCD4+ EM ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL HUMANO.	83
<b>(14.75)</b>	A-FABP (PROTEÍNA TRANSPORTADORA DE ÁCIDOS GRAXOS DE ADIPÓCITOS) – UM ELO ENTRE OBESIDADE, ALTERAÇÕES METABÓLICAS E INFLAMAÇÃO NO CÂNCER MAMÁRIO?	84
<b>(14.76)</b>	RELEVÂNCIA CLÍNICA DE INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS POTENCIAIS EM TERAPIA INTENSIVA.	85
<b>(14.77)</b>	AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE “IN VITRO” DE ESPÉCIES DE CRYPTOCOCCUS ISOLADAS DE MATERIAL CLÍNICO DE PACIENTES ATENDIDOS NO HC-UNICAMP FRENTE AOS AGENTES ANTIFÚNGICOS EM DIFERENTES COMBINAÇÕES.	86
<b>(14.78)</b>	NON-INVASIVE BIOMARKERS IN PLASMA OF PATIENTS WITH EPILEPSY: ASSESSING AN IMPROVED PROTOCOL FOR MICRORNAS EXTRACTION.	87
<b>(14.79)</b>	APPLICATION OF LASER MICRODISSECTION OF HIPPOCAMPUS SUBFIELDS FOR RNASEQ ANALYSIS IN ANIMAL MODELS OF MESIAL TEMPORAL LOBE EPILEPSY WITHOUT STATUS EPILEPTICUS.	88
<b>(14.80)</b>	ZIGOMICETOS: SUSCETIBILIDADE FRENTE A ANTIFÚNGICOS ISOLADOS E EM COMBINAÇÃO E CORRELAÇÃO COM IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR.	89
<b>(14.81)</b>	AVALIAÇÃO DE SUSCETIBILIDADE DE HIFAS E CONÍDIOS DE RHIZOPUS ORYZAE FRENTE AOS ANTIFÚNGICOS DISPONÍVEIS PARA TRATAMENTO: ESTUDO DE UM CASO CLÍNICO.	90
<b>(14.82)</b>	ASSOCIAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS CLÍNICAS RELACIONADAS À ASMA EM ESCOLARES E ADOLESCENTES NASCIDOS PREMATUROS, COM MUITO BAIXO PESO COM E SEM DISPLASIA BRONCOPULMONAR.	91
<b>(14.83)</b>	AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE LACTENTES APÓS TRIAGEM NEONATAL POSITIVA PARA FIBROSE CÍSTICA.	92

<b>(14.84)</b>	IDENTIFICATION OF A MOLECULAR MECHANISM LEADING TO FAILURE IN NEUROGLIAL DIFFERENTIATION IN FOCAL CORTICAL DYSPLASIAS (FCDS) OFFERS CLUES TO BRAIN DEVELOPMENT AND EPILEPTOGENESIS.	93
<b>(14.85)</b>	ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE LARVA DE DANIO RERIO EXPOSTO A SOLUÇÃO DE PTZ 15 mm.	94
<b>(14.86)</b>	CHARACTERIZATION OF SEIZURE-LIKE BEHAVIOR OF FREE SWIMMING ZEBRAFISH LARVAE SUBMITTED TO HYPERTHERMIA AND PENTYLENETETRAZOLE SEIZURE-INDUCING MODELS.	95
<b>(14.87)</b>	APLICAÇÃO CLÍNICA DO SEQUENCIAMENTO DE EXOMAS: AVALIAÇÃO E PROPOSTA DE UTILIZAÇÃO NO ÂMBITO DO SISTEMA PÚBLICO DE SAÚDE.	96
<b>(14.88)</b>	SIGNIFICADOS PSICOSSOCIAIS DAS VIVÊNCIAS DE PACIENTES COM DOR CRÔNICA: UMA REVISÃO.	97
<b>(14.89)</b>	AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DE ZEBRAFISH EXPOSTO A SUCESSIVAS CRISES EPILÉPTICAS INDUZIDAS POR PENTILENOTETRAZOL.	98
<b>(14.90)</b>	APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE MLPA PARA TRIAGEM DE MUTAÇÕES DO CROMOSSOMO X EM INDIVÍDUOS COM DEFICIÊNCIA INTELECTUAL DE CAUSA INDETERMINADA.	99
<b>(14.91)</b>	GENE EXPRESSION ANALYSIS USING BIOINFORMATICS METHODS IN RNA-SEQ EXPERIMENTS.	100
<b>(14.92)</b>	OBTENÇÃO DE POLIURETANOS A PARTIR DA SÍNTESE DE BIURETO DE HEXAMETILENO DIISOCIANATO E ÁCIDO RICINOLÉICO: ENSAIO IN VITRO.	101
<b>(14.93)</b>	LOCALIZATION AND CELL TYPE IDENTIFICATION OF GENES AND MICRORNA IN BRAIN TISSUES FROM EPILEPSY PATIENTS.	102
<b>(14.94)</b>	DEPRESSÃO E QUALIDADE DE VIDA EM DOENTES FALCIFORMES: INFLUÊNCIAS DAS CONDIÇÕES SOCIOECONÔMICAS E DAS COMPLICAÇÕES BIOLÓGICAS DA DOENÇA.	103
<b>(14.95)</b>	PERCEPÇÕES DE EVENTUAIS MUDANÇAS NAS RELAÇÕES INTERPESSOAIS RELATADAS POR FAMILIARES DE PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA COM MELHORA CLÍNICA APÓS USO DE CLOZAPINA: UM ESTUDO CLÍNICO-QUALITATIVO.	104
<b>(14.96)</b>	INVESTIGAÇÃO DE REARRANJOS SUBTELOMÉRICOS PELA TÉCNICA DE MLPA NA DEFICIÊNCIA INTELECTUAL IDIOPÁTICA: OITO ANOS DE TRIAGEM NO SERVIÇO DE GENÉTICA CLÍNICA DO DGM DA FCM-UNICAMP.	105
<b>(14.97)</b>	O USO DA CAPNOGRAFIA VOLUMÉTRICA COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS.	106
<b>(14.98)</b>	ESTABLISHMENT OF AN OPTIMAL PROTOCOL FOR ISOLATING GENOMIC DNA FROM FORMALIN-FIXED PARAFFIN-EMBEDDED TISSUE SAMPLES FOR NEXT-GENERATION SEQUENCING.	107
<b>(14.99)</b>	DO WE NEGLECT THE ADDICTIVE DIMENSION OF EATING DISORDERS? CLINICAL QUALITATIVE STUDY OF SUBJECTS THAT DROPPED OUT FROM OUTPATIENT TREATMENT.	108
<b>(14.100)</b>	TUBERCULOSE E INFECÇÃO POR MICOBACTÉRIAS ATÍPICAS EM PACIENTES COM HIV/AIDS - ASPECTOS RELACIONADOS AOS EXAMES DIAGNÓSTICOS.	109
<b>(14.101)</b>	INFLUÊNCIA DA CARGA VIRAL NAS CÉLULAS DENDRÍTICAS DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES VERTICALMENTE INFECTADOS PELO HIV.	111
<b>(14.102)</b>	CARACTERIZAÇÃO DA S-NITROSAÇÃO DOS FATORES DE TRANSCRIÇÃO FOXO1/FOXO3A EM MÚSCULO ESQUELÉTICO EM DIFERENTES MODELOS EXPERIMENTAIS DE ATROFIA.	112
<b>(14.103)</b>	EFEITO DO BDNF HIPOTALÂMICO SOBRE O CONTROLE DO GASTO ENERGÉTICO EM CAMUNDONGOS EXERCITADOS.	113

<b>(14.104)</b>	LARGE SCALE GENE EXPRESSION ANALYSIS IN GENETIC ANIMAL MODELS OF EPILEPSY.	114
<b>(14.105)</b>	ALUNOS DE ENSINO MÉDIO DE ESCOLA COMUM E INCLUSÃO EDUCACIONAL: ANÁLISE COMPARATIVA.	115
<b>(14.106)</b>	ESTUDO VOLUMÉTRICO DA SUBSTÂNCIA CINZENTA EM PACIENTES COM EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL EM REMISSÃO DE CRISE COM TRATAMENTO MEDICAMENTOSO.	116
<b>(14.107)</b>	REFERRED AND REAL DATA: OBESE PATIENTS WITH SM AND T2DM.	117
<b>(14.108)</b>	EXTRUSION PROCESS OF POLYCAPROLACTONE/HYDROXYAPATITE 3D SCAFFOLD: IN VITRO EVALUATION.	118
<b>(14.109)</b>	ESTRESSE OXIDATIVO E NITROSATIVO INDUZIDO POR CISPLATINA EM PACIENTES COM CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO.	119
<b>(14.110)</b>	A EXPERIÊNCIA DIDÁTICA COMO CONTRIBUIÇÃO PARA A FORMAÇÃO DE DOUTORES EM SAÚDE COLETIVA.	120
<b>(14.111)</b>	INTERAÇÃO ENTRE CÉLULAS DENDRÍTICAS E AS CÉLULAS NK NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA CONTRA O FUNGO DIMÓRFICO PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS.	121
<b>(14.112)</b>	DISCREPÂNCIA ENTRE IMC REAL E REFERIDO CONSIDERANDO-SE IDADE, GÊNERO, ESTADO CIVIL ALEXITIMIA PURA E PROVÁVEL ALEXITIMIA.	122
<b>(14.113)</b>	ESTUDO DAS INTERAÇÕES ENTRE PLASMA ATMOSFÉRICO NÃO TÉRMICO E FIBROBLASTOS DÉRMICOS HUMANOS EX-VIVOS.	123
<b>(14.114)</b>	IMUNOFENOTIPAGEM DE LINFÓCITOS NA DIFERENCIAÇÃO DOS FENÓTIPOS CLÍNICOS DAS IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS.	124
<b>(14.115)</b>	CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE CITOCINAS FRENTE AO HIV EM CULTURA DE CÉLULAS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS COM INFECÇÃO VERTICAL POR HIV.	125
<b>(14.116)</b>	TÉCNICA DE MLPA NA DEFICIÊNCIA INTELECTUAL IDIOPÁTICA: OITO ANOS DE TRIAGEM NO SERVIÇO DE GENÉTICA CLÍNICA DO DGM DA FCM-UNICAMP.	126

## RESUMOS:

### **(14.1) DETECÇÃO DE COCAÍNA E SEUS PRODUTOS DE BIOTRANSFORMAÇÃO EM AMOSTRAS DE UNHAS POSTMORTEM.**

*Loss, Carla Giane; Santos Júnior, Júlio César; Galaverna, Renan de S; Jara, Jose L Paz; Filho, Pedro C Mollo; Guidugli, Ruggero B F; Eberlin, Marcos Nogueira; Höehr, Nelci Fenalti;*

Introdução: A análise de unhas para detecção de drogas de abuso vem sendo reconhecida como uma importante ferramenta de detecção pelos toxicologistas como uma matriz alternativa ao cabelo. As matrizes queratinizadas podem fornecer um monitoramento a longo prazo do consumo de drogas devido ao seu crescimento contínuo e sua capacidade de incorporar tais compostos.[1] A cocaína (COC) e seus metabólitos estão entre as drogas que vem sendo detectadas em unhas. Sendo assim, podem ser utilizadas como amostra biológica em análises toxicológicas para fins forenses, especialmente quando se trata da avaliação de um longo período de consumo, com uma grande vantagem do processo de coleta não ser invasivo.[2] A análise de drogas ilícitas vem sendo um desafio para os laboratórios forenses. O Espectrômetro de Massas com analisador por tempo de voo de alta resolução (TOF MS, Citius™ LC-HRT) fornece informações de alta resolução para identificação juntamente com a capacidade de realizar análises seletivas em matrizes complexas como amostras biológicas. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método rápido de screening para cocaína e seus metabólitos em amostras de unhas por TOF MS de Alta Resolução.

Métodos: Amostras de unhas ( $\pm 20$ mg) de periciados do Instituto Médico Legal (IML) foram coletadas com auxílio de cortadores de unha. Os cortes foram lavados 3 vezes com metanol (3mL) em vórtex por 15 segundos a fim de estabelecer a completa descontaminação das amostras. Após secar em estufa por duas horas, as unhas foram submetidas à moagem criogênica, onde se fez a pulverização das unhas com auxílio de nitrogênio líquido em grau de porcelana. Após pesagem, foi adicionado 3mL de metanol e o sistema foi mantido por 16 horas a 40°C para que a droga seja liberada da matriz. O metanol foi transferido para outro tubo, centrifugado por 7 minutos a 12.000 rpm e após evaporado em atmosfera de nitrogênio. 1mL de metanol foi utilizado para reconstituir o resíduo, este foi filtrado e após realizada a injeção no TOF-MS. COC e benzoilecgonina (BZE) foram identificadas através da comparação do espectro dos padrões de cocaína (COC=  $m/z=304$  e BZE=  $m/z= 290$ ). O estudo foi realizado de acordo com os padrões éticos de pesquisa de nossa instituição e do IML. Fez-se o uso do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pela família do cadáver.

Resultados e discussão: No presente estudo, COC e BZE foram detectados nas amostras de unhas analisadas. Sendo assim, as unhas podem ser uma importante matriz para fins forenses utilizadas na detecção de drogas de abuso, devido ao fato de que as drogas ficam presas nesta durante um longo período de tempo. Além disso, a coleta de unha é relativamente simples, não invasiva quando comparado a coleta de sangue ou urina e uma pequena quantidade de amostra é suficiente para realização da análise como mostra esse estudo (20mg). Além disso, o uso de unhas como amostra postmortem são extremamente úteis na determinação de exposição passada a drogas de abuso em cadáveres quando outros fluidos não podem ser obtidos. A interpretação desses resultados necessitam de mais estudos.

Palavras chave: Toxicologia Forense, unhas, postmortem, TOF-MS, cocaína, benzoilecgonina.

**(14.2) FATORES GERADORES DO ABSENTÉISMO DOS PROFISSIONAIS DE ENFERMAGEM DE UM HOSPITAL PÚBLICO E UM PRIVADO.**

*Furlan, Jussara Silva; Stancato, Dra Katia ;*

O absenteísmo é o termo utilizado para indicar a soma dos períodos em que os funcionários se encontram ausentes do trabalho, seja por falta, atraso ou algum motivo interveniente. O presente estudo tem como objetivo comparar os fatores geradores do absenteísmo entre os profissionais de enfermagem do Hospital de Clínicas da Universidade de Estadual de Campinas (HC-UNICAMP) e da Fundação Centro Médico Campinas (FCMC). Trata-se de um estudo de natureza quantitativa, de caráter descritivo e documental, na qual a metodologia ocorreu em três etapas: primeiramente foram calculados os índices de absenteísmo dos hospitais em estudo, em seguida foram aplicados os questionários semiestruturado junto aos profissionais de enfermagem e, por fim, foram comparados os dados encontrados. Pelos dados levantados nessa pesquisa, observa-se que o absenteísmo tem um caráter multifatorial, o que contribui para aumentar sua complexidade. E estes fatores afetam de forma semelhante à instituição pública e à privada. Ressaltando-se a necessidade das organizações possuírem programas de controle de ausência. Este trabalho foi realizado com intuito de contribuir para melhoria da gestão hospitalar, qualidade de vida dos profissionais e da qualidade da assistência ao paciente.

Palavras chave: absenteísmo, administração de recursos humanos, enfermagem

**(14.3) ESTUDO DO POLIMORFISMO rs2069762 DO GENE IL-2 EM PACIENTES COM CARCINOMA DIFERENCIADO DE TIREOIDE.**

*Colombera Peres, Karina ; Bonjorno Martins, Mariana ; Marcello, Marjory Alana; de Assis Batista, Fernando ; Meneghetti, Murilo ; Latham Ward, Mirela Andrea; Montali da Assumpção, Ligia Vera; Sterian Ward, Laura ;*

Nódulos de tireoide são detectados em metade da população feminina submetida à ultrassonografia cervical, mas o câncer diferenciado de tireoide (CDT) não ocorre em mais do que 5% dos nódulos. Por outro lado, a incidência do CDT vem aumentando e praticamente triplicou nas últimas décadas de modo que a descoberta de marcadores de risco de malignidade em nódulos tireoidianos é fundamental. Também é urgente descobrir marcadores de agressividade e de prognóstico já que, embora a grande maioria dos CDT tenha boa evolução, cerca de 5-10% dos casos evoluem para óbito. A interleucina 2 (IL-2) é uma potente citocina imunorreguladora envolvida na mediação de células na resposta imune, elemento fundamental para a proliferação de linfócitos T ativados, para o crescimento de células B, para estimular a síntese de anticorpos, promover a proliferação e diferenciação de células NK, além de aumentar suas funções citolíticas. No entanto, o papel da IL-2 na etiopatogenia do Câncer Diferenciado da Tireoide (CDT) e sua utilidade como marcadora de prognóstico e diagnóstico dos pacientes com CDT permanecem obscuros. O objetivo deste trabalho foi verificar se o perfil genotípico herdado do gene IL-2 influencia na suscetibilidade ao desenvolvimento do CDT e se correlaciona com as características clínicas, patológicas e de evolução dos pacientes. Foram avaliados 200 portadores de CDT (27 homens e 173 mulheres; 185 de tipo papilífero, 15 de tipo folicular) com média de idade de  $40.50 \pm 14.27$  anos, comparados com 200 controles com média de idade de  $38.88 \pm 13.12$  anos, pareados para sexo, idade e etnia. Todos os pacientes foram submetidos a um protocolo padrão de tratamento e foram seguidos por  $86.25 \pm 74$  meses, de acordo com os consensos nacionais e internacionais. Foi realizada análise genotípica do rs2069762 de IL2 através de TaqMan® SNP Genotyping. Encontramos menor frequência do genótipo alterado (CC+CA) nos portadores de CDT (24%) do que nos controles (30%;  $p=0.0340$ ). A herança do genótipo alterado de IL-2 do rs2069762 diminuiu o risco de um indivíduo desenvolver um CDT (OR= 0.6008; IC 95%: 0.3763 a 0.9592). O perfil genotípico IL-2 não demonstrou associação com fatores clínico-patológicos, incluindo: sexo ( $p=0.0711$ ), idade ( $p=0.4384$ ), etnia ( $p=0.6737$ ), tabagismo ( $p=0.1968$ ), classificação histológica ( $p=0.5932$ ), variante histológica ( $p=0.9172$ ), multifocalidade ( $p=1.0000$ ), presença de cápsula ( $p=0.6087$ ), tireoidite linfocítica crônica concomitante ( $p=0.4937$ ), metástase linfonodal ao diagnóstico ( $p=0.1799$ ), invasão extratireoidiana ( $p=1.0000$ ), estadiamento pTNM ( $p=0.7322$ ), metástase linfonodal no seguimento ( $p=0.6358$ ) ou com metástase à distância no seguimento ( $p=0.0870$ ). Em conclusão nossos dados mostram que o polimorfismo rs2069762 do IL-2 pode determinar menor risco de CDT, mas não parece útil como marcador de agressividade do tumor ao diagnóstico ou como indicador de evolução destes pacientes.

Palavras chave: nódulos tireoidianos, câncer, marcadores, interleucina 2

**(14.4) AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DOS MACRÓFAGOS M1 E M2 NA PARACOCCIDIOIDOMICOSE HUMANA.**

*Paiao, Munir Regini; De Castro, Livia Furquim; Oliveira, Romulo Tadeu; Mamoni, Ronei Luciano;*

Introdução e objetivos: Os macrófagos (MFs) são fagócitos que adquirem fenótipos distintos (M1 ou M2) dependendo do microambiente de diferenciação. O objetivo desse estudo foi avaliar a função de diferentes subtipos de MFs (M1 e M2) quando estimulados com células leveduriformes da cepa virulenta PB18 do fungo *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb), o agente etiológico da Paracoccidioidomicose humana (PCM).

Métodos e Resultados: Monócitos de doadores saudáveis foram purificados por seleção imunomagnética positiva e diferenciados com GM-CSF (50ng/mL) ou M-CSF (100ng/ml), durante 5 dias para apresentarem os fenótipos inflamatório (M1) ou anti-inflamatório (M2), respectivamente. Após a diferenciação completa, os MFs foram avaliados em relação à produção de NO (Óxido nítrico) e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, secreção de citocinas (IL-10 e TNF $\alpha$ ) e quanto à atividade fungicida e fagocítica contra células leveduriformes de Pb. Nossos resultados demonstraram que MFs M1 apresentam produção elevada de TNF $\alpha$ , H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e NO quando comparados aos MFs M2, que por sua vez apresentam maior produção de IL-10. MFs M2 também apresentaram maiores atividades fagocítica e fungicida quando comparadas aos MFs M1. Discussão e conclusões: Nossos resultados, embora preliminares, demonstram que os MFs M1/M2 podem contribuir para o equilíbrio da resposta pró/anti-inflamatória na resposta imune contra o fungo Pb. Apoio financeiro: CNPq e FAPESP

Palavras chave: Macrófagos M1 e M2, Atividade Fungicida, Resposta imune, IL10, TNF $\alpha$ , Fagocitose

**(14.5) A DOSAGEM SÉRICA DE IL-6R NÃO DISTINGUE MALIGNIDADE EM PACIENTES COM NÓDULOS TIREOIDIANOS NEM DIFERENCIA OS PACIENTES LIVRES DE DOENÇA DAQUELES COM DOENÇA ATIVA.**

*Meneghetti, Murilo ; Martins, Mariana Bonjorno; Marcello, Marjory Alana; Batista, Fernando de Assis; Peres, Karina Colombera; Etchebehere, Elba Cristina S; Ward, Laura Sterian;*

Nódulos de tireoide são bastante comuns, podendo ser diagnosticados em mais de 50% da população usando-se a ultrassonografia. No entanto, apenas 0,1% destes são câncer. Por outro lado, o Câncer Diferenciado da Tireoide (CDT) é a neoplasia endócrina mais comum e suas taxas de incidência vem crescendo pelo mundo. A interleucina 6 (IL-6) é uma citocina pleiotrópica, imuno-moduladora, com ação pró-inflamatória e endócrina que desempenha um papel central na hematopoiese, na diferenciação e no crescimento de inúmeras células. O receptor da IL-6 (IL-6R) é constituído por uma ligação em cadeia da IL-6 e por um componente indutor de sinal (gp130). Diversos trabalhos têm demonstrado uma forte associação entre as concentrações de IL-6R e a recidiva ou atividade de diferentes tipos de câncer.

Foi realizada a análise sérica por ELISA da IL-6R em 200 casos com CDT (100 com doença ativa, Tg>2ng/dL, evidencias de recorrência/metástase por imagem e 100 pacientes sem doença ativa), além de 100 indivíduos controles e de 60 pacientes com nódulos benignos, pareados para sexo, idade e etnia. Todos os pacientes foram tratados com um protocolo padrão e acompanhados por 86,25±74 meses.

A expressão de IL-6R foi maior nos pacientes que apresentaram metástase no diagnóstico (356.39±220.32 pg/ml) do que naqueles que não apresentavam (285.28±389.07 pg/ml; p=0.0301) e naqueles que não possuíam capsula (366.07 ±278.09 pg/ml) dos que possuíam (257.8±481.83 pg/ml; p=0.0310). A dosagem sérica de IL-6R também demonstrou uma maior média nos indivíduos acima de 45 anos (424.78±382.64 pg/ml) do que nos abaixo de 45 anos (333.76±343.49 pg/ml; p=0.0401).

Os pacientes com doença ativa apresentaram as seguintes dosagens de IL-6R (média: 793.81 pg/mL, mediana: 267.52 pg/mL), já os pacientes sem doença ativa (média: 409.82 pg/mL, mediana: 333.60 pg/mL), com nódulos benignos (média: 323.67 pg/mL, mediana: 291.13 pg/mL) e controles (média: 329.60 pg/mL, mediana: 326.94 pg/mL). A expressão de IL-6R não conseguiu diferenciar os pacientes com doença ativa de pacientes sem doença ativa (p=0.2006), assim como não pôde diferenciar os pacientes malignos dos controles (p=0.3331) e do grupo benigno (p=0.0577). Quando fragmentamos o grupo de CDT em Carcinoma Papilífero (CP) e Carcinoma Follicular (CF), também não foi possível diferenciá-los (p=0.2746). Dentro do grupo de malignos, não houve correlação das médias das dosagens quando ao tamanho do tumor (p=0.2746), com presença/ausência de multifocalidade do tumor (p=0.4435); presença/ausência de invasão (p=0.0804); presença/ausência de tireoidite (p=0.0811); presença/ausência de metástase no linfonodos (p=0.1746); presença/ausência de metástase a distancia (p=0.0922). Em conclusão a concentração sérica da IL-6R pode ter relação com resposta imunológica e contenção tumoral, mas não parece ser útil no diagnóstico de malignidade, nem no seguimento para pacientes com CDT e nem como marcador de prognóstico.

Palavras chave: Câncer de Tireoide, Interleucina, IL-6R.

**(14.6) ADVERSE REACTIONS AND CISPLATIN EXCRETION IN URINE OF PATIENTS WITH HEAD AND NECK CANCER UNDERGOING CHEMOTHERAPY.**

*Berlofa Visacri, Marília ; de Carvalho Pincinato, Eder ; Baldan Ferrari, Grazielle ; Costa Lourenço, Anna Paula ; Pimentel, Rafaela ; Taliani Tuan, Bruna ; Madeira de Souza, Cinthia ; de Fátima Lopes Ambrósio, Rosiane ; Gava Mazzola, Priscila ; Passos Lima, Carmen Silvia; Moriel, Patricia ;*

This study was designed to investigate the adverse reactions in patients with head and neck cancer undergoing chemotherapy and to study the urinary excretion of cisplatin. This was a prospective study (May 2011 to January 2013) conducted at the Clinical Oncology Department of a teaching hospital in the state of São Paulo (Hospital das Clínicas - UNICAMP). Outpatients with head and neck cancer received a first course of cisplatin chemotherapy (80 or 100 mg/m<sup>2</sup>) as therapy. Adverse reactions were classified based on severity (Common Toxicity Criteria v.4.0). Cisplatin excretion in urine was evaluated by HPLC in three periods: 0–12, 12–24, and 24–48h after administration of cisplatin. Results were statistically analyzed ( $p < 0.05$ ). Fifty-nine patients were analyzed (group 100 (100 mg/m<sup>2</sup>): n=41; group 80 (80 mg/m<sup>2</sup>): n=18). Their mean age was  $55.6 \pm 9.4$  years, most were male, white, accentuated smokers and drinkers, and had pharyngeal tumors in advanced stages. The most frequently observed adverse reactions were anemia (81.4%), lymphopenia (78.0%), nausea (64.4%), and change in creatinine clearance (63.2%), with a prevalence of grades 1 and 2. Patients from both groups had significant reductions in blood cell counts and creatinine clearance, with no difference between the groups in these parameters. However, the increase in serum creatinine was significant only for group 100. Regarding severity of reactions studied, only vomiting was statistically more severe in group 100. The amount of cisplatin excreted at 0–12, 12–24, and 24–48h in groups 100 and 80 was, respectively,  $6.7 \pm 5.3$  and  $7.7 \pm 8.5$ ,  $0.7 \pm 0.6$  and  $0.8 \pm 0.6$ , and  $0.5 \pm 0.3$  and  $0.5 \pm 0.3$  ng of cisplatin/mg creatinine. There was no difference between groups and the amount of excreted cisplatin did not influence the severity of adverse reactions. In conclusion, the period of highest cisplatin excretion was 0–12h after chemotherapy, the dose of chemotherapy did not influence the severity of adverse reactions (except for vomiting and creatinine) or the amount of cisplatin excreted, and the cisplatin excretion could not predict toxicity.

Palavras chave: Cisplatin, Adverse Reactions, Excretion, Urine, Head and Neck, Cancer

**(14.7) ROLE OF SCN1A GENE IN CHILDHOOD EPILEPTIC ENCEPHALOPATHIES.**

*SOLER, CAMILA VIEIRA; TERRA, MAIARA FERREIRA; GUERREIRO, MARILISA MANTOVANI; MONTENEGRO, MARIA AUGUSTA; GONSALES, MARINA COELHO; CENDES, ISCIA LOPES;*

**Purpose:** The main objective of this study is to determine the role of mutations in the SCN1A gene in patients with childhood epileptic encephalopathy (CEE). In addition we aim to establish genotype-phenotype correlation using multiple algorithms for the prediction of deleterious mutations.

**Introduction:** Childhood epileptic encephalopathies are severe brain disorders in which epileptic electrical discharges may contribute to progressive psychomotor dysfunction. It is believed that the epileptogenic brain activity during maturation is a major cause of regression or progressive deterioration in cognitive and neuropsychological development, causing cognitive, behavioral, and neurological intractable deficits that may lead to early death. One of the most relevant genes in the etiology of some forms of epilepsy is SCN1A, which encodes the alpha1- subunit of the neuronal voltage-dependent sodium channel. Mutations in this gene were identified in patients with the spectrum of generalized epilepsy with febrile seizures plus (GEFs+), especially in the more severe phenotype of the spectrum, Dravet syndrome. Indeed, studies conducted by our research group identified mutations in SCN1A in 81% of patients with Dravet syndrome. However, it is not clear whether mutations in SCN1A could also be present in other types of CEE, lacking the classical features of Dravet syndrome. **Material and methods:** Thirty-three consecutive patients with CEE were identified in our childhood epilepsy clinic. All patients were examined by the same group of child neurologists who established the clinical diagnosis of CEE based on current criteria. We performed extraction of genomic DNA from peripheral blood of all 33 patients with CEE. Subsequently, we screened for mutations in the SCN1A gene by amplifying the 26 exons of the gene, as well as its exon-intron boundaries using the polymerase chain reaction (PCR). Amplified fragments were subjected to Sanger sequencing using the genetic analyzer (ABI 3500xL). Sequences obtained from patients were compared to genetic database in Ensembl, using the DNABaser program, in order to identify possible deleterious changes. All sequence variants found were subjected to computer analysis to estimate the possible impact of nucleotide changes on protein function using the prediction softwares SNP&Go and Polyphen.

**Results and Discussion:** To date, we found a total of nine single base-pair changes in the SCN1A gene as well as one insertion mutation. These include five synonymous changes, three of them (c.1212> G, c.2292> C, c.4557G> A) which were previously described in SNP databases, and 2 (c.135C>T, c.4452T>C) which were newly identified in our study. In addition we found two missense changes which were not predicted to cause a significant impact on protein function, one (c.3199G>A) had been already described, and one is new (c.580G>T). Furthermore, we found three sequence changes which are predicted to impact protein function: two nucleotide changes leading to newly described missense mutations (c.4244T>C, c.4435A>T), and a new insertion of two base-pairs, which is predicted to lead to change in 58 amino-acids and to generate a premature STOP codon (c.1693\_1694InsTT). Two of the three patients with deleterious changes in SCN1A do not have the clinical presentation of Dravet syndrome. **Conclusions:** Given that three new potentially deleterious changes were found in the group of 33 patients with CEE, two of them with no clinical criteria for Dravet syndrome, we conclude that mutations in SCN1A are a relevant cause of CEE in our cohort and that these should be searched in all patients with CEE, even if they do not have the classical Dravet syndrome phenotype.

**Financial support:** CEPID-FAPESP and PIBIq-CNPq.

**Palavras chave:** Neurogenetics, epileptic encephalopathies, SCN1A gene

**(14.8) FATORES DE RISCO CLÍNICOS E RADIOLÓGICOS PARA O PIOR PROGNÓSTICO DA ENTEROCOLITE NECROSANTE EM RECÉM NASCIDOS.**

*Santos, Isabela Gusson Gal; Mezzacappa, Maria Aparecida Marques do; Alvares, Beatriz Regina;*

**RESUMO**

**Introdução:** A Enterocolite Necrosante (ENC) é uma inflamação severa do trato gastrointestinal que acomete principalmente recém-nascidos (RN) prematuros de baixo peso e que pode cursar com complicações e levar a óbito. Essa doença representa uma das principais causas de intervenção cirúrgica entre RN, sendo associada a elevadas taxas de mortalidade. Diante da suspeita clínica de ENC, é utilizada a radiografia simples de abdome como método de imagem para investigação e acompanhamento da enfermidade, uma vez que esse método possibilita a identificação tanto de sinais radiológicos patognomônicos quanto de complicações da doença. O objetivo desse estudo foi determinar variáveis clínicas e radiológicas para as evoluções de complicações (perfuração e estenose intestinal) e de óbito decorrentes da ENC, em RN atendidos na Unidade de Tratamento Intensivo (UTI) Neonatal, bem como descrever a população estudada. **Sujeitos e Métodos:** Foram analisados, retrospectivamente, os exames radiológicos e os prontuários médicos de uma amostra de 57 RN com ENC atendidos na UTI Neonatal de um hospital-escola, entre os anos de 1997 e 2012, e que apresentaram nos exames radiológicos pneumatose intestinal, associada ou não a ar no sistema porta. Foram excluídos desse estudo os RN que apresentaram apenas distensão intestinal nos exames radiológicos, muito embora tenham sido tratados como ENC. Os exames radiológicos foram revisados por um profissional com experiência em radiologia neonatal e a análise do presente trabalho foi baseada nos laudos elaborados por ele. A associação dos dados coletados foi avaliada através dos testes Qui-quadrado, Mann-Whitney e análise de regressão logística com nível de significância inferior a 5%. **Resultados:** Dentre os 57 casos analisados, 82,5% eram RN Pré Termo e 87,7% tiveram baixo peso ao nascer. 9 casos (15,8%) apresentaram pneumatose localizada simultaneamente nos intestinos grosso e delgado e 10,5% (n=6) apresentaram ar no sistema porta durante a evolução da doença. 24,6% (n=14) dos RN evoluíram com perfuração de alças intestinais, 22,8% (n=13) evoluíram com estenose e 17,5% (n=10) foram a óbito. As análises estatísticas indicaram como significativas a associação entre longos períodos de ventilação mecânica e ocorrência de óbito ( $p=0,01$ ), bem como entre a perfuração de alças e a ocorrência de óbitos ( $p=0,01$ ). Foi identificada também associação entre a localização da pneumatose nos intestinos grosso e delgado com maior ocorrência de óbito ( $p=0,005$  e  $OR=10,75$ ) e entre a presença de ar no sistema porta com taxas de mortalidade mais elevadas ( $p<0,001$  e  $OR=201,38$ ). **Conclusão:** O presente estudo apontou que há associação entre as características clínicas e os sinais radiológicos apresentados durante a evolução da ENC com o desfecho da doença, com destaque para longos períodos de ventilação mecânica, localização da pneumatose intestinal (nos intestinos grosso e delgado) e presença de ar no sistema porta, que se mostraram associados ao desfecho de óbito. Essas informações podem contribuir para a elaboração de protocolos de atendimento mais direcionados aos RN com ENC nas UTIs neonatais.

**Palavras chave:** Enterocolite Necrosante, Recém-Nascido, Exame Radiológico

**(14.9) POLIMORFISMOS NO GENE LEP E LEPR PODEM AUMENTAR O RISCO PARA O CARCINOMA DIFERENCIADO DA TIREOIDE.**

*Colombera Peres, Karina ; Marcello, Marjory Alana; Martins de Almeida, Jacqueline Fátima; Leite Cunha, Lucas ; Sá de Camargo Etchebehere, Elba Cristina; Montali da Assumpção, Ligia Vera; Sterian Ward, Laura ;*

O câncer diferenciado da tireoide (CDT) vem aumentando em incidência com o decorrer dos anos. Paralelamente, acompanhamos o crescimento da obesidade, a qual nosso grupo já demonstrou estar associada ao CDT. Os adipócitos quando em excesso podem produzir um desbalanço na secreção de adipocinas, grupo ao qual pertence a leptina, responsável pela regulação do peso corporal, através da redução da ingestão alimentar e aumento do gasto energético, além de desempenhar funções relacionadas ao sistema imunológico. O objetivo deste trabalho foi estudar a relação de polimorfismos (rs7799039 e rs2167270) no gene da leptina (LEP) com o risco para o CDT e suas características clínicas. Usando o TaqMan® SNP Genotyping, genotipamos 142 pacientes portadores de CDT pareados para sexo, idade e etnia com 142 indivíduos saudáveis. Os dados obtidos foram cruzados com as dosagens de leptina sérica e os dados clinicopatológicos dos pacientes com CDT. Portadores do genótipo AA de rs7799039 apresentavam níveis médios menos elevados (9,22+0,98 ng/ml) de LEP sérica do que os portadores de AG (10,07+0,60 ng/ml; p=0,005). Quanto aos genótipos do SNP rs2167270, observamos que indivíduos com genótipo AG produziam níveis séricos de LEP mais elevados (10,05+0,59 ng/ml) que os indivíduos de genótipo GG (9,52+0,79 ng/ml, p<0.05). Análise de regressão logística múltipla ajustada para sexo, idade, etnia, tabagismo e IMC mostrou que a herança do genótipo AG de rs7799039 representou um risco independente para CDT (OR=11,689; p=0,0183; IC95%= 1,516-90,119). Da mesma forma, os genótipos AG e GG de LEPR (rs1137101) aumentaram a susceptibilidade para CDT (OR=3,747; p=0,027; IC95%= 1,161-12,092 e OR=5,437; p=0,013; IC95%= 1,426-20,729, respectivamente). A análise de sobrevida não mostrou associação entre tempo livre de doença e nenhum dos genes estudados. Concluindo, os polimorfismos de rs7799039 e rs2167270 podem alterar a concentração sérica da leptina nos pacientes com CDT. Além disso, a herança de polimorfismos de rs7799039 e rs1137101 pode aumentar o risco de desenvolvimento do CDT embora não pareça se correlacionar com a agressividade tumoral.

Palavras chave: câncer diferenciado da tireoide, adipocinas, leptina, polimorfismos.

**(14.10) CONSTRUCTION AND VALIDATION OF A NEXT-GENERATION SEQUENCING -PANEL TO INVESTIGATE MUTATIONS IN PATIENTS WITH DRAVET SYNDROME AND OTHER CHILDHOOD EPILEPTIC ENCEPHALOPATHIES.**

MAIARA FERREIRA TERRA<sup>1</sup>, CAMILA VIEIRA SOLER<sup>1</sup>, MARILISA MANTOVANI GUERREIRO<sup>2</sup>, MARIA AUGUSTA MONTENEGRO<sup>2</sup>, MARINA COELHO GONSALES<sup>1</sup>, FABIO ROSSI TORRES<sup>1</sup>, ISCIA LOPES-CENDES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Genetics; <sup>2</sup> Department of Neurology; and The Brazilian Institute of Neuroscience and Neurotechnology (BRAINN), School of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP, SP, BRAZIL

**Purpose:** The main objective of this study is to construct and validate a gene-panel to be used for molecular diagnosis in patients with Dravet syndrome and other types of childhood epileptic encephalopathies (CEE) using next-generation sequencing technology. **Introduction:** Epilepsy is characterized as a neurological disease related with cerebral dysfunctions due to abnormal and excessive electrical discharges of neuronal cells, affecting both children and adults. Among the epilepsies starting in childhood the epileptic encephalopathies cause a significant burden, since it is believed that the epileptogenic brain activity during brain maturation is a major cause of regression or progressive deterioration in cognitive and neuropsychological development, causing cognitive, behavioral, and neurological intractable deficits that may lead to early death. One specific form of CEE is Dravet syndrome, which is also considered the most severe form within the clinical spectrum of generalized epilepsy with febrile seizure plus (GEFS+). One of the most relevant genes playing a role in the etiology of epilepsy is SCN1A, which encodes the alpha1- subunit of the neuronal voltage-dependent sodium channel. Indeed, studies conducted by our research group identified mutations in SCN1A in 81% of patients with Dravet syndrome. More recently, rare mutations in additional genes have been identified in different forms of CEE in a few studies. Therefore, in order to contribute to improve the molecular diagnosis in CEE we set-up to develop and validate a panel for mutation detection using next-generation sequencing technology in CEE.

**Material and methods:** The gene-panel design was conducted using the software SureDesign from Agilent and the HaloPlex capturing kit. We included capture-probes for the following genes: SCN1A, GABRG2, SCN1B, PCDH19, CHD2 and SCN2A. For SCN1A we were particularly careful to include probes capturing the entire genomic sequence, in order to be able to also evaluate structural changes within SCN1A, since these have been described in a few patients with Dravet syndrome. In addition, in order to validate our panel we have available DNA samples from 70 patients with CEE which have been previously evaluated clinically and tested for mutations in SCN1A using traditional Sanger sequencing. **Results and Discussion:** We have successfully constructed and performed an initial in silico validation of the CEE-gene panel. In addition, Sanger sequence showed a total of 21 potentially SCN1A deleterious mutations among our cohort of CEE patients (30%), suggesting that mutation in additional genes are indeed present in CEE. The next step is to use the CEE-gene panel to capture the regions of interest in the six genes included (SCN1A, GABRG2, SCN1B, PCDH19, CHD2 and SCN2A). **Conclusion:** Although Sanger sequencing has been the 'gold standard' to identify potential deleterious sequencing variants which cause many single gene disorders, it is a expensive and time consuming technology. With the development of next-generation sequence methods we hope that molecular diagnoses will become more widely available to patients.

**Financial support:** CEPID-FAPESP and PIBIQ-CNPq.

**Key-words:** Epilepsy, Dravet syndrome, next-generation sequencing gene panel, SCN1A gene

**Palavras chave:** Epilepsy, Dravet syndrome, next-generation sequencing gene panel, SCN1A gene

**(14.11) SEQUENCE VARIANT IN THE ITGA9 GENE AS A RISK FACTOR FOR DEPRESSION IN PATIENTS WITH MESIAL TEMPORAL LOBE EPILEPSY.**

*Donatti, Amanda ; Secolin, Rodrigo ; Santos, Marilza L; Nogueira, Mateus H; Cendes, Fernando ; Lopes-Cendes, Iscia ;*

Introduction: Mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) is the most common type of temporal lobe epilepsy in adults. Most patients with MTLE manifest major depression symptoms. Recently, studies show that brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels may be related to major depression. We have previously found an association between a single nucleotide polymorphism (SNP) rs166508 and bipolar disorder. This SNP is located within the integrin alpha 9 gene (ITGA9) and the rs166508\*AA genotype is associated with increased expression of ITGA9 transcripts. Since  $\alpha 9\beta 1$  integrin has been reported as a BDNF receptor, one hypothesis is that increased expression of ITGA9 leads to an increased availability of the  $\alpha 9\beta 1$  integrin on the cell membrane, which may lead to increased BDNF binding, thus, decreasing its availability. Indeed, decreased BDNF levels have been observed consistently in the serum of patients with bipolar disorder, major depression and epilepsy. Objective: To evaluate whether the SNP rs166508 is associated with increased risk of depression in patients with MTLE. Methodology: We analyzed DNA sample from peripheral blood of 77 patients with MTLE diagnosed according to the ILAE criteria, including 36 with depression and 41 without depression, classified according to DSM-IV criteria. The SNP rs166508 was genotyped using a 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystem). Hardy-Weinberg disequilibrium and genotype frequencies were estimated using HAPLOVIEW software. Genetic association analysis was performed using logistic regression in R software. Statistical power was evaluated by the GPOWER software using the following parameters: two-tail; Odds Ratio = 1.5; significance level  $\alpha = 0.05$ ; power  $1-\beta = 0.8$ . Results: Allele frequencies observed for rs166508\*G and rs166508\*A were 56.5% and 43.5%, respectively. In addition, rs166508 did not show Hardy-Weinberg disequilibrium ( $p=0.999$ ). Logistic regression results did not show statistically significant association for rs166508\*AA genotype with the presence of depression ( $p = 0.7879$ ). However, statistical power analysis revealed that we would need 308 individuals with MTLE, including 154 with depression and 154 without depression to be able to detect an association using the parameters described above. Conclusion: To date, our results could not confirm association between SNP rs166508 and major depression in patients with MTLE. However, power analysis clearly shows that our study is underpowered to identify differences in allele frequencies even if they exist. We have already collected additional samples (total of 322 patients with MTLE) and are waiting for the neuropsychological evaluation to be finished in order to increase the number of samples analyzed.

Supported by: CNPq and FAPESP

Palavras chave: Epilepsy, BDNF, SNP

**(14.12) OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA DESENCADEIA ESTRESSE DO RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO E RESISTÊNCIA À INSULINA EM AMÍGDALA DE RATOS.**

*Castro, Gisele ; Weissmann, Laís ; Quaresma, Paula ; Katashima , Carlos ; Saad, Májrrio Jose Abdalla; Prada, Patrícia Oliveira;*

A obesidade é uma doença caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal, acarretando diversas alterações metabólicas. Estas alterações influenciam o controle do balanço energético. O hipotálamo é considerado o órgão chave para o controle do balanço energético e recebe informações da periferia por meio de nutrientes, sinais neurais e hormônios. Dentre estes hormônios, a insulina participa do controle da ingestão alimentar, tendo efeitos anorexigênicos. Esta regulação ocorre pela ativação de sua via de sinalização IR/PI3q/Akt. Portanto, seria interessante investigar se os mesmos eventos de sinalização insulínica também ocorrem na amígdala e se esta sinalização está envolvida na regulação da ingestão alimentar. Nesse sentido, o primeiro objetivo do presente estudo é investigar a expressão e grau de fosforilação das proteínas da via de sinalização de insulina, assim como a modulação da ingestão alimentar após estímulo com insulina na região da amígdala em animais controles. De forma complementar, o segundo objetivo do estudo é investigar se o bloqueio farmacológico da via da PI3q, com LY24002, na amígdala altera a resposta à insulina quanto à ingestão alimentar e sinalização intracelular de insulina de animais controles. O terceiro objetivo é investigar se a insulina, através da via PI3q modula a expressão de neuropeptídeos orexigênicos e anorexigênicos em animais controles. Em animais obesos ocorre uma menor ativação desta via como consequência ao estresse do retículo endoplasmático e ativação de proteínas da via inflamatória. Dessa forma, o quinto objetivo do trabalho foi investigar a obesidade induzida por dieta altera a via inflamatória e induz estresse de RE em amígdala de ratos. Em adição, o sexto objetivo do trabalho foi investigar se a inibição do estresse do retículo endoplasmático, com PBA (ácido fenil butírico), reverte à resistência à insulina na amígdala de animais obesos. No presente estudo destacamos a amígdala como uma importante região do sistema nervoso central envolvida na regulação da ingestão alimentar em resposta à insulina. Essa regulação foi dependente da ativação da via PI3q, pois a injeção de LY aboliu os efeitos da insulina no controle da ingestão. A insulina diminuiu os níveis de RNAm do neuropeptídeo orexigênico NPY e aumentou os níveis do RNAm do neuropeptídeo anorexigênico ocitocina na amígdala de animais controles via PI3q, o que pode ter contribuído para a hipofagia. Além disso, em animais obesos não houve redução na ingestão alimentar em resposta a insulina e a fosforilação da Akt foi diminuída na amígdala, sugerindo resistência à insulina nessa região do sistema nervoso central. A resistência à insulina foi associada com o estresse do retículo endoplasmático e inflamação na região da amígdala. A inibição do estresse do retículo endoplasmático com PBA, inibidor do estresse de retículo, reverteu a ação e sinalização da insulina, diminuindo a expressão do RNAm do NPY e aumentando a expressão do RNAm da ocitocina na amígdala de animais obesos. Em conjunto, os resultados sugerem que a amígdala é sensível a ação anorexigênica da insulina, sendo este efeito dependente da via PI3q. A ação da insulina na amígdala provavelmente modula a ingestão por alterar os níveis de neuropeptídeos como NPY e ocitocina. Animais obesos apresentam resistência à ação e sinalização da insulina em amígdala. O mecanismo molecular pelo qual ocorre resistência à insulina parece estar relacionado à ativação da via inflamatória e ao estresse de retículo endoplasmático.

Palavras chave: insulina, amígdala, obesidade, inflamação, estresse do retículo endoplasmático.

**(14.13) ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DO INFLAMASSOMA NLRP3 NA RESPOSTA INFLAMATÓRIA INDUZIDA PELO FUNGO DIMÓRFICO PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS.**

*de Castro, Livia Furquim ; Longhi, Larissa N. A.; Ferreira, Maria Carolina; da Silva, Rosiane Maria ; Paião, Munir Regini ; Mamoni, Ronei Luciano;*

**INTRODUÇÃO:** No Brasil, dentre as micoses sistêmicas, a paracoccidioidomicose (PCM), causada pelo fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis*, é a mais importante entre os indivíduos imunocompetentes. Os estudos sobre a resposta imunológica contra essa infecção ainda são escassos, principalmente no que diz respeito aos eventos iniciais. Diversos estudos demonstraram que a resposta inflamatória é de extrema importância para o controle de doenças causadas por fungos, contudo, a sua exacerbação leva a danos teciduais e desequilíbrio da resposta imunológica. A resposta inflamatória é iniciada pelo reconhecimento das células fúngicas por receptores expressos por células do sistema imunológico inato. Recentemente, foi descrito uma nova família de receptores, Receptores do Tipo NOD (NLRs), envolvidos no reconhecimento de Padrões Moleculares Associados a Pátógenos (PAMPs) e sinais de estresse produzidos durante a infecção ou dano celular (DAMPs). Alguns NLRs participam da formação de um complexo multiproteico denominado inflamassoma, o qual ativa a caspase-1, que é responsável pela produção das formas ativas de duas importantes citocinas inflamatórias: a IL-1beta e a IL-18. Dentre os NLRs, o NLRP3 foi associado ao reconhecimento de fungos patogênicos como a *Candida albicans* e o *Aspergillus fumigatus* em modelos experimentais, atuando em conjunto com o TLR2 e a dectina-1. Contudo, na PCM, o papel desses receptores não está totalmente elucidado. **OBJETIVOS:** Nosso estudo tem por objetivo investigar o envolvimento do NLRP3 na ativação da resposta inflamatória de Macrófagos e Células Dendríticas (DCs) humanas derivadas de monócitos em resposta ao *P. brasiliensis* e determinar de que maneira esses receptores influenciam no desenvolvimento da resposta adaptativa. **RESULTADOS/MÉTODOS:** Nossos resultados demonstraram que lesões de pacientes com PCM (mucosa oral ou linfonodos) apresentam grande produção de IL-1beta, IL-18 e que Macrófagos dessas lesões são positivos para Caspase-1 e NLRP3. Também observamos que Macrófagos ou DCs derivadas de monócitos quando estimulados com células leveduriformes de *P. brasiliensis* por 3 horas aumentam a expressão do RNAm para IL-1beta, Caspase-1, NLRP3 e TNF- $\alpha$ . Para confirmar esses resultados, realizamos dosagens de citocinas (por ELISA) no sobrenadante de cultura de Macrófagos e DCs estimulados com o fungo (6 horas), na presença de inibidor específico de caspase-1 (Z-WEHD-FMK). Os dados obtidos demonstraram que tanto Macrófagos quanto DCs produzem e secretam IL-1beta e IL-18 após o estímulo, e que essa produção é dependente de caspase-1, uma vez que a sua inibição levou a uma diminuição na produção dessas citocinas. Também realizamos experimentos para avaliar o papel da dectina-1 na indução da ativação do NLRP3, por meio da análise por Western-blotting da fosforilação da proteína Syk (proteína importante para sinalização intracelular após ativação da dectina-1). Nossos resultados demonstram que o estímulo de DCs com leveduras de *P. brasiliensis* levam à fosforilação da proteína Syk, e que a presença do inibidor de dectina-1 (laminarina) bloqueia essa fosforilação. **CONCLUSÕES:** Nossos resultados, embora preliminares, demonstram que o reconhecimento de células leveduriformes de *P. brasiliensis* por Macrófagos e DCs envolve a participação do NLRP3, a ativação do inflamassoma e consequentemente a produção das formas biologicamente ativas da IL-1beta e da IL-18. Em conjunto essas citocinas poderiam induzir uma resposta inflamatória ao *P. brasiliensis*, importante para o estabelecimento da resposta imunológica inicial a esse patógeno.

**Palavras chave:** *Paracoccidioides brasiliensis*, Inflamassoma, NLRP3, Interleucina-1 beta, Interleucina-18.

**(14.14) PERCEPÇÃO DOS PAIS SOBRE O DESENVOLVIMENTO COMUNICATIVO DA CRIANÇA SURDA USUÁRIA DE IMPLANTE COCLEAR.**

*Oliveira, Camila de; Lima, Maria Cecília M;*

Com o surgimento dos programas de triagem auditiva neonatal, o diagnóstico da surdez e o encaminhamento para reabilitação vêm ocorrendo de forma cada vez mais precoce e com isso, pode-se identificar as crianças que não se beneficiam com o uso dos aparelhos de amplificação sonora individual. Nesses casos, há uma outra alternativa na reabilitação da criança surda: o Implante Coclear. O objetivo do presente estudo foi analisar a percepção dos pais sobre o desenvolvimento comunicativo, educacional e social da criança surda usuária de implante coclear, após cinco anos da cirurgia. Os sujeitos participantes deste trabalho foram 14 pais ouvintes (pai/ mãe) de crianças que realizaram a cirurgia de implante coclear em um hospital público. Para a seleção dos participantes foram consideradas as crianças com surdez pré-lingual, que realizaram a cirurgia do implante coclear até cinco anos de idade e utilizam o dispositivo por pelo menos cinco anos. Trata-se de uma pesquisa de caráter qualitativo, utilizando-se entrevista semi-estruturada com os pais, para coleta de dados. Posteriormente, realizou-se análise de conteúdo dos dados e elaboração de quatro categorias com as seguintes temáticas: Comunicação da criança com implante coclear; Desenvolvimento educacional; Contribuição do implante coclear para o desenvolvimento da criança; Expectativas e Realidades. Na discussão dos dados, observou-se que a maioria dos pais relata que no ambiente familiar, na escola e com os amigos, a comunicação ocorre exclusivamente pela linguagem oral, sendo que a criança se faz entender e é entendida por todos os membros familiares. Quanto ao desempenho escolar, parte das crianças apresenta dificuldade com a Língua Portuguesa, especificamente na interpretação de textos. Por fim, todos os pais relataram acreditar que houve contribuição do implante coclear como fator principal para o desenvolvimento geral da criança. Conclui-se que os pais entrevistados estão satisfeitos com os resultados a longo prazo, obtidos por meio do implante coclear, percebendo benefícios no âmbito da comunicação, educação e socialização da criança, sendo que todos os pais pareceram perceber que o sucesso na reabilitação é multifatorial, envolvendo a idade precoce de implantação, a motivação da família, terapia fonoaudiológica, dentre outros.

Palavras chave: Implante coclear, pais, comunicação, desenvolvimento social.

**(14.15) PROPOSTA DE IMPLEMENTAÇÃO DE UM PROGRAMA DE AÇÕES PREVENTIVAS EM FONOAUDIOLOGIA EM AMBULATÓRIO DE PEDIATRIA EM UM HOSPITAL TERCIÁRIO.**

*Barrem, Maria José de Souza; Reyes, Neuza Maria Nascimento;*

A mudança no conceito de saúde promoveu reformulações no modelo de atenção à saúde e nos serviços públicos. Com a criação do Sistema Único de Saúde (SUS), uma nova organização de atenção foi instaurada, democratizando as informações à população para conhecer seus direitos e riscos à saúde. A atuação do fonoaudiólogo em hospitais iniciou-se na década de 1980 e, atualmente, sua prática na área hospitalar vem crescendo gradativamente, tornando necessária a conscientização de equipes multidisciplinares sobre a atuação fonoaudiológica. O presente estudo teve como objetivos a implementação de um programa de prevenção e promoção de saúde fonoaudiológica em hospital terciário, com ações de educação em saúde fonoaudiológica, possibilitando maior visibilidade sobre a atuação do fonoaudiólogo dentro de um serviço de alta complexidade. Esta pesquisa de caráter quanti-qualitativa seguiu as técnicas propostas pelo método de pesquisa-ação. Uma amostra de 50 pacientes, acompanhados no Ambulatório de Pediatria do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, sem alterações neurológicas ou síndromes genéticas, com idade de 0 a 15 anos e de ambos os gêneros, foi selecionada para aplicação de questionário aos responsáveis. Posteriormente, foi realizada análise estatística descritiva dos dados, para identificação da incidência dos achados fonoaudiológicos, realizadas orientações aos responsáveis e encaminhamentos. Os dados levantados evidenciaram que os achados fonoaudiológicos mais frequentes foram os sugestivos de: presença de hábitos deletérios (25,8%), alterações de oclusão (24,2%), respiração oral ou mista (23,3%), alterações auditivas (9,2%), disfagia (5%), abuso vocal (5%), alterações de leitura-escrita (3,3%), trocas na fala (3,3%) e atraso na fala (0,8%). Em todos os casos foram realizadas orientações e, 11 sujeitos foram encaminhados para serviços de fonoaudiologia disponíveis na rede pública de saúde. Reconhecendo o impacto dos hábitos deletérios orais e sua incidência dentro do ambulatório, optou-se pela elaboração de folder educativo, sobre mamadeiras e bicos para ser distribuído aos responsáveis. Com a realização da pesquisa foi possível concluir que os responsáveis, dos sujeitos acompanhados no Ambulatório de Pediatria do HC-UNICAMP, apresentam carência de informações sobre aspectos fonoaudiológicos, sendo assim, este configura-se como um espaço propício para realização de ações preventivas e educação em saúde destes aspectos. Para tanto, a formação do profissional em deve favorecer a identificação de demandas ou necessidades do coletivo e adequar suas ações à realidade do território de atuação. Finalmente pôde-se concluir que, com as discussões promovidas junto à equipe médica, foi possível apresentar as diversas áreas da Fonoaudiologia evidenciando a atuação fonoaudiológica junto às equipes de saúde de um hospital de alta complexidade.

Palavras chave: Saúde Coletiva, Fonoaudiologia, Pediatria.

**(14.16) PERFIL EPIDEMIOLÓGICO, CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, SEGURANÇA E EFICÁCIA RELACIONADA AO USO DA COLISTINA NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES.**

*Lloret, Gustavo Rafaini; Moriel, Patrícia ; Mazzola, Priscila Gava; Falcão, Antonio Luis Eiras;*

O emergente crescimento dos casos de infecções nosocomiais causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes tem se tornado um dos maiores desafios da medicina atual. Este cenário é ainda mais alarmante dentro das Unidades de Terapia Intensiva (UTI), onde as infecções causadas por estes patógenos são, frequentemente, associadas a uma maior mortalidade. A atual escassez de agentes antimicrobianos disponíveis no mercado, agravada pela não expectativa do desenvolvimento de novos medicamentos nos próximos anos, culminou com a reintrodução do uso das polimixinas, especialmente, a colistina. Por conta disto, nós realizamos um estudo retrospectivo observacional, com o intuito de avaliar o impacto clínico da utilização da colistina, no tratamento de infecções em pacientes internados nas UTI do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, durante o período de 18 meses (02/12 – 08/13). Um total de 99 pacientes foi incluído no estudo, sendo que destes, 94 (94,9%) apresentaram exame de cultura positivo para ao menos um microorganismo, representando 141 diferentes culturas isoladas. Secreção traqueal foi a amostra clínica mais frequente, correspondendo a 45,4% dos casos, seguido por sangue e urina com 22,7% e 13,5%, respectivamente. Infecções causadas por *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* foram as mais frequentes, acometendo respectivamente, 37,4% e 23,3% dos pacientes. Nefrotoxicidade foi relatada em 18,2% dos casos, sendo que a dose total administrada ao longo do tratamento foi superior nos pacientes que apresentaram comprometimento renal importante, quando comparado com os demais pacientes. A mortalidade de 30 dias observada no estudo foi de 34 pacientes (34,6%). Em apenas 54,5% dos casos houve comprovação da sensibilidade bacteriana à polimixina, sendo que neste grupo, a sobrevida observada foi de 70,4%. Os pacientes que evoluíram com sobrevida foram submetidos a doses diárias de colistina superior à aqueles que vieram à óbito. A colistina apresentou grande sensibilidade frente a todos os agentes testados, especialmente, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, com 100% de sensibilidade. Resistência a diversos antibióticos foi observada, no entanto, destaca-se a elevada resistência da *Acinetobacter baumannii* frente a praticamente todos antibióticos testados, com exceção das polimixinas e, em menor escala, gentamicina e ampicacina. A colistina demonstrou possuir uma efetividade importante e uma nefrotoxicidade aceitável no tratamento de infecções causadas por cepas multirresistentes. Neste estudo, a utilização de doses diárias mais elevadas de colistina foi associada a uma maior efetividade sem que houvesse aumento do prejuízo renal, no entanto, maiores informações quanto ao melhor regime terapêutico se fazem necessárias para otimização do tratamento.

Palavras chave: Colistina, Farmacorresistência Bacteriana , Análise de Sobrevida, Nefropatia

**(14.17) CARYOCAR BRASILIENSE SUPERCRITICAL CO2 EXTRACT POSSESSES ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES USEFUL FOR PERSONAL CARE PRODUCTS.**

*Amaral, Lilian F. B.; Moriel, Patrícia ; Foglio, Mary Ann; Mazzola, Priscila G.;*

Background: The cosmetic and pharmaceutical industries have an increasing interest in replacing synthetic antimicrobials in dermatological products due to increased microbial resistance to conventional antimicrobial agents. Pequi (*Caryocar brasiliense*) is a native fruit tree of the Brazilian Cerrado, specifically used in cosmetics, in the food industry, and for medicinal purposes. Leishmanicidal and antifungal activities have been reported previously. This study was designed to evaluate the antimicrobial and antioxidant activities of a *C. brasiliense* extract obtained by supercritical CO<sub>2</sub> extraction.

Methods: The minimum inhibitory concentrations (MICs) against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* were determined by the classical microdilution method. Antiseptic activity against these organisms was evaluated by the plate diffusion method. The antioxidant potential of the extract was evaluated using a method based on the oxidation of 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS). The extract's chemical profile was analyzed for the presence of alkaloids, saponins, anthraquinones, steroids, tannins, flavonoids, and phenolic compounds according to standard colorimetric methods.

Results: The *C. brasiliense* supercritical CO<sub>2</sub> extract exhibits antimicrobial activity against all bacteria tested. It also possesses antioxidant activity, when compared to a vitamin E standard.

Conclusions: The *C. brasiliense* supercritical CO<sub>2</sub> extract may be useful for the development of personal care products, primarily for antiseptic skin products that inactivate, reduce, prevent, or arrest the growth of microorganisms with the inherent intent to mitigate or prevent disease as well as products that minimize damage caused by free radicals.

Palavras chave: Pequi, Supercritical CO<sub>2</sub> extraction, Antimicrobial activity, Antioxidant activity

**(14.18) A TOOL FOR HIGH THROUGHPUT SEQUENCING DATA QUALITY CONTROL.**

*Souza, Welliton ; Carvalho, Benilton ; Cendes, Iscia Lopes;*

Next Generation Sequencing has become the standard tool in biomedical sciences to investigate the association of genetic and epigenetic markers and phenotypes of interest. With this approach, millions of small fragments (about 100 bases) are simultaneously sequenced. These sequenced fragments are also known as reads and the sequencing process assigns quality scores to every sequenced base. Lower quality scores are often associated to issues during the base-calling process and the inclusion of such bases in the downstream analyses may negatively affect the results. Therefore, identifying such reads is one important task in the data analysis workflow. We developed the Rqc package, based on the R statistical environment, to address this issue. In summary, the package is an optimized tool designed for quality control and assessment of high-throughput sequencing data. The quality control step uses raw data delivered as FastQ files. We use statistical procedures to describe and assess the quality of the reads through data summarization, GC content distribution across base position, distribution of read lengths and sequence content analysis. We use high resolution graphical representations to show these results to the final user. Because it fully supports the FastQ standard format (compressed or not), Rqc is technology-independent, despite the differences between sequencing technologies. The package can handle multiple input files using high-performance computing solutions. It produces an easy to view report, which can be modified and distributed (web format, HTML). The Rqc package has been used to analyze the quality of the data produced by our group and also tested with public data from other research groups. We compared the results with those produced by FastQC and both produced similar outcomes. However, Rqc allows for greater flexibility, including its capability to be transparently incorporated to pipelines within the R/Bioconductor ecosystem. This is a work in progress and we are currently investigating additional functionalities to be added to the software.

Palavras chave: NGS, preprocessing, quality control, software, high-performance computing

**(14.19) FATHER OF ADOLESCENT GIRLS WITH ANOREXIA NERVOSA OR BULIMIA: A QUALITATIVE STUDY ABOUT THEIR LIFE EVENTS AND EMOTIONAL EXPERIENCES.**

*Garcia Junior, Celso ; Seidinger, Flavia Machado; Turato, Egberto Ribeiro;*

**BACKGROUND:** Eating disorders (ED) are severe psychiatric disorders affecting mainly teenage girls and young women. There is evidence that family aspects play an important role in the etiology of ED and influence treatment outcome. Most researches in this field focus on mother, neglecting father figure. Emotional characteristics and life experiences of these men remain little studied. Low persistence was considered the most common personality trait among the fathers of all eating-disordered subtype patients. Fathers of anorectic women were described as poorly persistent, reward dependent, and poorly self-directive. FASSINO et al (2002, 2003, 2009) concluded that fathers of restrictor anorexics are highly harm avoidant. Fathers reported elevated rates of obsessive-compulsive symptomology, symptoms of depression hostility and anxiety as compared to non-patient norms and general prevalence rates of these disorders and higher levels of hostility were correlated with a longer duration of illness in their children. COTEE-LANE et al (2004) found that fathers struggle to get control back over the family relationship avoiding that anorexic voice gets between them and their wives. According to WHITNEY (2005) fathers blame themselves, questioning aspects of their daughter's upbringing and what could have been done differently to prevent the illness. They tended to express great affection towards their daughters, showed concern regarding their physical health and tend to feel angry at the stigma associated with ED. No study focused the father through his life experiences. Therefore, this field remains poorly explored by qualitative researchers.**OBJECTIVES:** The aim of the study was to understand the emotional experiences and life events of the father of adolescent girls diagnosed with anorexia nervosa or bulimia. **METHOD:** Qualitative in-depth interviews were carried out with 12 men, fathers of adolescent girls diagnosed with anorexia nervosa or bulimia according to DSM IV criteria. All patients were in outpatient treatment at the Eating Disorders Clinical and Research Program (GETA) of State University of Campinas, Brazil, between January 2011 and July 2013. The procedures consisted of audio recording and literal transcription of the data, also reading the records from the Field Diary. The data was submitted to qualitative analysis regarding categories of content, and the interpretation of results drew upon multiple database review studies. **RESULTS:** Twelve men aged between 35 and 58 years old composed the sample. Eight of them were born in the countryside and worked on the farm from childhood to late adolescence or adulthood, when they migrated to urban areas in search of employment and better living conditions. At the time the interviews were conducted all of them were employed. Only two were divorced the patient's mother and were not living with their daughters. The Interviews qualitative analysis yield eight categories of content. **CONCLUSION:** Contrary to what clinicians often hear from the mothers of ED patients, fathers were concerned about their daughters' health, wished to see them overcome ED and were well informed about the disorder. Participants showed a strong sense of family and talk about the role of father as a dream that came true. Their explosive temper, alcohol and drug misuse and ED itself maybe are related to a feeling of guilty and powerlessness. The findings may contribute to understand life experiences and emotional characteristics of fathers of ED adolescents and this may help to keep them motivated to the treatment. This understanding can contribute to therapists to help fathers to regain their ability to care for their daughters, getting close to them again and improving father-daughter relationship.

**Palavras chave:** anorexia nervosa, bulimia nervosa, eating disorders, qualitative research, father-child relationship, psychological meanings

**(14.20) A AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DE C-MET E DE STAT3 NA DIFERENCIAÇÃO DE TIPOS HISTOLÓGICOS DO CÂNCER DE TIREOIDE.**

*Marques, Ana Beatriz Zavan; Rocha, Angélica Gomes; Campos, Antonio Hugo ; Bufalo, Natassia Elena; Silva, Aline Carolina d; Martins, Mariana Bonjiono; Latuf-Filho, Paulo ; Begnami, Maria Dirlei; Assumpção, Ligia Vera Monta; Vassalo, Jose ; Ward, Laura Sterian;*

A via HGF/c-Met/STAT3 tem sido alvo de muitos estudos porque as proteínas HGF e STAT3 são reconhecidamente importantes no estímulo à mobilidade, proliferação, morfogênese, invasão e metástase de células tumorais.

c-Met é um receptor tirosina-quinase que é codificado pelo proto-oncogene c-met. Quando ativado, libera sinais downstream para as vias de sinalização que estão implicadas na invasão e migração de células cancerígenas. Não é expresso nos tecidos normais, ou é em concentrações extremamente baixas. Já no câncer diferenciado de tireoide (CDT) ocorre uma hiperexpressão de c-Met em 70% dos carcinomas papilíferos da tireoide (CPT), o que sugere que a via HGF/c-Met/STAT3 esteja associada ao seu desenvolvimento e progressão. Após ativada, a proteína citoplasmática STAT3 dimeriza e transloca até o núcleo, onde ativa e controla a transcrição de genes alvos específicos envolvidos na carcinogênese. Pode, então, agir como um regulador negativo do crescimento tumoral no CDT. Sua expressão é nula ou fraca em amostras de tecidos normais da tireoide; contudo, 98% dos casos de CPT expressam STAT3. A proteína pSTAT3 é hiperexpressa em adenomas foliculares e em CPT. Portanto, a proteína poderia ser utilizada como um possível marcador de malignidade. O objetivo deste estudo foi avaliar a aplicação da expressão proteica de c-Met, STAT3, e pSTAT3 como marcadores de malignidade no diagnóstico e prognóstico de pacientes que apresentam nódulos tireoidianos. Para tal, foram analisados 263 tecidos tireoidianos (102 carcinomas papilíferos, incluindo 64 clássicos, 28 CPT de variante folicular (CPVF) e 10 de células altas; 21 carcinomas foliculares (CF); 19 adenomas foliculares (AF); 111 bócios; e 10 tecidos normais). Áreas representativas do tecido de cada um dos nódulos foram selecionadas para a construção de uma lâmina de tissue microarray (TMA) que foi submetida à técnica de imunohistoquímica para cada uma das proteínas. Para tal análise, utilizamos o score de Allred. A expressão de STAT3 no citoplasma esteve presente em todos os tecidos tireoidianos, incluindo os CF. Além disso, sua expressão nuclear foi observada em 66% dos bócios e em 34% dos carcinomas ( $p < 0,0001$ , sensibilidade 97%, especificidade 87%, VPP 93%, VPN 94%). Usando a expressão nuclear de STAT3, foi possível diferenciar os nódulos benignos dos malignos ( $p < 0,0001$ , sensibilidade 83%, especificidade 74%, VPP 75%, VPN 83%); os CF dos AF ( $p = 0,0457$ , sensibilidade 80%, especificidade 52%, VPP 65%, VPN 71%) e os bócios dos CPVF ( $p < 0,001$ , sensibilidade 89%, especificidade 65%, VPP 91%, VPN 60%) e dos AF ( $p = 0,0005$ , sensibilidade 89%, especificidade 80%, VPP 95%, VPN 60%). Todos os CF foram negativos para a coloração nuclear de STAT3. Em relação a c-Met, houve expressão citoplasmática em todos os tecidos cancerígenos, mas em apenas 2% dos casos de bocio. Assim, a expressão de c-MET foi capaz de diferenciar nódulos malignos dos benignos ( $p < 0,0001$ , sensibilidade 86%, especificidade 76%, VPP 77%, VPN 86%); os CPT dos CF ( $p = 0,0003$ , sensibilidade 96%, especificidade 31%, VPP 87%, VPN 63%), os CPVF dos CF ( $p = 0,0232$  sensibilidade 93%, especificidade 31%, VPP 66%, VPN 77%), assim como os CPVF dos AF ( $p = 0,0003$ , sensibilidade 93%, especificidade 50%, VPP 68%, VPN 87%). Nem c-Met nem STAT3 estavam associadas com características que determinam agressividade. Tampouco se relacionaram com a evolução dos pacientes. Concluímos que as proteínas c-Met e STAT3 foram úteis para auxiliar no diagnóstico de malignidade dos nódulos tireoidianos, e também diferenciaram alguns tipos histológicos de CDT, porém não se correlacionaram com o prognóstico dos pacientes estudados.

Palavras chave: Câncer de tireoide, STAT3, c-Met

**(14.21) NÍVEIS SÉRICOS DE ADIPONECTINA, LEPTINA, RESISTINA E GRELINA IDENTIFICAM MALIGNIDADE EM NÓDULOS TIREOIDIANOS.**

*Amaral, Laís Helena Pereira; Marcello, Marjory Alana; Calixto, Antonio Ramos; Vasques, Ana Carolina Junqueira; Geloneze, Bruno ; Etchebehere, Elba C; Araújo, Priscila Pereira; Trincani, Alfio José; Carvalho, André Lopes; Ward, Laura Sterian;*

Existe uma necessidade urgente de se encontrar marcadores confiáveis, simples e de bom custo benefício, projetados para triagem de malignidade, reduzindo, assim, o peso da atual epidemia de nódulos e câncer de tireoide na saúde pública. Para investigarmos a utilidade clínica de algumas citocinas que tem sido relacionadas com a etiopatologia de vários tumores, nós utilizamos o teste de ELISA para quantificar as concentrações circulantes de adiponectina, leptina, resistina e grelina em 74 pacientes com Carcinoma Diferenciado de Tireoide (CDT), cuidadosamente pareados com 55 pacientes com nódulos benignos. As concentrações séricas de adiponectina, leptina, resistina e grelina distinguiram nódulos malignos de benignos com 76%, 100%, 100% e 96% de acurácia, respectivamente. Elas também ajudaram a discriminar lesões de padrão folicular. A variante folicular do carcinoma papilífero de tireoide (CPTVF) pôde ser distinguida dos adenomas foliculares (AF) pelos níveis de adiponectina ( $p < 0.05$ ), leptina ( $p < 0.001$ ) e grelina; e de bócios pelos níveis séricos de leptina ( $p < 0.001$ ), resistina ( $p < 0.001$ ) e grelina ( $p < 0.001$ ). AF foi diferenciado dos carcinomas foliculares e do carcinoma papilífero da tireoide clássico (CPTC) pelos níveis de leptina ( $p < 0.01$ ) e grelina ( $p < 0.001$ ) e de bócios pelos níveis de leptina ( $p < 0.001$ ), resistina ( $p < 0.001$ ) e grelina ( $p < 0.01$ ). Tumores mais invasivos apresentaram menores níveis de adiponectina ( $p = 0.002$ ), mas não fomos capazes de demonstrar outras associações entre qualquer uma das proteínas analisadas e os dados de seguimento e sobrevida dos pacientes. Nós sugerimos que a simples dosagem das concentrações de adiponectina, leptina, resistina e grelina no sangue periférico, utilizando um teste simples e confiável como ELISA, pode representar uma nova abordagem para o diagnóstico dos nódulos tireoidianos.

Palavras chave: nódulos tireoidianos, malignidade da tireoide, adipocinas, diagnósticos

**(14.22) PROGRAMA DE VALORIZAÇÃO DA ATENÇÃO BÁSICA: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA DA PRÁTICA DE SUPERVISÃO.**

*CASTRO, THIAGO FIGUEIREDO; IGUTI, APARECIDA MARI;*

Em função de um diagnóstico da dificuldade de provimento e fixação de médicos em regiões carentes ou de difícil acesso como um dos principais entraves à implementação do SUS, o Ministério da Saúde vem estudando estratégias para a sua superação. Desde 2011, o Programa de Valorização da Atenção Básica – PROVAB – assume o papel estratégico enquanto Política Pública de Saúde cujo intuito é de “estimular a formação do médico para a real necessidade da população brasileira e levar esse profissional para localidades com maior carência para este serviço.” Assim, o Ministério da Saúde lançou, em dezembro de 2012, o edital de abertura da segunda edição do PROVAB. Neste edital, novas diretrizes são lançadas, considerando a “obrigatoriedade de realizar curso de pós-graduação prático-teórico em saúde da família, com 12 meses de duração”, a sua abrangência, agora restrita apenas para médicos e cujas atividades serão supervisionadas por uma instituição de ensino. Este trabalho se propõe a descrever a experiência do primeiro autor, enquanto supervisor deste programa, vinculado a uma instituição de ensino de uma grande cidade do interior paulista, a partir do estudo de uma das demandas. Trata-se do acompanhamento do trabalho de uma médica do PROVAB, atuando em um município de pequeno porte no Estado de São Paulo, dentro da lógica da Unidade Básica de Saúde tradicional (programação). Tendo diagnosticado a inadequação da abordagem, a supervisão surge como uma porta para discutir e reorientar as práticas da atenção básica a saúde em consonância com as atuais diretrizes de um modelo de Atenção Básica, pautado nas premissas já bem consolidadas segundo Starfield (1998). As propostas construídas dentro do trabalho de supervisão levaram o município a assumir a implantação da primeira unidade de Estratégia de Saúde da Família, e a médica teve papel importante na organização do trabalho em equipe; reconhecimento, formação, seleção e treinamento dos agentes comunitários de saúde; e o impacto na lógica do cuidado a uma população previamente desassistida gerou repercussão não só para dentro da gestão municipal como na mídia local.

Palavras chave: PROVAB, SUPERVISÃO, RELATO DE CASO, ATENÇÃO BÁSICA

**(14.23) RNA AND PROTEIN EXTRACTION FROM RAT HIPPOCAMPUS OBTAINED THROUGH LASER CAPTURE MICRODISSECTION AND A COMPARATIVE PROTEOMIC ANALYSES BETWEEN TWO DIFFERENT MASS SPECTROMETERS .**

*CANTO, AMANDA MORATO<sup>1</sup>, DE OLIVEIRA, FELIPE AUGUSTO<sup>1</sup>, MATOS, ALEXANDRE HILARIO BERENGUER<sup>1</sup>, PASCOAL, VINICIUS D'AVILA BITENCOURT<sup>1,2</sup>, VIEIRA, ANDRE<sup>1</sup>, GILIOLI, ROVILSON<sup>3</sup>, LOPES-CENDES, ISCIA<sup>1</sup>*

1. Department of Medical Genetics, and The Brazilian Institute of Neuroscience and Neurotechnology (BRAINN), School of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP, SP, BRAZIL

2. Department of Basics Sciences, Fluminense Federal University - UFF, Nova Friburgo, RJ, BRAZIL.

3. Laboratory of Animal Quality Control (CEMIB), University of Campinas – UNICAMP, Campinas, SP, BRAZIL.

Introduction: The use of animal models to investigate the mechanisms underlying human temporal lobe epilepsy has led to great advances in the better understanding of this disease. However the development of models that can present epileptogenesis similar to that observed in humans is still a challenge. In this context, transcriptome and proteomics studies are promising tools for the identification of key biological processes leading to epilepsy. The power of such “omics” approaches is dependent on the preparation of homogeneous cell populations, especially in heterogeneous tissues such as the Nervous System. Laser-capture microdissection (LCM) presents the ability to select a specific cell population that would give the most informative data. Objectives: Therefore, the aim of the present study is to optimize simultaneous RNA and protein extraction and compare the efficacy of two different MS methods. Methods: Wistar rats were kept under illumination-controlled conditions with cycles of 12h light/darkness. They had total access to water and food during all the observation period. Rats were euthanized in a CO<sub>2</sub> chamber, and the brain was quickly removed and frozen by immersion in n-hexane at -60°. Frozen sections were produced in a cryostat (Leica) and mounted in PEN covered glass slides (Zeiss). Slides were Nissl stained, and the Dentate Gyrus (DG), or the whole hippocampus was laser microdissected using Zeiss PALM LCM. RNA was extracted from microdissected DG samples using RNAeasy microkit (Qiagen). RNA quality was assessed employing Bioanalyzer Agilent RNA 6000 Pico. Total proteins were obtained from the collected hippocampus using TRizol reagent according to manufacturer instructions. Proteins were resuspended in 8M urea and quantified by the Bradford's methods. Proteins from the same sample were analyzed using a Q-TOF mass spectrometer and a LTQ-Orbitrap Velos, to see the efficacy of both equipment. Results: For the production of frozen tissue slices, best results were obtained with 40µm of thickness. RNA extraction employing RNAeasy microkit (Qiagen) produced high quality isolated RNA. We obtained simultaneous isolation of RNA and protein employing the TRizol method, resulting in an average concentration of 1.1µg RNA and 10.6µg protein. The total number of identified proteins using the Q-TOF mass spectrometer was 125 and using the LTQ-Orbitrap MS was 432. Conclusion: The use of the TRizol method resulted in the simultaneous extraction of RNA and total proteins from the same sample. The difference between the identified proteins obtained from the two mass spectrometers was significant, leading us to choose the LTQ-Orbitrap Velos mass spectrometer as the more accurate equipment for proteomics analysis.

This study was supported by FAPESP. All animal procedures were approved by the UNICAMP Ethics Committee on Animal Experimentation (prot 2903-1).

Palavras chave: RNA, mass spectrometer, proteomic, microdissection, hippocampus

**(14.24) NÍVEIS PLASMÁTICOS DE LDL OXIDADA E METALOPROTEINASE 8 ESTÃO ASSOCIADAS COM ATEROSCLEROSE CAROTÍDEA EM INDIVÍDUOS COM LESÃO MEDULAR.**

*Paim, Layde Rosane; Schreiber, Roberto ; Matos-Souza, Jose R.; Silva, Ancelmo A.; Campos, Luis F. ; de Azevedo, Eliza R.F.B.M.; Rossi, Guilherme de; Gorla, Jose I.; Junior, Alberto Clique; Junior, Wilson Nadruz;*

Estudos prévios demonstraram que indivíduos com lesão na medula espinhal crônica (LM) apresentam maior risco cardiovascular em comparação com indivíduos fisicamente normais. O presente estudo investigou a relação entre os níveis plasmáticos da lipoproteína de baixa densidade oxidada (LDLox), e as metaloproteinases de matriz (MMP) e seus inibidores teciduais (TIMPs) e o remodelamento vascular em pacientes com LM, e o papel da atividade física nesta relação. Foram estudados 42 homens com LM ( $\geq 2$  anos), [18 sedentários (S-LM) e 24 fisicamente ativos (A-LM)] e 16 homens fisicamente saudáveis através por meio de análise clínica, antropométrica, laboratorial e de espessura íntima-média da carótida (EIM). Todos os participantes estudados eram normotensos, não-diabéticos, não-fumantes e normolipêmicos. Os níveis plasmáticos de LDLox, MMP-2, MMP-8, MMP-9, TIMP-1 e TIMP-2 foram determinados por ensaio imunoenzimático (ELISA). Os resultados mostraram que a EIM da carótida, razão EIM/diâmetro e os níveis de LDLox dos A-LM e dos indivíduos fisicamente normais não foram diferentes estatisticamente. Por outro lado, indivíduos com S-LM apresentaram maior IMT, razão IMT/diâmetro e níveis aumentados de LDLox em comparação com A-LM ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  e  $p = 0,01$ , respectivamente) e indivíduos controles ( $p < 0,001$  para todos). Os resultados da análise de correlação bivariada, incluindo todos os indivíduos com LM, demonstrou que o EIM de carótida e a razão EIM/diâmetro se correlacionaram apenas com LDLox, MMP-8 e com a relação MMP-8/TIMP-1. Além disso, análise de regressão ajustada para a presença ou não de atividade física e idade mostrou que a LDLox foi associada à EIM carotídea e com a relação EIM/diâmetro, enquanto que MMP-8 foi associado com o índice EIM/diâmetro em indivíduos com LM. Em conclusão, os níveis plasmáticos de LDLox e MMP-8 estão associados com aterosclerose carotídea e há uma interação entre a inatividade física, aterosclerose e LDLox em indivíduos com LM.

Palavras chave: Lesão da medula espinhal; aterosclerose; ultrassonografia, LDL oxidada.

**(14.25) FREQUÊNCIA E CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS DAS CÉLULAS CD4+CD28NULL EM PACIENTES COM PSORÍASE E INDIVÍDUOS CONTROLE.**

*Lima, Xinaida Taligare V; Oliveira, Rômulo Tadeu Dias; Magalhães, Renata Ferreira; Mamoni, Ronei Luciano; Blotta, Maria Heloisa Souza Lima;*

A psoríase é uma doença inflamatória crônica que afeta a pele e pode estar associada à maior frequência de eventos cardiovasculares, decorrentes de aterosclerose. Existem vários aspectos imunológicos semelhantes na psoríase e na aterosclerose. Um subtipo de linfócitos T CD4 que não expressa a molécula de superfície CD28 (CD4+CD28null) e possui potencial citotóxico está aumentado no sangue periférico de pacientes com síndrome coronariana aguda, bem como outras doenças inflamatórias crônicas. O objetivo deste estudo foi avaliar a frequência das células T CD4+CD28null no sangue periférico de pacientes com psoríase e indivíduos controle, assim como seu potencial citotóxico e inflamatório, além de correlacionar estes achados com espessura da íntima-média (EIM) da artéria carótida comum. Foram incluídos 42 pacientes com psoríase selecionados do ambulatório de Dermatologia do Hospital de Clínicas da Unicamp, além de 42 indivíduos controle. Células mononucleares do sangue periférico (CMSP) dos participantes foram analisadas, por meio de citometria de fluxo, quanto à frequência de células T CD4+CD28null e sua expressão de citocinas inflamatórias, receptores de homing e grânulos citotóxicos. Estas células foram avaliadas em amostras ex vivo e após estimulação em cultura. Além de análise univariada, foi realizada análise multivariada, incluindo fatores de risco de doença cardiovascular em modelo de regressão linear, e análise de sensibilidade, na qual pacientes em tratamento sistêmico foram excluídos. Não houve diferença na frequência de células CD4+CD28null entre os grupos, apesar de diminuição não-significativa no grupo psoríase. Entretanto, nas amostras ex vivo, houve maior número de células expressando grânulos citotóxicos e menor número expressando o receptor de quimiocina CXCR3 no grupo psoríase. Estes resultados se mantiveram em análise multivariada e de sensibilidade. Estimulação com LPS levou a diminuição na frequência de células CD4+CD28null expressando grânulos citotóxicos em ambos os grupos, possivelmente por degranulação destas células em ambiente inflamatório. Detectou-se ainda correlação negativa entre a frequência de células CD4+CD28null e a gravidade da psoríase. Conforme esperado, houve aumento significativo de marcadores inflamatórios, como proteína C reativa e TNF- $\alpha$ , em pacientes com psoríase. Por outro lado, não houve diferença na EIM entre os grupos ou correlação desta com a frequência de células T CD4+CD28null. Estes resultados sugerem que além do ambiente inflamatório, a presença de células com potencial citotóxico poderia contribuir para imunopatogênese da psoríase, independente da presença de fatores de risco para aterosclerose. É possível ainda que um menor número destas células no sangue periférico de pacientes com psoríase, ainda que não significativo, além de correlação negativa desta frequência com gravidade do quadro cutâneo, esteja refletindo o recrutamento destas células para sítios de inflamação, como pele e articulações.

Palavras chave: psoríase, doença cardiovascular, cd4+cd28null, imunologia

**(14.26) COMPARISONS ON WHOLE EXOME CAPTURING COVERAGE AND EFFICIENCY AMONG DIFFERENT POPULATIONS.**

*Borges, Murilo Guimarães; Carvalho, Benilton ; Cendes, Iscia Lopes;*

Technical advances achieved in DNA sequencing in the last decade together with the development and decreased cost of high-performance DNA sequencing equipment offer an unprecedented opportunity to apply genomic technologies to medicine. The coding region of the genome corresponds to less than 2% of its entirety and is also known as exome it is this portion of the human genome which is believed to concentrate most of the pathologic mutations causing disease in humans. For example, when performing a whole genome sequencing of one individual we expect to find approximately three million variants. If we focus on coding regions this number drops to less than twenty thousand. In this context, exome sequencing is thought to be a cost-effective strategy for high performance molecular diagnosis applied to genomic medicine. However, to best apply this approach to different population it is important to determine whether ethnic differences in the population sequenced can affect sensibility and specificity of the method. In order to investigate the impact of ethnicity in capture and sequencing parameters obtained by exome sequencing using next generation sequencing technology we selected 120 individuals from the 1000 Genomes Consortium. These exomes were sequenced and aligned at three different timepoints. For each one of those temporal subsets of data there are 40 individuals, ten of each of the four considered populations (ACB – African Caribbean from Barbados; GBR – British in England and Scotland; YRI – Yoruba in Nigeria; JPT – Japanese from Tokyo). We are investigating the following parameters: mean coverage for each exon within the human exome as well as capturing efficiency and coverage of specific genes considered to be of clinical relevance by the American College of Medical Genetics and Genomics at “ACMG Recommendations for Reporting of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing”. We expect that distance-based approaches such as principal component analysis will show patterns on exomic coverage that could be related to time progression and therefore protocol advancement. This could have a significant impact in exome capturing efficiency and coverage among different population leading to the necessity of protocol adjustments when analysing patients from a mixed ethnic background, such as the Brazilian population. This study is supported by FAPESP.

Palavras chave: Exome, Coverage, Bioinformatics, Population

**(14.27) FATORES QUE INFLUENCIAM AS FAMÍLIAS A DOAR OS ÓRGÃOS DE SEUS ENTES QUERIDOS PARA PROCEDIMENTOS DE TRANSPLANTES.**

*Fernandes, Marli Elisa Nascimento; de Camargo Bittencourt, Zélia Zilda Lour; Boin, Ilka de Fátima Santana Fe;*

Introdução: o profissional de captação de órgãos reconhece que a doação de órgãos é um ato de solidariedade, contudo vivencia a dor da perda dos familiares, e admira-se que, apesar do sofrimento, consigam se desprender do corpo (matéria) do ente querido e optar pela doação. Assim, a doação é caracterizada como um ato de coragem e desprendimento. Metodologia: este foi um estudo quantitativo, que avaliou os fatores que interferiram na decisão das famílias para doação de órgãos múltiplos para transplantes, utilizando a amostra intencional até a saturação de dados, foram selecionadas doze famílias para participarem da pesquisa havendo recusa de cinco famílias. A coleta foi realizada no período de Março de 2012 a Junho 2013 em domicílio com sete famílias caracterizadas segundo, idade, gênero, grau de parentesco com o doador, procedência, declaração de crença religiosa, estado civil. As famílias selecionadas foram entrevistadas na maioria em suas residências na região de Campinas/SP, Brasil. As entrevistas foram gravadas com o consentimento dos participantes, transcritas e analisadas por método de análise de conteúdo de Laurence Bardin. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Resultados: A faixa de idade dos entrevistados foi entre 26 anos e 64 anos, a maioria homens; pais de doadores de órgãos, declarando terem algum tipo de crença. Os três temáticas foram: Entendimento da explicação do diagnóstico de morte encefálica. Profissional de saúde que informou sobre a possibilidade de doação. A motivação da família para doação para transplante. Os resultados qualitativos revelaram que as famílias demonstraram terem entendido as informações sobre o diagnóstico de morte encefálica. O profissional: médico, assistente social e enfermagem foram os profissionais que mais ofereceram a família a oportunidade de doação e apontam que além do gesto de altruísmo da família, outros fatores motivadores para a doação foram a mídia e crença religiosa como seguem alguns depoimentos: Família 1: "A mídia tem influência para gente doar, mas acho que passa muito pouco. Eu vi na TV, a gente só vê pessoa que recebeu órgãos falando a respeito"; Família 7: "A gente vê na televisão todo dia as pessoas que precisam de um rim, de tanta coisa (órgãos) nós resolvemos doar, assim servir para salvar vidas"; Família 2: "Porque a gente vê que faz muita falta de órgãos, por aí. A gente vê passar na TV as pessoas que podem doar"; Família 5: "Eu pensei desta forma também em ajudar uma pessoa. Tem uma questão religiosa, a gente acredita que o corpo após a morte não tem utilidade celestial. Ela era uma pessoa boa que também tinha caráter de ajudar pessoas"; Família 4: "Era um desejo da minha mulher, ela sempre falava sobre a doação, o que mais me incentivou em fazer a doação foi respeitar o desejo dela". Conclusão: O investimento em propaganda do Sistema de Transplantes Brasileiro e as instituições religiosas na atualidade tem um importante papel na sociedade para promover discussões, conscientizando a população em prol da doação de órgãos e assim minimizar a falta de órgãos para transplantes.

Palavras chave: famílias, doação de órgãos, mídia e religião.

**(14.28) CONCENTRAÇÕES SÉRICAS E POLIMORFISMO DE INTERLEUCINA 10 (IL-10) EM PACIENTES COM NÓDULOS TIREOIDIANOS.**

*Martins, Mariana Bonjorno ; Marcello, Marjory Alana ; Batista, Fernando de Assis ; Peres, Karina Colombero; Meneghetti, Murilo ; Ward, Mirela Andrea Lat; Etchebehere, Elba Cristina Sá de Cam; da Assumpção, Ligia Vera Monta; Ward, Laura Sterian ;*

As citocinas participam do processo de indução e das fases efetoras de respostas imunes e inflamatórias. Uma variedade de citocinas, como a IL-10, é produzida em células inflamatórias infiltradas na tireoide, desempenhando um papel importante na patogênese das doenças tireoidianas autoimunes através do recrutamento de células inflamatórias, da regulação e da perpetuação de moléculas participantes da resposta inflamatória. No entanto, seu papel na neoplasia tireoidiana ainda é largamente ignorado. Nosso objetivo foi verificar se o perfil genotípico herdado do gene IL-10 rs1800896, assim como as concentrações séricas da proteína IL-10 influenciam na suscetibilidade ao desenvolvimento do carcinoma diferenciado da tireoide (CDT) e se correlaciona com as características clínicas, patológicas e evolução. Estudamos 200 portadores de CDT; 60 indivíduos com nódulos benignos e 200 controles saudáveis sem nódulos tireoidianos. Os pacientes (tantos papilíferos e tantos foliculares) foram tratados e seguidos de acordo com protocolo padrão por  $86,25 \pm 74$  meses. A análise do perfil genotípico de IL-10 foi realizada pela técnica de TaqMan® SNP Genotyping e as concentrações séricas da IL-10 foram determinadas por ELISA. A distribuição genotípica de IL-10 não diferenciou o grupo de pacientes com CDT do grupo controle ( $p= 0.3048$ ). Os genótipos de IL-10 não demonstraram associação com qualquer característica clínico-patológica dos pacientes. Quanto às dosagens séricas de IL-10, observamos que os pacientes com doença ativa apresentaram concentrações médias ( $1,15$  pg/mL, mediana:  $0,45$  pg/mL) que tenderam a ser mais elevados do que os pacientes sem doença ativa (média:  $0,85$  pg/mL, mediana:  $0,40$  pg/mL;  $p=0.2785$ ); com nódulos benignos (média:  $0.58$  pg/mL, mediana:  $0.20$  pg/mL;  $p=0.1794$ ); e do que os controles (média:  $0.51$  pg/mL, mediana:  $0.43$  pg/mL;  $p=0.1027$ ). Não houve relação da dosagem sérica de IL-10 com fatores clínico-patológicos. Também não houve correlação entre presença/ausência de polimorfismos com uma maior/menor concentração sérica ( $p=0.3820$ ). No entanto, a IL-10 sérica distinguiu o grupo maligno ( $1.00 \pm 3.61$  pg/mL) do controle ( $0.51 \pm 0.39$  pg/mL;  $p=0.0304$ ). Uma curva ROC forneceu um cutoff  $\leq 0,33$  pg/mL que serviu para diagnosticar malignidade com sensibilidade de 74%, especificidade de 77%, valor preditivo positivo de 85,6% e valor preditivo negativo de 61,7%. Em conclusão, nossos dados sugerem que o polimorfismo do gene IL-10 (rs1800896) não está envolvido com a patogenicidade no câncer de tireoide. Por outro lado, a dosagem sérica da IL-10 pode auxiliar no diagnóstico de malignidade do nódulo tireoidiano.

Palavras chave: Câncer de Tireoide, Interleucina, Diagnóstico, Prognóstico

**(14.29) DISTINCT TEMPORAL LOBE EPILEPSY (TLE) SUB SYNDROMES HAVE DIFFERENT PATTERNS OF ALTERED FUNCTIONAL CONNECTIVITY.**

*Machado de Campos, Brunno ; Coan, Ana Carolina ; Beltramini, Guilherme Coco; Covolan, Roberto José Mari; Cendes, Fernando ;*

Introduction: TLE is a disease of functional and structural network abnormalities. The hippocampus sclerosis (HS) is the most common neuroimaging findings in refractory TLE (HS-TLE), however, a significant number of TLE patients have normal MRIs (NL-TLE). Seed-based functional connectivity (FC) is a neuroimaging modality able to elucidate brain interactional patterns without cause-effect meaning and this study aim to define the altered functionally cooperative networks related to distinct TLE sub syndromes. Methods: Fifty-three subjects were included: 29 controls (10 females; mean age=26 years; range=20-59 years), 12 NL-TLE (mean age=48 years; range=36-56 years) and 12 HS-TLE patients (mean age=44 years; range=20-56 years). fMRI data of the patients were obtained through EEG-fMRI technique, and this concomitant record enabled the control of wakefulness and the presence of interictal epileptiform discharges (IEDs). UF<sup>2</sup>C software was used to perform FC analysis and the anterior hippocampus contralateral (cAH) to the syndrome lateralization was settled as seed region. Six movement parameters, white matter and cerebral spinal fluid volume variation and the IED time points (when occurred) were used as regressors in the signal processing. Statistical maps were created for each subject and the comparisons between groups were performed by using the average connectivity between cAH and the following contralateral (c) and ipsilateral (i) regions: medial frontal cortex (Fr), temporal poles (TP), amygdale (Am), anterior hippocampi (AH), posterior hippocampi (PH) and posterior cingulated cortex (PCC). Results: Compared to controls, HS-TLE patients showed increased average connectivity in the cAH ( $p < 0.001$ ) and cTP ( $p = 0.03$ ) and decreased in the iAm and iAH. The NL-TLE presented increased average connectivity only in the iAH whereas this group showed significant decreased connectivity on the cFr, iAm, iAH, iPH and iTP. Conclusions: HS-TLE patients have increase connectivity in the hippocampus and temporal pole contralateral to the epileptogenic zone, what is possibly related to compensatory mechanisms. Differently, NL-TLE patients have a diffuse network of decrease connectivity involving both hemispheres what can be justified by the possible heterogeneity of individuals with non-lesional epilepsy.

Palavras chave: Epilepsy, EEG-fMRI, Neuroimaging, MRI, Connectivity

**(14.30) A EXPRESSÃO DE DREAM PODE CARACTERIZAR NÓDULOS TIREOIDIANOS MALIGNOS E MODIFICAR SUAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-PATOLÓGICAS.**

*Batista, Fernando Assis; Marcello, Marjory Alana; Martins, Mariana Bonjiorno; Assumpção, Ligia Vera Monta; Silva, Marcio José; Ward, Laura Sterian;*

Nódulos de tireoide, benignos e malignos, tem se tornado cada vez mais frequentes, obrigando a busca de marcadores de diagnóstico e prognóstico. O gene DREAM codifica um repressor transcricional que atua sobre a expressão gênica tireoide-específica, além de ser um efetor endógeno do receptor de TSH e também induzir a apoptose. O aumento da expressão de DREAM na tireoide está relacionado com o aumento da glândula e o desenvolvimento nodular. O objetivo deste trabalho foi analisar a expressão do gene DREAM através da quantificação do RNAm em tecidos tumorais benignos e malignos da tireoide e verificar se os dados de expressão obtidos se correlacionam com características clinicopatológicas dos tumores estudados. Foram analisadas 98 amostras de RNA extraído de tecido tireoidiano, sendo 9 adenomas foliculares (AF), 24 bóciolos coloides (BC), 32 carcinomas papilíferos clássicos (CPC), 29 carcinomas papilíferos de variante folicular (CPVF) e 4 tecidos tireoidianos não neoplásicos. As amostras de RNA foram submetidas à técnica de RT-PCR, seguida pela quantificação do RNAm pela técnica de qPCR. A média de expressão de DREAM foi maior em nódulos benignos (média  $1.567 \pm 1.714$  UA) do que em malignos (média  $0.9169 \pm 2.259$  UA,  $p=0.0261$ ), sendo capaz de distinguir estes nódulos com 73,08% de sensibilidade, 53,57% de especificidade, 74,5% de VPP, e 51,7% de VPN. A expressão de DREAM foi maior em BC (média  $1.4959 \pm 1.642$  UA) do que nos CPC (média  $0.5818 \pm 0.8283$ ,  $p=0.0072$ ). Mais ainda, sua expressão foi maior em tumores não-invasivos (média  $1.622 \pm 3.521$  UA), do que em tumores invasivos (média  $0.407 \pm 0.6753$  UA,  $p=0.0324$ ). Não houve associação com outras características clínico-patológicas dos pacientes. Concluímos que a expressão de DREAM pode ser de utilidade no diagnóstico de malignidade em nódulos tireoidianos e pode ainda modular características clínico-patológicas destes tumores, associando-se a tumores menos agressivos.

Palavras chave: Carcinoma diferenciado da tireoide, marcadores moleculares,

**(14.31) ESTRATÉGIAS ESPONTÂNEAS NA BUSCA DE EGOSSINTONIA RELATADAS POR PACIENTES COM TOC EM SEGUIMENTO AMBULATORIAL NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNICAMP: UM ESTUDO CLÍNICO-QUALITATIVO.**

*Paes de Barros Leite Bastos, Marina ; Ribeiro Turato, Egberto ;*

O presente projeto tem como objetivo a discussão sobre a busca da egossintonia por meio de estratégias espontâneas relatada por pacientes com Transtorno Obsessivo-Compulsivo (TOC) em seguimento ambulatorial. Para tal, a pesquisa tem como base as hipóteses formuladas: o TOC traz significados emocionais que são ligados a constrangimentos pessoais de difícil manejo, o que pode trazer sentimentos de vergonha social e diminuição da auto-estima; as compulsões e obsessões decorrentes do TOC podem fazer com que o paciente tenha que alterar suas atividades diárias e pode trazer prejuízo à sua interação social; a natureza da compulsão pode causar extremo impacto psicológico no paciente assim como o pensamento da consequência da sua não realização. Pretende-se interpretar como os pacientes buscam adaptar suas vidas às obsessões e compulsões, de modo que essas não sejam perturbadoras. Para isso, será utilizado o método clínico-qualitativo, através do emprego da técnica da entrevista semidirigida de questões abertas e observação global do entrevistado durante a coleta de dados. A técnica da saturação teórica será aplicada para determinar o tamanho da amostra, assim, quando as entrevistas pararem de acrescentar informações novas, a amostra de sujeitos será fechada. As entrevistas, que serão realizadas no serviço ambulatorial de psiquiatria, junto ao Hospital das Clínicas da Unicamp, serão gravadas após leitura explicativa do Termo de Consentimento e, posteriormente, transcritas na íntegra em arquivo eletrônico. O tratamento dos dados será por meio da Análise Qualitativa de Conteúdo, destacando-se a etapa de categorização em tópicos após leituras e releituras flutuantes do conjunto das entrevistas, com desvelamento de nexos de sentidos, à luz de um quadro de referenciais teóricos, composto a partir dos conhecimentos da disciplina de Psicologia Médica. Sendo esta uma pesquisa qualitativa que envolve as significações psicológicas dos pacientes é preciso dar um enfoque humanístico. Dessa maneira, deve ser considerado o caráter polissêmico dos achados, ou seja, o sentido que as pessoas dão aos fenômenos que viveram ou observaram são diversos. Há momentos previstos de submissão dos resultados ao sistema peer-review, junto ao Laboratório de Pesquisa coordenado pelo orientador do projeto na Unicamp. As conclusões serão usadas para contribuir para a melhora da relação profissional-paciente, bem como para melhor abordagem emocional e social dos portadores de transtorno obsessivo-compulsivo, com aumento da adesão ao tratamento. A pesquisadora realizou a etapa de coletas de dados e a transcrição das entrevistas, momento em que ousou intuir possíveis categorias, aproveitando o rico momento da transcrição das entrevistas. Contudo, pelo rigor metodológico, a etapa do tratamento do conjunto das entrevistas, iniciando pelas chamadas leituras flutuantes, é que irá desvelar núcleos de significados dispersos no conjunto do discurso dos sujeitos. Na sequência será validado pela supervisão do orientador e em reunião regular com os pares de nosso grupo de pesquisa.

- Planejamento: planejamento de atividades para evitar momentos de ansiedade e para viabilizar a realização dos rituais.
- Isolamento: pouca convivência social em função dos rituais e também por vergonha da realização dos rituais em público.
- Enfrentamento: realização das atividades que deseja mesmo tendo que realizar rituais, fazendo com que o ritual não seja um impedimento.
- Desculpas: invenção de histórias para as pessoas que justifiquem os rituais com motivos que consideram que seriam mais aceitos.
- Dependência: envolvimento de outras pessoas nos rituais, fazendo com que fique mais fácil a realização do ritual.

Palavras chave: transtorno obsessivo-compulsivo, comportamento ego-sintônico, pesquisa qualitativa

**(14.32) RESISTÊNCIA MECÂNICA À FLEXÃO DE MÉTODOS DE FIXAÇÃO PARA FRATURAS DE ÂNGULO EM MANDÍBULAS DE POLIURETANO.**

*Munante-Cardenas, Jose Luis; Passeri, Luis Augusto;*

Objetivo: Realizar uma avaliação comparativa, in vitro, da resistência mecânica à flexão de métodos utilizados como fixação interna estável para fraturas de ângulo, em mandíbulas de poliuretano, por meio de testes de carregamento.

Materiais e Métodos: Quarenta réplicas de mandíbulas de poliuretano foram divididos em quatro grupos que utilizavam diferentes métodos de fixação : grupo 1SP – 1 miniplaca reta de 2,0 mm com 4 furos ; grupo 2PPL - duas miniplacas retas paralelas de 2,0 mm com 4 furos; grupo 3DP -1 miniplaca 3D 2.0 mm com 4 furos e grupo 3DPP- 1 miniplaca 3D de 2,0 mm com 8 furos. Cada grupo foi dividido em 2 sub-grupos de cinco modelos e submetidos uma única vez a uma força linear de carregamento na região de incisivo e na região de primeiro molar homolateral respectivamente, utilizando uma máquina de ensaio universal servohidráulica, Instron, modelo 4411. Os valores da carga suportada pelo sistema foram avaliados em 3 momentos distintos, quando o dispositivo de aplicação de carga atingisse deslocamento vertical de 1, 3 e 5 mm. Médias e desvios padrão foram comparados para determinar a significância estatística entre os grupos usando a análise de variância e teste de Tukey.

Resultados: Grupo 2PPL mostrou os maiores valores de resistência quando comparado aos outros métodos de fixação para todos os deslocamentos. Para carga incisal, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de 1SP, 3DP e 3DPP. Para carga molar, os grupos 1SP e 3DPP mostraram diferenças estatisticamente significativas. O grupo 3DPP mostrou os menores valores de resistência.

Conclusões: Nas condições testadas, duas miniplacas paralelas parecem fornecer um comportamento mecânico mais favorável.

Palavras chave: Placas ósseas, placas 3D, resistência à compressão, resistência do material

**(14.33) INVESTIGAÇÃO GENOTÍPICA E FUNCIONAL DE GENES RELACIONADOS A PIGMENTAÇÃO DE PELE EM *Danio rerio* PARA CARACTERIZAÇÃO DE UM NOVO FENÓTIPO “NO-STRIPES” COM PROPÓSITO DE PRODUÇÃO DE LINHAGEM ISOGÊNICA.**

*Souza, Marlon Evaristo; Maurer-Morelli, Cláudia Vianna;*

Introdução: *Danio rerio*, popularmente conhecido como zebrafish ou peixe-paulistinha vêm ganhando maior atenção da comunidade científica, em especial para estudos genéticos. Como modelo animal, o zebrafish possui muitas vantagens, dentre elas destacam-se a facilidade de obtenção de embriões, manipulação e análise in vivo em relação aos estudos que empregam roedores. Pelo fato do zebrafish de ser um vertebrado, possui maior similaridade de tecidos e órgãos quando comparados a pequenos modelos como *C. elegans* e *D. melanogaster*. Além disso, seu genoma possui homologia genética de 70% quando comparado ao genoma humano. Manipulações no modelo do zebrafish podem caracterizar mecanismos e vias relevantes tanto para as doenças humanas como para fins terapêuticos. Temos empregado o zebrafish para estudos funcionais de genes relacionados à epilepsia. Recentemente, notamos em nossa colônia de zebrafish (animais nascidos em nosso biotério), animais que não possuíam as listras laterais, tão características e que dão origem ao seu nome. Os animais encontrados com esse fenótipo foram separados e nomeados de “No-Stripes”. O zebrafish possui três tipos de cromatóforos, a saber: (i) os xantóforos que produzem pigmento vermelho-amarelado; (ii) os melanóforos que produzem pigmento marrom-escuro e os (iii) iridóforos produzindo um pigmento prateado e/ou dourado. Existe uma forte evidência que esse fenótipo seja causado por genes relacionados com a produção de xantóforos, pois estes estão relacionados com a correta migração dos melanóforos ao tecido e mutações descritas nos melanóforos tem sido relacionadas ao fenótipo albino ou à malformações. Neste sentido, existem dois genes candidatos que devem ser primariamente investigados, o gene *salz*(*sal*) que possui sete alelos relacionados a produção celular de xantóforos, e o gene *pfeffer* (*pfe*), com seis alelos e também relacionado com a produção de xantóforos.

Objetivos: 1. Investigar a origem do fenótipo “No-Stripes” no zebrafish nascido em nosso laboratório, por meio da investigação estrutural e funcional de genes relacionados com a pigmentação da pele. 2. Iniciar a produção de uma linhagem isogênica usando como marcador esse fenótipo.

Métodos: A investigação de possíveis alterações estruturais na sequência dos genes candidatos será por meio de sequenciamento automático pelo método de Sanger. A sequência obtida será comparada com os bancos de dados e com animais controles (com listras) do nosso laboratório. Também faremos um estudo funcional de avaliação da expressão do transcrito dos genes candidatos, por meio da PCR em Tempo Real com ensaios TaqMan (Applied Biosystems). Paralelamente as investigações gênicas, aplicaremos um protocolo de acasalamento monogâmico “inbreed” usando cinco casais a cada geração. Para a seleção dos casais serão usados os seguintes critérios: casais com maior número de ovos obtidos por desova, número de ovos efetivamente fecundados, porcentagem de ovos que se tornaram viáveis três dias pós-desova, taxa de sobrevivência e de malformações após 7 dias de vida. A cada geração efetiva produzida os casais serão registrados no pedigree da linhagem e terão amostras de DNA armazenadas.

Resultados esperados: Caracterizar o gene ou os genes responsáveis pelo fenótipo “No-Stripes”. Em um prazo de dois anos, esperamos chegar até a 6ª geração do processo de acasalamento monogâmico “inbreed”. No entanto, espera-se que com a continuidade dos cruzamentos, seja atingida a 20ª geração de modo a obtermos uma linhagem isogênica que deverá ser investigada geneticamente para a comprovação da diminuição da variabilidade genética entre os indivíduos.

Apoio: CNPq

Palavras chave: zebrafish, linhagem isogênica, gene

**(14.34) ESTUDO RETROSPECTIVO DOS CASOS DE FRATURA DE MANDÍBULA TRATADOS PELA ÁREA DE CIRURGIA PLÁSTICA DA FCM-UNICAMP, NO PERÍODO DE JANEIRO DE 2006 A DEZEMBRO DE 2011.**

*Munante-Cardenas, Jose Luis; Passeri, Luis Augusto ;*

O objetivo deste estudo foi avaliar algumas características epidemiológicas, métodos de tratamento e complicações pós-operatórias presentes em casos de fraturas mandibulares.

Foram analisados os prontuários de 119 pacientes que apresentaram fraturas mandibulares e tratados entre janeiro de 2006 e dezembro de 2011. As fraturas identificadas afetaram principalmente pacientes do gênero masculino (72,2%) da raça branca (80,7%). A idade média dos pacientes foi de 28,1 anos. Os acidentes de trânsito (RTA) causaram o maior número de fraturas (49,5%), seguida pela violência física (21%). Os acidentes de motocicleta foram a causa mais comum de RTA (76,2%). As regiões mandibulares mais atingidas foram a parassínfise (26,9%) e o ângulo (25,1%). Ambos os tratamentos, cirúrgicos e não-cirúrgicos, foram aplicados (90,4 e 9,6%, respectivamente). O acesso cirúrgico mais comum foi o intra-oral (64,9%), utilizando o sistema de fixação de 2,0 mm (88,0%). Complicações, como infecções pós-operatórias, má oclusão e parestesia ocorreram em 36 pacientes (30,2%). Esta pesquisa revelou aspectos interessantes sobre a etiologia das fraturas mandibulares, que foram associadas em sua maioria com RTA. A gravidade do trauma e a pouca colaboração dos pacientes foram fatores que contribuíram para o desenvolvimento de complicações pós-operatórias.

Palavras chave: mandíbula, fraturas mandibulares, trauma, tratamento cirúrgico, epidemiologia.

**(14.35) ESTILOS DE ENFRENTAMENTO DO CÂNCER DE MAMA DESENVOLVIDOS FACE ÀS IDEIAS SOBRE A DOENÇA: UM ESTUDO QUALITATIVO.**

*Alves, Vera Lucia Pereira; Lima, Daniela Dantas; Shinzato, Julia Yoriko; Brenelli, Fabrício Palermo; Turato, Egberto Ribeiro;*

**INTRODUÇÃO:** A literatura científica evidencia como as representações, as crenças e todo o imaginário sobre o câncer se faz presente na construção de comportamentos que envolvem os cuidados de saúde referidos à doença. Relevante parte desta produção centra-se no estudo das ideias que se faz sobre o câncer e os comportamentos de sua prevenção. Outra parte da literatura concentra-se na exploração de como estas interferem emocionalmente na reação e no tratamento dos pacientes e, por consequência, em seus modos de enfrentamento da doença. **OBJETIVO:** Compreender as representações de câncer narradas por mulheres em tratamento para o câncer de mama que não se defrontaram com a mutilação mamária, uma vez que submetidas à reconstrução imediata. **SUJEITOS E MÉTODO:** Estas mulheres, pacientes do CAISM/UNICAMP, em amostra intencional a ser fechada pelo critério da saturação, foram entrevistadas sobre suas experiências de vida ao se submeterem à reconstrução mamária imediata. A pesquisa qualitativa é desenvolvida por meio de entrevistas semidirigidas que contemplam a abordagem da temática da representação do câncer no âmbito da possível causalidade e de estratégias de enfrentamento utilizadas por elas. **RESULTADOS:** Os dados preliminares coincidem com os apontados na literatura científica. Estas mulheres mostram compreender o câncer como uma doença muito frequente na atualidade, provavelmente causado pela alimentação e não pela hereditariedade, podendo incorrer em metástases tornando-se assim mais grave, contudo não letal. Para enfrentá-lo buscam se informar e alteram seus comportamentos em decorrência dos conhecimentos que são adquiridos da mídia e de uma coletânea de informações oriundas dos profissionais de saúde. O alvo é a obtenção de uma cura que, se não garantida, já se encontra por elas percebida mediante à cirurgia de extirpação do tumor ou da mama. **CONCLUSÃO:** o câncer não se encontra fatalistamente associado à morte. Para enfrentá-lo, ou seja para lidar com o impacto do diagnóstico, com o tratamento cirúrgico, além da possibilidade de quimioterapia e o medo, por exemplo, da perda do cabelo, recorrem à espiritualidade e à positividade.

Palavras chave: neoplasias da mama, emoções, psicologia médica, medicina psicossomática.

**(14.36) ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE LARVAS DE ZEBRAFISH EM NADO LIVRE DURANTE CRISES INDUZIDAS POR HIPERTERMIA.**

*Gabriel, Guilherme Paiva; Souza, Marlon Evaristo; Gonsales, Marina Coelho ; Maurer-Morelli, Cláudia Vianna;*

**INTRODUÇÃO:** A epilepsia é uma condição neurológica comum e vários modelos experimentais contribuíram para um melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da doença. *Danio rerio*, é um pequeno teleosteo de água doce popularmente conhecido como zebrafish que pode ser usado para estudo de doenças humanas, incluindo desordens neurológicas. Há poucos anos atrás, este peixe foi proposto como um modelo de estudo de aspectos genéticos da epilepsia<sup>1-2</sup>. Recentemente, foi descrita atividade eletrográfica anormal em 100% das larvas de zebrafish submetidas à hipertermia transitória, o que possibilita o uso do animal como modelo de crises febris.<sup>3</sup> Apesar da importância deste estudo, ele foi realizado com larvas imobilizadas em agarose e, para uma melhor caracterização do modelo é necessário descrever o efeito da hipertermia transitória no comportamento de animais em nado livre. Apesar de a alteração eletrográfica ser uma evidência de atividade epiléptica, existe a ausência de uma correlação comportamental e molecular com esse achado. O presente estudo pode contribuir para caracterização desse novo modelo. **OBJETIVOS:**(i) Estabelecer um protocolo de crises epiléticas induzidas pela hipertermia em larvas de zebrafish livres na água; (ii) Caracterizar o padrão comportamental do zebrafish com 5 dias pós-fertilização (dpf) durante crises induzidas pela hipertermia. **MÉTODOS:** Larvas de zebrafish com 5dpf foram separados em dois grupos: 1.Grupo Hipertermia (GH) e 2.Grupo Controle (GC). Diferentes protocolos para induzir crises através da hipertermia foram aplicados ao GH. O GC foi submetido à mesma manipulação sem a elevação da temperatura da água (25°C). O comportamento das larvas de zebrafish foi gravado por uma câmera de vídeo (JVC HD Everio GZ-EX210) e descrito por um observador qualificado. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UNICAMP). **RESULTADOS:** O melhor protocolo para indução de crises através da hipertermia em animais em nado livre foi obtido usando um equipamento de banho-seco. Os animais foram colocados individualmente em um Becker contendo 30mL de água a 35°C por 10 minutos (n=10 de cada grupo). Aproximadamente 90 segundos após serem colocados no Becker com água a 35°C, os animais do GH apresentaram um aumento na atividade natatória caracterizado por movimentos persistentes (movimentos natatórios lineares e movimentos circulares menos frequentes) não visualizados em larvas do GC. Os movimentos do GH foram seguidos de breves contrações do tipo clônicas discretas com perda de postura por até 5 segundos. Os animais do GH apresentaram esse comportamento mais de uma vez durante o teste de 10 minutos (três vezes em média). Os animais do GC não apresentaram esse comportamento, mas ao invés disso, apresentaram um comportamento natatório normal relacionado a essa fase de desenvolvimento. **CONCLUSÃO:** Nosso estudo traz um protocolo para indução de crises epiléticas através da hipertermia em larvas de zebrafish em nado livre e descreve o comportamento associado com o teste. Esse novo modelo pode contribuir para um melhor entendimento de crises febris na infância. Estudos adicionais estão em andamento, a fim de avaliar a ativação neuronal desencadeada pelas crises febris por meio da quantificação do transcrito do gene *c-fos* empregando-se a técnica de Transcriptase reversa-PCR quantitativa e investigar se crises febris na fase larval (5dpf) modificam a sensibilidade ao agente convulsivante pentilenotetrazol (PTZ) em animais adultos. **PALAVRAS-CHAVE:** Epilepsia; zebrafish; crise febril; hipertermia; FAPESP #2013/08235-7

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. BARABAN, S. C. et al. Pentylentetrazole induced changes in zebrafish behavior, neural activity and *c-fos* expression. *Neuroscience*, v. 131, p. 759-768, 2005.
2. HORTOPAN, G. A.; DINDAY, M. T.; BARABAN, S. C. Zebrafish as a model for studying genetic aspects of epilepsy. *Disease Models & Mechanisms*, v. 3, p. 144-148, 2010.
3. HUNT, R. F. et al. A novel zebrafish model of hyperthermia-induced seizures reveals a role for TRPV4 channels and NMDA-type glutamate receptors. *Experimental Neurology*, 2012.

Palavras chave: Epilepsia; zebrafish; crise febril; hipertermia;

**(14.37) GANHO EXCESSIVO DE PESO EM PACIENTES DO AMBULATÓRIO DE PSIQUIATRIA DE ADULTOS: ANÁLISE QUALITATIVA DAS PRÁTICAS ALIMENTARES E DO CUIDADO NUTRICIONAL**

*Vieira, Carla Maria ; Turato, Egberto Ribeiro;*

O estudo do comportamento alimentar associado à questão da obesidade exige propostas de investigação amplas e interdisciplinares, considerando a emergência e complexidade do tema. A pesquisa em andamento, fundamentada no campo da antropologia da saúde e da psicologia médica, apresenta-se como continuidade de uma investigação realizada em 2011, no serviço de Endocrinologia e Nutrição do Complexo Hospitalar Universitário da Universidade de Barcelona (Espanha), como programa de estágio pós-doutoral, com financiamento da CAPES/Fundação Carolina. Nova etapa do estudo, com financiamento da FAPESP, tem como principal objetivo aprofundar o conhecimento sobre os significados psicológicos e culturais do comportamento alimentar associado ao ganho de peso por uso de psicofármacos, na assistência ambulatorial em Campinas SP. A pesquisa de desenho qualitativo conta com a inserção da pesquisadora nutricionista em ambulatório do Hospital das Clínicas da Unicamp, com atendimento de pacientes encaminhados pela equipe médica com ganho excessivo de peso gerado pelo uso de medicações psiquiátricas. Perfil nutricional da população atendida e dados clínicos, associados aos dados de diário de campo e dos registros em prontuário dos pacientes, são utilizados para análise de conteúdo. Resultados preliminares sugerem a necessidade da compreensão de como os sujeitos interpretam a alimentação, o que contribuiria para a promoção da maior autonomia do paciente em lidar com o excesso de peso, com melhora da qualidade das práticas alimentares e maior controle de fatores de risco para distúrbios metabólicos e cardiovasculares. O cuidado nutricional que valoriza a relação da pessoa com os alimentos em seus aspectos psicológicos e culturais, assim como a escuta cuidadosa dos significados relatados no contexto do processo de cuidado, são elementos que permitem melhor manejo do projeto terapêutico na área da saúde mental.

Palavras chave: Obesidade; Práticas Alimentares; Psicologia Médica; Nutrição; Antropologia da Alimentação; Medicamentos Psicoativos.

**(14.38) PODE POLIMORFISMOS NO GENE ADIPOR2 MODULAR A GRAVIDADE CLÍNICA DA FIBROSE CÍSTICA?**

*Zimmermann, Luiza Annelene ; Marson, Fernando Augusto de Lima ; Ribeiro, José Dirceu; Bertuzzo, Carmen Silvia;*

**Objetivo:** A fibrose cística (FC) é causada por mutações no gene CFTR. Na FC, a gravidade clínica está associada a genes modificadores e meio ambiente. Para modular, principalmente a doença pulmonar, alguns genes foram estudados, incluindo o gene ADIPOR2 (polimorfismos de variação do número de cópias - CNVs). **Metodologia:** Em nosso estudo, incluímos 169 pacientes com FC, e a associação da mutação CFTR e dois CNVs (134 - inserção no intron 3 e 315 - deleção no intron 2) no gene ADIPOR2 com 27 variáveis clínicas foi realizada. **Resultados:** Em nossos dados, encontramos a inserção 134 apenas em heterozigotos, sendo 37 (21,89%) pacientes com um alelo com a inserção e 132 (78,11%), sem a inserção. Para a deleção 315 foi observada: 51 (30,18%) homozigotos normais, 79 (46,75%) heterozigotos e 30 (17,75%) homozigotos raros. A inserção 134 foi associada a *Pseudomonas aeruginosa* ( $p=0,048$ ) e saturação de oxigênio da hemoglobina transcutânea ( $p=0,045$ ). A deleção de 315 foi associada com a raça ( $p=0,024$ ), idade do paciente ( $p=0,004$ ), primeiro isolamento de *P. aeruginosa* ( $p=0,030$ ) e presença da bactéria *Achromobacter xylosoxidans* ( $p=0,042$ ). **Conclusão:** Pode-se considerar o gene ADIPOR2 como gene modificador da FC, e um gene importante a ser estudado na análise funcional para futuras terapias.

**Palavras chave:** fibrose cística, adiponectina, genótipo-fenótipo, doença pulmonar, CFTR

**(14.39) ASSOCIAÇÃO DE BACTÉRIAS NO ESCARRO COM A GRAVIDADE CLÍNICA DA FIBROSE CÍSTICA.**

*Marson, Fernando Augusto; Bertuzzo, Carmen Silvia; Levy, Carlos Emilio; Ribeiro, Antônio Fernando; Ribeiro, José Dirceu;*

Objetivo: Associar a presença das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* mucóide (PAM) e não mucóide (PANM), *Staphylococcus aureus* (SA), *Burkholderia cepacia* (BC) e *Achromobacter xylosoxidans* com as variáveis clínicas da fibrose cística (FC) considerando o genótipo para o gene CFTR. Método: Foram incluídos 180 pacientes com FC. Variáveis clínicas: escores clínicos [Shwachman, Kanga e Bhalla], índice de massa corporal, idade do paciente, idade ao diagnóstico, primeiros sintomas clínicos (digestivos e pulmonar), período até primeira colonização pela *P. aeruginosa*, saturação periférica de oxigênio (SpO<sub>2</sub>), espirometria e comorbidades [pólipos nasais, osteoporose, íleo meconial, diabetes mellitus e insuficiência pancreática (PI)]. Resultados: Desconsiderando as mutações no gene CFTR houve maior gravidade para: PANM – início da doença pulmonar ( $p=0,025$ ) (OR= 2,114; IC= 1,122-4,015), IP ( $p=0,009$ ) (OR= 2,733; IC= 1,285-5,984); AX – primeira PANM ( $p=0,033$ ) (OR= 3,600; IC= 1,131-1,362); BC – primeira manifestação clínica ( $p=0,040$ ) (OR= 3,080; IC=1,124-9,732), tempo de diagnóstico ( $p=0,044$ ) (OR=2,742; IC= 1,047-7,969), doença digestiva ( $p=0,010$ ) (OR= 3,942; IC= 1,416-12,600), IP ( $p=0,010$ ); SA - IP ( $p=0,011$ ) (OR= 2,982; IC= 1,322-6,657); grupos – tempo de diagnóstico ( $p=0,002$ ), primeira manifestação clínica ( $p=0,011$ ) (OR= 0,059 para grupo de pacientes sem bactérias; IC= 0,003-0,362), IP ( $p<0,001$ ) (OR= 0,057 para grupo de pacientes sem bactérias; IC= 0,012-0,212). Considerando mutações no gene CFTR, houve maior gravidade para: PAM - idade ( $p=0,027$ ) (OR= 0,338; IC= 0,132-0,834), Bhalla ( $p=0,005$ ) (maior na presença), Shwachman ( $p=0,038$ ) (menor na presença), VEF1% ( $p=0,046$ ), VEF1/CVF ( $p=0,017$ ), FEF25-75% ( $p=0,001$ ) (espirometria menor na presença); PANM – Bhalla ( $p=0,029$ ) (maior na presença), CVF% ( $p=0,032$ ), VEF1% ( $p=0,005$ ), VEF1/CVF ( $p=0,001$ ), FEF25-75% ( $p=0,002$ ) (espirometria menor na presença); AX - primeira PANM ( $p=0,007$ ) (OR= 0,149; IC= 0,030-0,587), Kanga ( $p=0,008$ ) (maior na presença); BC - primeira PANM (OR= 0,173; IC= 0,04-0,609), SpO<sub>2</sub> ( $p=0,035$ ) (menor na presença); SA – CVF% ( $p=0,011$ ), VEF1% ( $p=0,042$ ) (espirometria maior na presença); grupos – age ( $p=0,014$ ) [uma bactéria - OR=3,169 (IC= 1,013-11,93) e duas bactérias - OR= 4,408 (IC= 1,343-17,24)], SpO<sub>2</sub> ( $p=0,020$ ), Bhalla ( $p=0,018$ ), Kanga ( $p=0,049$ ), VEF1% ( $p=0,019$ ), VEF1/CVF ( $p=0,014$ ), FEF25-75% ( $p=0,015$ ) (SpO<sub>2</sub>, escores e espirometria menores quanto maior número de bactérias). Conclusão: A presença de bactérias causa maior gravidade clínica nos pacientes com FC, e esta depende dos diferentes microrganismos atuantes na infecção, bem como diversidade e interação entre os mesmos. Palavras chave: fibrose cística, bactéria, infecção, variabilidade, CFTR

**(14.40) DETERMINAÇÃO DA INTERAÇÃO DE MICRORGANISMOS EM PACIENTES COM FIBROSE CÍSTICA PELA FERRAMENTA MULTIFACTOR DEMENSIONALITY REDUCTION.**

*Marson, Fernando Augusto; Bertuzzo, Carmen Silvia; Levy, Carlos Emilio; Ribeiro, Antônio Fernando; Ribeiro, José Dirceu;*

**Introdução:** A fibrose cística (FC) apresenta como principal causa de morbidade e mortalidade a doença pulmonar obstrutiva crônica. Pacientes com FC inicialmente apresentam um processo inflamatório pulmonar, e a posterior, colonização/infecção pulmonar crônica por diferentes microrganismos patogênicos oportunistas que acarretam na redução da função pulmonar, expectativa e qualidade de vida, e entender a complexo microbiota pulmonar, e sua associação com a clínica dos pacientes se torna importante. **Objetivo:** Avaliar a interação das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* mucóide (PAM) e não mucóide (PANM), *Staphylococcus aureus* (SA), *Burkholderia cepacia* (BC) e *Achromobacter xylosoxidans* (AX), levando em consideração a identificação de mutações no gene CFTR, por meio de uma ferramenta de bioinformática. **Método:** A identificação bacteriana foi realizada pelo Laboratório de Patologia Clínica. Os dados clínicos foram levantados por meio da análise dos prontuários e entrevistas com os responsáveis. Marcadores clínicos avaliados: sexo, escores clínicos [Shwachman-Kulczycki, Kanga e Bhalla], índice de massa corpórea, idade do paciente, idade ao diagnóstico, primeiros sintomas pulmonares, SpO<sub>2</sub>, espirometria (CVF%, VEF1%, VEF1/CVF, FEF25-75%) e comorbidades (polipose nasal, insuficiência pancreática, íleo meconial, osteoporose e diabetes mellitus). A análise estatística foi realizada pelos softwares MDR versão 2.0 (Multifactor Dimensionality Reduction) e MDRPT versão 0.4.7 (MDR Permutation Test). Os dados numéricos foram classificados em dois grupos pela mediana e os categóricos em presença ou ausência (comorbidades). **Resultados:** O escore de Bhalla foi associado com a interação entre PAM, PANM, SA e o genótipo do gene CFTR ( $p=0,0000 - 0,0001$ ), e o de Shwachman-Kulczycki com a PAM, PANM, AX, BC e o genótipo CFTR ( $0,0500 - 0,0510$ ). Na espirometria a CVF% foi associada com a PAM e o AX ( $p= 0,0340$ ), o VEF1/CVF e o FEF25-75% com PAM, e a PANM ( $p=0,0040 - 0,0050$ ;  $p=0,0030 - 0,0040$ , respectivamente) e o VEF1% com PANM, PAM e a BC ( $p=0,0010 - 0,0020$ ). O tempo de diagnóstico foi associado com a presença das bactérias PAM, PANM, AX, SA, BC e com o genótipo CFTR ( $p=0,0000 - 0,0001$ ), enquanto a idade do paciente com PANM e o genótipo CFTR ( $p=0,0380 - 0,0390$ ), e a primeira manifestação clínica com BC e com o genótipo CFTR ( $p=0,0000 - 0,0010$ ). A influência de múltiplos fatores associados com a gravidade é de significativa importância para o entendimento da fisiopatologia de doenças com expressão fenotípica complexa. Na FC, um dos fatores associados à gravidade é a presença de bactérias colonizando o parênquima pulmonar, porém pouco se sabe sobre a atuação conjunta de diferentes microrganismos na gravidade, e o fator de interação entre eles não é ainda relatado na literatura. **Conclusão:** A interação bacteriana está diretamente relacionada com a gravidade do quadro clínico pulmonar em nossa amostra de pacientes com FC.

**Palavras chave:** bactéria, MDR, infecção, colonização, CFTR, fibrose cística

**(14.41) POLIMORFISMOS DE REPETIÇÃO EM TANDEM NO GENE NOS-1 E 894G>T NO GENE NOS-3 PODEM INFLUENCIAR NA GRAVIDADE DA FIBROSE CÍSTICA?**

*Marson, Fernando Augusto; Bertuzzo, Carmen Silvia; Ribeiro, Antônio Fernando; Ribeiro, José Dirceu;*

Introdução: A fibrose cística (FC) apresenta variabilidade clínica associada a mutações no gene CFTR, fatores ambientais e genes modificadores, incluindo genes associados à síntese do óxido nítrico (fator antimicrobiano), que é liberado pela conversão da L-arginina em L-citrulina, que é catalisado pela enzimas óxido nítrico sintetases, transcritas pelos genes da família NOS. Objetivo: O objetivo do estudo foi comparar a gravidade da FC com polimorfismos de repetição em tandem, em regiões intrônicas do gene NOS-1 (AAT, TG1 e TG2) e o polimorfismo -894G>T no NOS-3 considerando as mutações no gene CFTR por meio de uma ferramenta de bioinformática, considerando a interação dos fatores genéticos em relação as variáveis clínicas da FC. Foram incluídos 180 pacientes com FC. A PCR para o gene NOS-1 foi realizada com iniciadores marcados com fluorescência FAM para análise no MegaBace1000® e para o NOS-3 por RFLP. Marcadores clínicos: sexo, escores [Shwachman-Kulczycki, Kanga e Bhalla (EB)], índice de massa corpórea, idade, idade ao diagnóstico, primeiros sintomas (digestivo e pulmonar), 1ª colonização pela *Pseudomonas aeruginosa*, colonização por microrganismos [*P. aeruginosa* mucóidee não-mucóide, *Achromobacter xylooxidans* (AX), *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia* (BC)], SpO<sub>2</sub>, espirometria (CVF%, VEF1%, VEF1/CVF, FEF25-75%) e comorbidades (polipose nasal, insuficiência pancreática, íleo meconial, osteoporose e diabetes mellitus). Análise estatística: Exato de Fisher, Mann-Whitney. A interação gênica foi analisada pelos softwares MDR versão 2.0 (Multifactor Dimensionality Reduction) e MDRPT versão 0.4.7 (MDR Permutation Test). Para a análise de interação gênica, os dados numéricos foram classificados em dois grupos pela mediana e os categóricos em presença ou ausência (comorbidades e bactérias). Resultados: Polimorfismo AAT= menor número de repetições para o alelo 1 ( $\leq 10$ ) associado com menor FEF25-75% ( $p= 0,027$ ) e frequência do AX ( $p= 0,044$ ). Menor número de repetições ( $\leq 13$ ) no alelo 2 associado com maior frequência do íleo meconial ( $p= 0,045$ ). Polimorfismo TG1= menor número de repetições para o alelo 1 ( $\leq 17$ ) associou-se com menor VEF1% ( $p= 0,045$ ), início tardio da doença pulmonar ( $p= 0,036$ ) e maior frequência de osteoporose ( $p= 0,019$ ). TG2= menor número de repetições no alelo 2 ( $\leq 30$ ) associado com menor frequência do diabetes mellitus ( $p= 0,01$ ) e da BC ( $p= 0,026$ ) e maior VEF1/CVF ( $p= 0,05$ ). O alelo T para o polimorfismo 894G>T foi associado ao início precoce da doença pulmonar ( $p= 0,042$ ). Houve interação gênica entre o polimorfismo TG1 e TG2 no gene NOS-1 (para os alelos de menor repetição), com mutações no CFTR, e o EB, que mede o grau de comprometimento da estrutura broncopulmonar ( $p= 0,0328$ ), sendo importante marcador da doença pulmonar inicial, por ser um escore tomográfico. Conclusão: Polimorfismos no gene NOS-1 e NOS-3 influenciam na gravidade da FC.

Palavras chave: NOS-1, CFTR, Fibrose Cística, Genótipo, Fenótipo

**(14.42) A SALINA HIPERTÔNICA É UMA FERRAMENTA ÚTIL PARA A IDENTIFICAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS VIAS AERÍFERAS NA FIBROSE CÍSTICA?**

*Ferreira, Adriana Carolina; Marson, Fernando Augusto; Cohen, Milena Antonelli; Bertuzzo, Carmen Silvia; Levy, Carlos Emilio; Toro, Adyleia Aparecida; Ribeiro, Antônio Fernando;*

**Objetivo:** A detecção eficiente de microrganismos nas vias aeríferas dos pacientes com fibrose cística (FC) permite terapia antibiótico específica, melhor atendimento ambulatorial e, conseqüentemente, preservação da função pulmonar. Métodos para melhorar a identificação de bactérias têm sido estudados. O papel da solução salina hipertônica (SSH) na coleta de escarro para identificação de bactérias, ainda não está claro, assim, o objetivo do estudo foi comparar a presença qualitativa e semi-quantitativa de microrganismos na secreção pulmonar de pacientes com FC, antes e após a inalação com SSH a 7%. **Método:** O estudo envolveu 64 pacientes com FC com diagnóstico pelo teste do sódio e cloro no suor alterado e identificação de duas mutações no gene CFTR (F508del, R1162X, G542X, 3120 +1 G> T, 622-2A> T, I507V, R553X, I618T, N1303K, 1717-1G>A e 2184insA). Todos os pacientes realizaram a inalação com SSH a 7%, depois da inalação com broncodilatador. Variáveis clínicas incluídas: sexo, etnia, escores de gravidade (Bhalla e Shwachman-Kulczycki), espirometria, índice de massa corporal e idade. **Resultados:** Dos 64 pacientes, sexo feminino: 34 (53,1%), caucasianos: 54 (88,5%), idade média de 12,11 ( $\pm 5,12$ ) anos. Nenhum efeito colateral foi observado devido a SSH a 7%. Da análise microbiológica total realizada (704 amostras antes e depois da SSH a 7%), não houve diferença entre os resultados positivos, sendo, 101 antes e depois 118 (OR= 0,832, IC= 0,622-1,111). O mesmo foi observado para o número de espécies de microrganismos, sendo inicialmente identificadas sete espécies e depois, 11 espécies ( $p= 0,1895$ ), aumento de quatro espécies diferentes (36,36%). Na análise semi-quantitativa, não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ). Depois da SSH a 7%, 25 novos resultados positivos foram observados e o oposto ocorreu em nove pacientes. **Conclusão:** A SSH a 7% permitiu melhor identificação microbiológica do escarro, pelo número absoluto e em espécies de diferentes microrganismos.

**Palavras chave:** Salina, Fibrose Cística, Diagnóstico, Bactéria

**(14.43) Staphylococcus aureus E Pseudomonas aeruginosa NA FIBROSE CÍSTICA, ANTAGONISTAS?**

*Marson, Fernando Augusto de Lima ; Bertuzzo, Carmen Silvia; Levy, Carlos Emilio; Ribeiro, Antônio Fernando; Ribeiro, José Dirceu;*

Introdução: A principal causa de morbidade e mortalidade na fibrose cística (FC) é a doença pulmonar causada pelo processo inflamatório inicial, e posterior, colonização/infecção por agentes oportunistas, dentre eles o *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. O papel da *P. aeruginosa* na FC é claro, porém sua associação com o *S. aureus* ainda não é bem esclarecida. Objetivo: Verificar a associação de marcadores de gravidade clínica em pacientes com FC com diferentes grupos de pacientes, levando em consideração a presença do *S. aureus* e da *P. aeruginosa*. Método: Foram incluídos 180 pacientes com FC. A identificação bacteriana foi realizada pelo Laboratório de Patologia Clínica. Marcadores clínicos: sexo, escores [Shwachman-Kulczycki, Kanga e Bhalla], índice de massa corpórea, idade, idade ao diagnóstico, primeiros sintomas (digestivo e pulmonar), 1ª colonização pela *Pseudomonas aeruginosa*, colonização por microrganismos, saturação periférica de oxigênio (SpO<sub>2</sub>), espirometria (CVF%, VEF1%, VEF1/CVF, FEF25-75%) e comorbidades (polipose nasal, insuficiência pancreática, íleo meconial, osteoporose e diabetes mellitus). Os pacientes foram divididos em 4 grupos: (a) sem bactérias; (b) apenas *S. aureus*; (c) apenas *P. aeruginosa*; (d) ambas as bactérias. A análise estatística foi realizada pelos testes  $\chi^2$  e Kruskal-Wallis, com comparação para múltiplos grupos. Resultado: No grupo A, sem considerar as mutações no gene CFTR, houve início tardio dos sintomas clínicos pulmonares (OR=0,12; IC=0,018-0,503), diagnóstico em maior idade (OR=0,062; IC=0,003-0,372) e fator de proteção para a insuficiência pancreática (OR=0,011; IC=0,030-0,326). Na prova de função pulmonar e análise de escores, sem considerar as mutações no gene CFTR, pacientes do grupo b tiveram maior SpO<sub>2</sub> que o grupo c e d, e menor escore de Bhalla em comparação aos grupos c e d. Para o escore de Shwachman-Kulczycki, o grupo c apresentou menores valores, demonstrando maior gravidade que os demais pacientes. Para as variáveis espirométricas (CVF%, VEF1%, VEF1/CVF e FEF25-75%) houve menores valores nos pacientes dos grupos c e d, quando comparados aos grupos a e b, sendo nesse contexto, a presença da *P. aeruginosa* associada a redução dos valores da espirometria. Quando consideramos as mutações no gene CFTR (desconsiderando o grupo 1 pelo baixo número de pacientes – apenas a), pacientes do grupo c apresentaram pior CVF%, VEF1% e FEF25-75%, já o VEF1/CVF foi maior no grupo b. Conclusão: Pacientes sem bactérias apresentam melhor clínica que os demais na FC, e na resposta da função pulmonar ocorre a competição entre a *P. aeruginosa* e o *S. aureus*, sendo a resposta diferenciada no grupo de pacientes com a presença de *P. aeruginosa*.

Palavras chave: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, Infecção, Interação, CFTR, Fibrose Cística

**(14.44) FIBROSE CÍSTICA EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA: HOUE MUDANÇAS NO ESTADO CLÍNICO DOS PACIENTES NOS ÚLTIMOS DEZ ANOS?**

*Marson, Fernando Augusto de Lima; Bertuzzo, Carmen Silvia; Ribeiro, Antônio Fernando; Ribeiro, José Dirceu;*

Introdução: Nas últimas três décadas o conhecimento e o manejo da fibrose cística(FC) mudaram substancialmente. Em nosso centro, Alvarez e colaboradores(2004) analisaram as características clínicas e laboratoriais da FC na última década do século 20. Dez anos após, os avanços no tratamento da FC incluíram: acesso mais rápido e mais preciso ao diagnóstico(incluindo a triagem neonatal), ampliação da equipe interdisciplinar e maior disponibilidade da medicação para o manejo da doença pulmonar e pancreática. Objetivo: Avaliar e comparar a evolução clínica dos pacientes com FC em acompanhamento no setor de FC da UNICAMP na última década do século 20 e na primeira década do século 21. Método: Estudo de corte transversal através da análise de prontuários de 181pacientes com FC, atendidos entre 2000 e 2010. Os dados foram comparados com o estudo de Alvarez e colaboradores, que analisaram as mesmas variáveis entre 1990 e 2000. Para a análise descritiva, utilizaram-se os valores de média, mediana e desvio padrão para as variáveis contínuas e frequência absoluta para variáveis discretas. Programas: SPSSv.21.0 e Epi Infov.6.0. Poder estatístico-acima de 80%. Nível de significância( $\alpha$ ) ajustado pela correção de Bonferroni. Marcadores: sexo(masculino/feminino), etnia (caucasóides e não caucasóides), número de óbitos, presença de consanguinidade, manifestações(respiratória/digestiva), início da manifestação, idade do paciente no ano de 2000 e em 2010, idade do diagnóstico, presença de comorbidades (íleo meconial e diabetes mellitus), estado nutricional (peso abaixo do percentil e estatura abaixo do percentil), SaO<sub>2</sub> (maior que 95%, entre 91 e 95% e menor que 91%), dosagem de cloro no suor, presença de microrganismos(*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* mucóide e não mucóide), espirometria(normal, distúrbio ventilatório restritivo, distúrbio ventilatório obstrutivo ou distúrbio ventilatório misto), análise genética (F508del homozigotos, F508del heterozigotos, G542X, N1303K, G551D, R553X e W1282X), escore de Shwachman-Kulczycki e balanço de gordura nas fezes. Resultados: Observou-se aumento da incidência da presença de manifestações clínicas respiratórias e digestivas: presença de insuficiência pancreática, íleo meconial, diabetes mellitus, isolamento de *S. aureus*, *B. cepacia* e aumento no número de pacientes com escore de Shwachman leve, moderado e grave. Houve aumento no número de indivíduos homozigotos para as mutações analisadas, principalmente para indivíduos caracterizados como  $\Delta F508/\Delta F508$ . Houve diminuição da incidência de pais consanguíneos e de indivíduos heterozigotos, redução no número de pacientes abaixo do percentil 10 para o peso e altura e com escore de Shwachman-Kulczycki excelente ou bom, menor número de isolamento da *P. aeruginosa* e redução do número de óbitos. Estas modificações devem-se à diminuição da idade ao diagnóstico. O diagnóstico mais precoce possibilitou melhor vigilância da evolução clínica, prevenção de desnutrição e déficit de crescimento, postergando o início dos sintomas clínicos, controlando a progressão da doença pulmonar e aumentando a expectativa e a qualidade de vida. Conclusão: Nos últimos 10 anos houve diferença significativa nas variáveis clínica e laboratoriais no nosso centro de referência caracterizadas por aumento na expectativa de vida, diagnóstico mais precoce, menor mortalidade com maior idade da população, maior prevalência de homozigoze para as mutações analisadas, maior prevalência de comorbidades e no isolamento de alguns microrganismos, redução na consanguinidade dos pais e piora geral na avaliação clínica pelo escore de Shwachman-Kulczycki. Palavras chave: Epidemiologia, Mutação, Fibrose Cística, CFTR

**(14.45) POLIMORFISMOS NO GENE CLDN1 COMO FATOR DE RISCO AO CÂNCER DE COLORRETAL.**

*Battagin, André Silva; Marson, Fernando Augusto de Lima; Ribeiro, José Dirceu; Bertuzzo, Carmen Silvia;*

Objetivo: No câncer de colorretal (CCR) o papel das junções de oclusão na proliferação celular, incluindo as claudinas, não é bem conhecido, sendo sua expressão aumentada no CCR. Neste contexto, foram analisados quatro polimorfismos no gene CLDN1, que codifica a claudina-1, em pacientes e controles, com o intuito de associar com a presença e a gravidade do CCR. Material e métodos: Foram incluídos 50 pacientes com CCR e 100 controles. Os polimorfismos analisados foram: rs17428833 (-13GàC, 5'UTR), rs72466472 (108CàT, exon 1), rs9869263 (369CàT) e rs140846629 (370GàA, exon 2). Variáveis clínicas: localização do tumor, diferenciação do adenocarcinoma, TNM e Astler-Coller. Análise estatística foi realizada considerando cada polimorfismo isoladamente, grupo para os polimorfismos rs17428833 e rs72466472, e para os rs9869263 e rs140846629, e finalmente, análise considerando todos os polimorfismos ao mesmo tempo. Resultados e discussão: No presente estudo, houve maior risco para a presença do câncer para os genótipos GC e CC, dos polimorfismos rs17428833 e rs72466472, respectivamente, com odds ratio de 3,275 (1,134-8,32) e 3,390 (1,02-15,18); na análise de haplótipo, o agrupamento GC/CCe GG/CT, para os polimorfismos citados, respectivamente, mostrou OR de 3,718 (1,45-10,36) e 0,224 (0,03-0,90). Para o grau de diferenciação do carcinoma, o polimorfismo rs17428833 mostrou maior gravidade com OR de 6,311 (18,35-32). No haplótipo, respectivamente, para o genótipo GC/CC dos polimorfismos rs17428833 e rs72466472, houve OR de 4,648. Conclusão: Os polimorfismos rs17428833 e rs72466472 atuam na presença e gravidade do CCR, sendo o principal fator de atuação o polimorfismo na região 5'UTR.

Palavras chave: CLDN1, Câncer colorretal, Polimorfismo

**(14.46) O POLIMORFISMO RS11362 NO GENE DEFB1 PODE MODULAR A GRAVIDADE NA FIBROSE CÍSTICA?**

*Rezende, Luciana Montes; Marson, Fernando Augusto Lima; Ribeiro, Antonio Fernando; Ribeiro, José Dirceu; Bertuzzo, Carmen Silvia;*

A fibrose cística (FC) é uma doença monogênica comum causada por mutações no gene CFTR (Regulador da Condutância Transmembrana da Fibrose Cística). Pacientes com a mesma mutação no gene CFTR exibem variabilidade clínica, indicando que outros genes possam modificar a gravidade da doença. O gene DEFB1 codifica um pequeno peptídeo catiônico microbicida (beta-defensina 1), expresso nas vias aeríferas do trato respiratório e que participa da resposta imune inata e adaptativa. Este gene é importante para elucidar parte da variabilidade encontrada nos pacientes com FC, os quais apresentam outras importantes comorbidades além da doença inflamatória pulmonar. Foram incluídos no estudo 147 pacientes em seguimento no Ambulatório de Pneumologia Pediátrica (HC-Unicamp). O polimorfismo rs11362 no gene DEFB1 foi genotipado por RFLP-PCR (Restriction Fragments Length Polymorphism-PCR). Uma comparação genotípica foi realizada com 27 variáveis clínicas: sexo, score clínico, IMC (índice de massa corporal), idade, idade ao diagnóstico, sintomas iniciais (digestivo e pulmonar), primeira colonização por *Pseudomonas aeruginosa*, colonização por microrganismos [*P.aeruginosa* mucóide e não mucóide, *Achromobacter xylosoxidans* (AX), *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia* (BC)], saturação de O<sub>2</sub> (SpO<sub>2</sub>), espirometria (VEF1= volume expiratório forçado no primeiro segundo; CVF= capacidade vital forçada; VEF1/CVF; FEF25-75%= fluxo expiratório forçado 25-75% da CVF) e comorbidades (diabetes mellitus, insuficiência pancreática, osteoporose, polipose nasal), considerando as mutações no CFTR. A análise estatística foi realizada pelo software SPSS v.21.0. Os dados foram comparados utilizando o c<sup>2</sup> e Teste Exato de Fisher para variáveis de distribuição categórica e os testes Mann-Whitney e Kruskal-Wallis para variáveis de distribuição numérica. Foram encontradas associações clínicas com as variáveis categóricas: idade [para pacientes com duas mutações no CFTR identificadas (p=0,009)], no qual o genótipo GG foi associado com idade ≤ 24 meses (OR=6,558, CI 95%= 1,850-30,77); VEF1/CVF [sem considerar mutações no CFTR (p=0,010)] e FEF25-75% [sem considerar mutações no CFTR (p=0,029)]. Em conclusão, o polimorfismo rs11362 no gene DEFB1 parece ser um modificador da gravidade clínica da FC na amostra estudada.

Palavras chave: fibrose cística, polimorfismos, DEFB1, CFTR, gene modificador

**(14.47) ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS RS1801133 (677C→T) E RS1801131 (1298A→C) NO GENE MTHFR AO RISCO E GRAVIDADE NO CÂNCER DE MAMA ESPORÁDICO.**

*Rezende, Luciana Montes; Marson, Fernando Augusto Lima; Passos-Lima, Carmen Silvia; Bertuzzo, Carmen Silvia;*

O câncer de mama (CM) é a forma de neoplasia mais diagnosticada e a principal causa de morte por câncer em mulheres em várias partes do mundo. Caracteriza-se como uma doença complexa onde os grupos variam em fatores de risco, história natural, padrões histológicos, moleculares e resposta ao tratamento. Estudos recentes têm associado os polimorfismos rs1801133 (677C→T) e rs1801131 (1298A→C) no gene Methylenetetrahydrofolate Redutase (MTHFR) ao desenvolvimento de câncer em diferentes órgãos, inclusive na mama. Portanto, foi verificada a associação entre a ocorrência de CM esporádico, incluindo as variáveis clínicas, e os polimorfismos C677T e A1298C no gene MTHFR. Foram selecionadas 251 amostras de DNA de mulheres diagnosticadas com CM esporádico do Laboratório de Genética Molecular do Câncer da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) e 227 controles femininos com idade superior a 50 anos e sem história de CM na família. Para a genotipagem foi utilizada a técnica RFLP-PCR (RestrictionFragments Length Polymorphism-PCR). Os resultados foram analisados pelo software SPSS vs 21.0. Empregou-se o teste  $\chi^2$  para averiguar a distribuição dos polimorfismos e, para a diferença no percentual destes, foi calculado o Odds Ratio. No caso de dados com distribuição numérica foram utilizados os teste de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Não foi observada diferença significativa entre os grupos em relação à ocorrência de CM esporádico para os dois polimorfismos (C677T  $p=0,300$ ; A1298C  $p=0,419$ ). Ao associar os genótipos às variáveis clínicas, observou-se que o genótipo CC (polimorfismo C677T) teve menor prevalência no grupo de pacientes caucasóide (OR= 0,22; 95%IC= 0,09 – 0,47); o mesmo genótipo foi associado ao maior risco para metástase (OR= 5.2; 95%IC= 1,045 – 50,45); de fator de risco para estadios de 4 (OR= 8; 95%IC= 1,00 – 365,7); e de proteção para estadios de 2 comparado a estadios de maior gravidade (OR= 0,25 – 0,98). No caso do polimorfismo A1298C, o genótipo CC foi associado a proteção do estádio 0 em relação aos demais (OR= 0,25; 95%IC= 0.06 – 0.84). Para as demais variáveis clínicas, não houve diferença significativa, exceto o estado etilista que foi associado com o polimorfismo C677T, no entanto, vale ressalva que apenas um paciente era etilista e tinha o genótipo TT ( $p= 0,018$ ). Conclusões: Os polimorfismos rs1801133 (677C→T) e rs1801131 (1298A→C) parecem não alterar o risco para o desenvolvimento de CM esporádico, no entanto, podem estar associados com sua gravidade.

Palavras chave: : câncer de mama, polimorfismo, MTHFR, gene modificador

**(14.48) ESTUDO COMPARATIVO ENTRE A EFICÁCIA, SEGURANÇA E FARMACOECONOMIA RELACIONADA A UTILIZAÇÃO DA COLISTINA E POLIMIXINA-B NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES CAUSADAS POR BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES.**

*Lloret, Gustavo Rafaini ; Moriel, Patricia ; Mazzola, Priscila Gava; Falcão, Antonio Luis Eiras;*

**Introdução:** O emergente crescimento dos casos de infecções nosocomiais, especialmente nas Unidades de Terapia Intensiva, causadas por bactérias Gram-negativas multirresistentes (MR), levou a reintrodução do uso das polimixinas no combate a estes patógenos. **Objetivos:** Avaliar o impacto clínico e econômico da utilização da colistina em comparação com a polimixina-b no tratamento de infecções causadas por bactérias MR. **Métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo observacional, com duração de 36 meses, em arquivo eletrônico e prontuários de pacientes internados nas UTI de um hospital universitário. **Resultados:** Um total de 198 pacientes foi incluído no estudo, sendo que 190 (96%) apresentaram exame de cultura positivo para ao menos um microorganismo, representando 255 diferentes culturas isoladas. Secreção traqueal foi a amostra clínica mais frequente, correspondendo a 48,6% dos casos, seguido por sangue (19,6%) e urina (10,2%). Infecções causadas por *A. baumannii* e *P. aeruginosa* foram as mais frequentes, acometendo respectivamente, 34,9% e 19,4% dos pacientes. Nefrotoxicidade foi relatada em 18,2% e 20% dos pacientes tratados com colistina e polimixina-B, respectivamente. A mortalidade de 30 dias observada para ambos os grupos foi similar, sendo de 34,3% para os pacientes que fizeram uso da colistina, e 36,4% para aqueles tratados com polimixina-B. Em apenas 55,5% dos casos houve comprovação microbiológica da sensibilidade bacteriana à polimixina, e nestes, a sobrevida observada foi de 67,3%, sendo de 70,4% para o grupo da colistina e de 62,5% para o grupo da polimixina-B. Resistência a diversos antibióticos foi observada, no entanto, destaca-se a elevada resistência da *A. baumannii* frente a praticamente todos antibióticos testados, com exceção das polimixinas e, em menor escala, gentamicina e amicacina. A utilização da colistina demonstrou ser economicamente mais viável, representando uma economia de cerca de R\$300,00 para cada tratamento realizado, quando comparado com a polimixina-B. **Conclusão:** Ambos antibióticos demonstraram uma efetividade importante e nefrotoxicidade aceitável no tratamento de infecções causadas por cepas MR, sendo que a colistina demonstrou ser um opção economicamente mais barata. A utilização de doses diárias mais elevadas de ambas polimixinas foi associada a uma maior efetividade sem aumento do prejuízo renal, no entanto, maiores informações quanto ao melhor regime terapêutico se fazem necessárias para otimização do tratamento.

**Palavras chave:** Colistina, Polimixina-B, Farmacorresistência Bacteriana, Farmacoeconomia, Análise de Sobrevida, Nefrotoxicidade

**(14.49) EVALUATION OF CYCLOOXIGANASE-2 mRNA EXPRESSION AFTER PTZ-INDUCED SEIZURE IN ADULT AND LARVAE ZEBRAFISH BRAIN.**

*Barbalho, Patricia G; Gomide, Helena M; Nakata, Danielle M; Cendes, Iscia Lopes; Maurer-Morelli, Claudia V;*

Introduction: Epilepsy is a common neurological disorder characterized by recurrent spontaneous seizures that afflicts nearly 50 million people worldwide. Cyclooxygenase-2 (COX-2), a key enzyme that converts arachidonic acid into prostaglandins, is constitutively expressed in the central nervous system (CNS). It has been reported that COX-2 mRNA levels are up-regulated after inflammatory stimulation. Because COX-2 is induced after seizure, it has been suggested that this enzyme can play a role in epilepsy. Zebrafish is now acceptable as a suitable model for seizure studies. Since there are two functional *cox2* genes in the zebrafish brain (*cox2a* and *cox2b*), we have investigated the expression of both genes after pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure. Material and Methods: Adult zebrafish and larvae were maintained according to standard procedures and all experiments were approved by animal ethical committee/UNICAMP. Adult and 7 days post-fertilization larvae (dpf) were separated in seizure (SG) and control (CG) groups. Animals from SG were individually exposed to PTZ 15mM and animals from CG were handled in PTZ-free water. Seizure-like behavior stages were analyzed based on Baraban et al., 2005 and Mussulini et al., 2013. A total of five samples were used for each group and age. Each larvae sample was composed by pooling 20 heads and for each adult sample were used a pool of two brains. At 0.05h after seizure, animals were anesthetized and their heads/brains were collected for total RNA extraction. Reverse transcriptase quantitative-PCR amplifications were carried out in triplicates with *ef1 $\alpha$*  as endogenous controls using TaqMan™ System (Applied Biosystems). The relative quantification (RQ) was calculated by the equation  $RQ = 2^{-\Delta\Delta CT}$ . The latency between animal PTZ exposure and the first seizure behavior were calculated and presented as mean  $\pm$  Standard Error of Mean (SEM). Statistical analysis was performed by Mann-Whitney test ( $p < 0.05$ ) using the GraphPad Prism (Version 5.0, GraphPad Software, Inc.). Results: In seven dpf larvae, *cox-2b* mRNA was increased while *cox-2a* was detected at similar levels to the control group. The mean  $\pm$  SEM of *cox-2a* and *cox-2b* mRNA levels in seven dpf larvae were: (i) *cox-2a*: CG0.05h  $1.2 \pm 0.06$ ; SG0.05h  $1.3 \pm 0.11$  ( $p = 0.27$ ); (ii) *cox-2b*: CG0.05h  $0.93 \pm 0.02$ ; SG0.05h  $1.73 \pm 0.18$  ( $p = 0.004$ ). In adult zebrafish, there was no difference in either *cox-2a* or *cox-2b* mRNA levels compared to control group (figure 5). The mean  $\pm$  SEM of *cox-2a* and *cox-2b* mRNA levels in seven dpf larvae were: (i) *cox-2a*: CG0.05h  $0.75 \pm 0.07$ ; SG0.05h  $0.63 \pm 0.03$  ( $p = 0.15$ ); (ii) *cox-2b*: CG0.05h  $1.07 \pm 0.08$ ; SG0.05h  $1.29 \pm 0.17$  ( $p = 0.21$ ). Conclusion: This is the first study investigating the *cox-2* response after seizure-induced in zebrafish. Our results revealed that *cox2a* and *cox2b* genes have differential mRNA expression response after PTZ-induced seizure. *Cox2b*, but not *cox2a* mRNA level, is upregulated after seizure in zebrafish larvae and no differences are found in adult zebrafish brain. There is a structural difference between *cox-2a* and *cox-2b* genes suggesting that zebrafish *cox2b* is more similar than is *cox-2a* from mammalian *Cox-2*, which can explain our results. Support: FAPESP CEPID/BRAINN

Palavras chave: Zebrafish; pentylenetetrazole; seizure; cyclooxygenase-2.

**(14.50) INDOMETHACIN TREATMENT PRIOR TO PTZ-INDUCED SEIZURE PROMOTES DOWN-REGULATION IN INTERLEUKIN-1 BETA TRANSCRIPT LEVELS AND DECREASES EPILEPSY-LIKE BEHAVIOR IN ZEBRAFISH LARVAE.**

*Barbalho, Patricia G; Gomide, Helena M; Nakata, Danielle M; Cendes, Iscia Lopes; Maurer-Morelli, Claudia V;*

Introduction: Epilepsy is a common neurological disorder characterized by recurrent spontaneous seizures that afflicts nearly 50 million people worldwide. Experimental and clinical findings have shown that seizures increase the release of interleukin-1 beta (il1b), a proinflammatory cytokine. These findings suggest that neuroinflammatory response may play an important role in the pathophysiology of epilepsy. Pharmacological inhibition of inflammatory signaling represents a strategy to investigate the role of il1b. In this sense, we evaluated the effect of indomethacin, a nonsteroidal anti-inflammatory drug, prior to pentylenetetrazole (PTZ)-induced seizure on il1b mRNA expression, latency onset and number of seizure-like behavior in the zebrafish seizure model. Material and Methods: Wild-type zebrafish were maintained according to standard procedures and all experiments were approved by animal ethical committee/UNICAMP. Seven days post-fertilization (dpf) zebrafish larvae were separated in Seizure (SG) and Control (CG) groups and six dpf larvae were separated in Seizure + indomethacin (SG+Indo.) and Control+indomethacin (CG+indo) groups. Animals from SG group with 7dpf were individually exposed to Pentylenetetrazol (PTZ) 15mM for 20min. Animals from CG were exposed to same handling condition, but in PTZ-free water. At 6 dpf, zebrafish larvae were incubated in indomethacin solution (110µg/ml) in Petri dishes for 24 hours and after that, they were exposed to 15mM PTZ as described above. Seizure-like behavior and seizure onset latency were analyzed during PTZ exposure. A pool of 20 heads was used to compose a single larvae sample (n=5 each group). After the PTZ exposure (0.05h), animals were cricoanesthetized and their heads were immediately isolated, frozen in N2(L) and total RNA extracted by standard protocol using Trizol (Invitrogen). Reverse transcriptase quantitative-PCR amplifications were carried out in triplicates with ef1α as endogenous controls using TaqMan™ System (Applied Biosystems). The relative quantification (RQ) was calculated by the equation  $RQ=2^{-\Delta\Delta CT}$ . Latency and RQ are represented as mean ± Standard Error of Mean (SEM) and were analyzed by Mann Whitney test using GraphPad Prism (Version 5.0, GraphPad Software, Inc.). Statistical significance was considered when a  $p<0.05$ . Results: Our results showed that indomethacin treatment prior to PTZ exposure significantly down-regulated the il1b transcript levels in zebrafish larvae. The mean ± SEM of il1b mRNA levels were: (i) CG0.05h  $1.65 \pm 0.41$ ; SG0.05h  $3.19 \pm 0.66$  ( $p=0.02$ ); and (ii) CG+indo0.05h  $0.70 \pm 0.08$ ; SG+indo0.05h  $0.45 \pm 0.03$  ( $p=0.02$ ). Interestingly, when exposed to PTZ, animals pretreated with indomethacin showed longer latency to seizure onset: (i) SG+indo:  $4.6 \pm 0.33$ ; and (ii) SG:  $2.92 \pm 0.17$  ( $p=0.0004$ ). The SG+indo presented less number of seizure-like behavior response compared with SG ( $p=0.0032$ ). The mean ± SEM of numbers of seizure behavior observed during 20 minutes of PTZ exposure were: (i)SG+indo:  $11.2 \pm 1.5$ ; and (ii) SG:  $38.16 \pm 4.5$ . Conclusion: Our results suggest that zebrafish have a very close response with rodent models, supporting evidence that this little fish is a valuable model for further investigations of the main role of inflammation in seizure as well as a valuable model for anti-inflammatory screening of compounds that are potentially therapeutic for seizures. Support: FAPESP/ CEPID-BRAINN

Palavras chave: Zebrafish; seizure; pentylenetetrazole; interleukin-1 beta; indomethacin

**(14.51) ASSOCIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS -514C>T E -250G>A DO GENE LIPC COM AS CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS, TAMANHO E VOLUME DA HDL EM UMA AMOSTRA POPULACIONAL BRASILEIRA.**

*Vieira, Isabela Calanca; Zago, Vanessa Helana de Souza; Parra, Eliane Soler; Panzoldo, Natália Baratella; Virgínio, Vítor Wilson de Moura; Vendrame, Felipe ; Quintão, Éder Carlos Rocha ; Scherrer, Daniel Zanetti; de Faria, Eliana Cotta;*

**Objetivos:** A lipase hepática (LH) desempenha um papel fundamental no metabolismo das lipoproteínas plasmáticas, modificando sua concentração, bem como as suas propriedades físico-químicas. Este estudo teve como objetivo investigar as relações dos SNPs -514C>T (rs1800588) e -250G>A (rs2070895) do gene LIPC com determinantes clínicos e bioquímicos de uma população brasileira representativa (n=303). **Métodos:** Foram estudados voluntários normolipidêmicos assintomáticos (Mulheres= 153, Homens= 150; 19-75 anos). O DNA genômico foi extraído utilizando técnicas padronizadas a partir de sangue periférico e os SNPs foram detectados por TaqMan® SNP OpenArray® Genotyping Platform (Applied Biosystems). Colesterol plasmático (C), triglicérides e HDL-C foram determinados em sistema automatizado Modular Analytics EVO P (Roche). O tamanho das partículas de HDL-C foram mensuradas no equipamento Nanotracc particle size analyzer (Microtrac, USA). A atividade da lipoproteína lipase (LPL) e da LH foi avaliada por método radiométrico em amostras de plasma pós-heparina. A massa da proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP) foi determinada por meio de ensaio imunoenzimático. **Resultados:** Análises comparativas entre GG (n=124) e GA+AA (n=161) do SNP -250G>A demonstraram que, na presença do alelo A ocorre um aumento significativo (p<0.05) em HDL-C (GG, 54±21; GA+AA, 60±22 mg/dL), assim como no tamanho da partícula (GG, 7.8±0.6; GA+AA, 8±0 nm) e em seu volume (GG, 142±35, GA+AA, 151±35 µ3) além da diminuição de 17% na atividade da LH (GG, 6844±4092; GA+AA, 5657±3564 (nmoles PL/mL/h); p=0.007). A presença do alelo T do SNP -514C>T (CC, n=129; CT+TT, n=158) está associado significativamente (p<0.05) com o aumento das concentrações de HDL-C (CC, 54±22; CT+TT, 60±22), tamanho (CC, 7.8±0.6; CT+TT, 8±0.6) e volume de HDL (CC, 142±35; CT+TT, 151±35). Houve aumento de 6% na PLTP massa (CC, 6.18±1.47; CT+TT, 6.57±1.39 ug/mLp=0.04), assim como a diminuição da atividade da LH (CC, 6787±4056; CT+TT, 5658±3583; p=0.009). **Conclusão:** Os polimorfismos -514C>T (rs1800588) e -250G>A (rs2070895) no gene LIPC conferem efeitos metabólicos antiaterogênicos nesta amostra populacional.

**Palavras chave:** Lipase hepática, LIPC, -514C>T, -250G>A, HDL-C

**(14.52) IDENTIFICAÇÃO DE *Pneumocystis jirovecii* A PARTIR DE AMOSTRAS CLÍNICAS PELA TÉCNICA DE LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP).**

*Érivan Olinda Ribeiro<sup>1</sup>, Ana Isabela Morsch Passos<sup>1</sup>, Ariane Fidelis Busso Lopes<sup>1</sup>, Luzia Lyra<sup>2</sup>, Plínio Trabasso<sup>1</sup>, Angélica Zaninelli Schreiber<sup>2</sup>, Maria Luiza Moretti<sup>1</sup>*

As pneumonias causadas por *Pneumocystis jirovecii* (PJP) são uma importante causa de morbidade e mortalidade em pacientes imunossuprimidos, especialmente em indivíduos infectados pelo vírus HIV. Esse patógeno não apresenta crescimento *in vitro* e o diagnóstico é baseado no exame microscópico dos espécimes clínicos, o que possui baixa sensibilidade. Nesse contexto, as técnicas moleculares são uma ferramenta promissora para a identificação do agente diretamente das amostras clínicas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a técnica de LAMP (Loop Mediated Isothermal Amplification) para identificação de *P. jirovecii* a partir de amostras clínicas pulmonares. Foram obtidas 9 amostras de escarro e 2 lavados brônquio-alveolares (LBA) de 11 pacientes com suspeita de infecção pulmonar fúngica portadores do vírus HIV e admitidos no Hospital de Clínicas, Unicamp, Campinas. Os prováveis diagnósticos com base nas análises clínicas e laboratoriais para os pacientes incluídos foram: PJP (N=3), pneumonia adquirida na comunidade + PJP (N=1), fungo filamentososo + PJP (N=1), infecção respiratória baixa (N=3) e sem diagnóstico definido (N=3). Somente uma amostra de LBA apresentou *P. jirovecii* na análise microscópica direta. A extração de DNA foi realizada com o QIAamp DNA Mini kit (Qiagen). As reações de LAMP para detecção de *P. jirovecii* foram realizadas com o kit LoopAmp DNA Amplification (Eiken Chemical) no equipamento LoopAmp Turbidimeter (EXIA). Controles positivos (amostra de LBA com *P. jirovecii* identificado na microscopia) e negativos (DNA de *Aspergillus fumigatus*) foram incluídos em todas as reações. Os testes foram realizados em duplicata. Entre as 11 amostras avaliadas, um LBA e dois escarros apresentaram amplificação de DNA de *P. jirovecii* pela técnica de LAMP (27,3%). Dois pacientes com reação positiva foram diagnosticados como PJP e um não possui diagnóstico definido. Um dos casos positivo para *P. jirovecii* no LAMP e diagnosticado como PJP havia apresentado o patógeno na análise microscópica (amostra 31). Embora mais amostras devam ser incluídas para avaliar a aplicabilidade da técnica de LAMP no diagnóstico de *P. jirovecii* a partir de amostras clínicas, essa metodologia demonstrou sucesso na amplificação do fungo em amostras de escarro e LBA. Esses resultados são promissores, uma vez que a técnica de LAMP apresenta baixo custo, rapidez na realização e alta especificidade, permitindo o diagnóstico precoce e manejo adequado dos pacientes.

Apoio financeiro: FAPESP 2012/5118-0 e JICA/JST/SATREPS/UNICAMP 02P-29548-09

Palavras chave: *Pneumocystis jirovecii*, LAMP, Identificação molecular, Pneumonia, Lavado brônquio-alveolar, Escarro

**(14.53) IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS PATOGENICOS PELO SEQUENCIAMENTO DO DNA A PARTIR DE FRASCOS DE HEMOCULTURAS OBTIDOS DE PACIENTES INTERNADOS NO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNICAMP.**

*Sturaro, Laís Lovison; Busso-Lopes, Ariane Fidelis; Lyra, Luzia; Schreiber, Angélica Zaninelli; Moretti, Maria Luiza ;*

Infecções fúngicas invasivas estão relacionadas à mortalidade em pacientes imunocomprometidos. O diagnóstico das fungemias é feito principalmente pelo crescimento do fungo em hemoculturas. Essa técnica permite a identificação do agente somente em 50% dos pacientes infectados, além de exigir um período longo para identificação de alguns fungos, prejudicando o manejo adequado dos pacientes. Nesse contexto, as metodologias moleculares surgem como uma potencial ferramenta para o diagnóstico rápido e preciso do agente etiológico diretamente do material clínico, facilitando a prescrição do tratamento adequado para cada paciente. O objetivo desse trabalho foi verificar a aplicação da técnica de sequenciamento como uma ferramenta rápida e precisa para identificação fúngica diretamente de frascos de hemocultura. Foram selecionados 50 tubos de hemocultura positivos para fungos pelo equipamento BacT/ALERT (Biomérieux) provenientes do Laboratório de Microbiologia do Hospital de Clínicas - Unicamp. A identificação foi realizada por análises morfológicas e pelo equipamento Vitek 2® (Biomérieux) com seguintes resultados: 9 *Candida krusei*, 11 *C. albicans*, 3 *C. glabrata*, 3 *C. dubliniensis*, 3 *C. tropicalis*, 1 *C. parapsilosis*, 1 *C. lusitanae*, 14 *Cryptococcus neoformans*, 1 *Histoplasma capsulatum*, 1 *Saccharomyces cerevisiae*, 1 *Rhodotorula sp.* e 2 *Fusarium sp.*. Como controle negativo das reações, foram incluídos no estudo 30 tubos de hemocultura encerrados como negativos. O DNA foi extraído diretamente dos frascos utilizando o kit High Pure PCR Template Preparation (Roche) e as amostras foram submetidas ao sequenciamento da região ITS do DNA ribossomal fúngico com os iniciadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e o kit Big Dye Terminator (Applied Biosystems). As sequências foram alinhadas no software ATSQ (Japan Software Inc.) e a homologia com outras sequências do banco de dados foi avaliada com a ferramenta BLAST. Observou-se 100% de concordância entre a identificação fúngica realizada pelo sequenciamento de DNA e a análise microbiológica convencional. Três frascos de hemocultura classificados pelas técnicas convencionais somente ao nível de gênero puderam ser identificados quanto à espécie pelo sequenciamento: uma *Rhodotorula mucilaginosa* e dois *Fusarium solani*. Entre os 30 frascos negativos, um apresentou DNA do fungo ambiental *Cladosporium sp.* na análise de sequenciamento, provavelmente uma contaminação durante a coleta ou processamento. Nesse trabalho, os resultados microbiológicos convencionais dos fungos identificados nos frascos de hemocultura foram concordantes com os resultados do sequenciamento. Esses dados demonstram a relevância das ferramentas moleculares para identificação fúngica diretamente de amostras clínicas e mostra-se útil em casos onde a rapidez e identificação precisa são cruciais para garantir a sobrevivência do paciente.

Apoio financeiro: FAPESP 2012/5118-0 e JICA/JST/SATREPS/UNICAMP 02P-29548-09

Palavras chave: Sequenciamento, Infecção fúngica, Extração de DNA, Hemocultura

**(14.54) “DIAGNÓSTICO DE *Pneumocystis jirovecii* ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PCR E NESTED-PCR EM AMOSTRAS DE ESCARRO, LAVADO BRONCO ALVEOLAR, SANGUE, SORO E PLASMA DE PACIENTES DO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UNICAMP”.**

*Santos, Cristina Rodrigues; de Assis, Ângela Maria; Luz, Edson Aparecido; Lyra, Luzia ; Toro, Ivan Felizardo ; Seabra, José Cláudio Te; Daldin, Dira Helena; Marcalto, Tathiane Ubara; Galasso, Marcos Theóphilo; Macedo, Ronaldo Ferreira; Schreiber, Angélica Zaninelli; Aoki, Francisco Hideo;*

A pneumonia por *Pneumocystis jirovecii* (PCP) é uma infecção oportunista causada por um fungo e afeta tanto pacientes com HIV/AIDS como também com outras causas de imunossupressão. Por décadas, os métodos laboratoriais padrões para diagnóstico da PCP foi a visualização do *Pneumocystis jirovecii* pela microscopia através de várias técnicas, geralmente, em amostras pulmonares. Atualmente a reação em cadeia da polimerase (PCR) aumentou a sensibilidade e especificidade da detecção do *Pneumocystis*. O objetivo desse trabalho foi de detectar o *Pneumocystis jirovecii*, através da PCR e Nested-PCR, de amostras de lavado bronco alveolar, sangue, plasma, soro e escarro de pacientes com suspeita de pneumocistose ou doença pulmonar com diagnóstico inconclusivo. Os pacientes dessa pesquisa foram atendidos no Hospital das Clínicas da UNICAMP e foram coletadas 139 amostras para pesquisa de *Pneumocystis jirovecii*. As amostras foram coletadas entre janeiro de 2012 e setembro de 2013. Utilizamos um método de extração de DNA in house e PCR ( com os primers PAZ-H/E) seguida de Nested-PCR (com os primers PAZ-X/Y) para detecção do fragmento genético do *Pneumocystis jirovecii* e lâminas coradas pela técnica de azul de toluidina para visualização microscópica dos cistos. De 139 amostras, o fragmento alvo de DNA do *P. jirovecii* foi detectado em 6 amostras pela técnica de PCR (4%) e em 91 amostras (65%) pela técnica de Nested-PCR. Os cistos de *Pneumocystis jirovecii* foram visualizados, através da técnica de coloração em lâmina com azul de toluidina, em 3 amostras pulmonares (2%), essas mesmas amostras também foram positivas na PCR convencional. Desse modo, a Nested-PCR demonstrou alta sensibilidade na detecção do *Pneumocystis jirovecii* quando comparada com a técnica de PCR. O DNA do *Pneumocystis jirovecii* foi detectado em mais da metade dos pacientes, dados semelhantes à população de outros países tropicais.

No entanto, uma pessoa infectada com *Pneumocystis jirovecii* nem sempre desenvolve uma pneumonia causada por esse microrganismo, portanto, é recomendável que os resultados de uma PCR sejam comparados com o estado clínico e exames laboratoriais para definir um diagnóstico de pneumocistose. Uma vez que, nos casos de infecção por *Pneumocystis jirovecii* em pacientes assintomáticos, um tratamento profilático, por exemplo, pode auxiliar tanto na prevenção da doença quanto evitar a transmissão desse agente. Palavras chave: *Pneumocystis jirovecii*, PCR, Nested-PCR

**(14.55) CARACTERIZAÇÃO DE LIPÍDIOS POR ESI-HRMS EM LINHAGENS DE NEOPLASIAS PARA PROSPECÇÃO DE BIOMARCADORES.**

*Meurer, Eduardo C. ; Porcari, Andréia ; Bataglion, Giovana A.; Franchi Jr., Gilberto Carlos; Fornazin, Marcia C.; Spago, Maria C.; Pinheiro, Vitoria R. P.; Nowill, Alexandre E.; Lima, Pedro O. C.; Eberlin, Marcos N.;*

Introdução: Na década de noventa iniciou-se o interesse da comunidade científica pela caracterização dos perfis de metabólitos de fosfolipídios em tumores sólidos por ressonância magnética (MRS) (Negendank W. 1992 e Podo F. 1999), o que resultou na identificação de novos indicadores de progressão tumoral in vivo em modelos pré-clínicos. Dentre esses potenciais marcadores, a fosfatidilcolina tem sua expressão aumentada em células neoplásicas, sugerindo a possibilidade da utilização de enzimas envolvidas no metabolismo da colina como alvo terapêutico (Ackerstaff E. 2003 e Podo F. 2010). Portanto, a análise detalhada do perfil lipídico dos tumores tem o potencial de estabelecer as bases experimentais para o desenvolvimento de novas terapias antineoplásicas. Objetivo: O objetivo deste trabalho foi determinar o perfil lipídico de 27 linhagens de neoplasias linfóides e mielóides por Espectrometria de Massas de Alta Resolução (HRMS). Materiais e métodos: Este experimento foi realizado utilizando-se linhagens celulares humanas: (i) de leucemia: K562, KG1, HL-60, 697, NALM-27, NALM-30, NALM-6, REH, RS-4, CEM, Jurkat, MOLT-4, P39, B15, 207, REX; (ii) de linfoma: NAMALWA, RAJI, RAMOS, KARPAS, U937; (iii) derivadas de linfócitos imortalizados in vitro: L156, L388, L461, L509 e as linhagens linfóides murinas: YAC-1 e BaF3. As células foram cultivadas em meio RPMI1640 (sigma R6504) suplementado com 10% SFB (Gibco 16000-044) em estufa com temperatura controlada à 37°C e atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram contadas e lavadas uma vez com água desmineralizada. Após a centrifugação, o pellet de células foi ressuspensão em 1 ml de água e dividido em 5 tubos tipo eppendorf. A extração de lipídios é muito eficiente com metanol, assim utilizamos 50µL das células ressuspensas em água desmineralizada e 1 mL de metanol grau HPLC (Sigma-Aldrich 34860S) que foram agitados. 10 µL do sobrenadante (extrato) foi injetado em um equipamento da marca LECO Citius LC-HRT high-resolution TOF-MS (LECO Corporation, St. Joseph, Michigan) de resolução TOF de 100.000. A caracterização imunofenotípica de cada linhagem foi confeccionada por citometria de fluxo no equipamento FACs CANTO (Becton Dickinson, Mountain View, CA), utilizando o programa DIVA (Becton Dickinson). As amostras foram incubadas com anticorpos monoclonais conjugados com diversos fluoro cromos (Fitc, PE, PE-Cy5, PE-Cy7, APC e APC-Cy7), específicos para os seguintes marcadores: CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD13, CD14, CD19, CD20, CD22, CD33, CD38, D45, CD127, e MHC de classe I/II. Resultados: Pudemos observar que todos os tipos de células analisadas possuem um perfil lipídico distinto, com uma tendência das células tumorais mais agressivas a apresentarem perfis de lipídeos menos ricos. As principais classes de lipídeos foram as fosfatidilcolinas e os triacilgliceróis. Conclusão: A técnica de HRMS se mostrou muito promissora para tipificação de linhagens de neoplasias. Uma aplicação futura deste trabalho seria a utilização da informação sobre a abundância relativa dos lipídeos para controle de qualidade de linhagens celulares utilizadas em modelos experimentais e no auxílio diagnóstico de leucemia e linfoma.

Palavras chave: espectrometria de massa, fosfatidilcolina, câncer, leucemia, linhagens

**(14.56) EFEITO SINÉRGICO IN VITRO ENTRE DOXORRUBICINA E SINVASTATINA EM LINHAGENS DE CÉLULAS TUMORAIS MAMÁRIAS.**

*Franchi Jr., Gilberto C.; Casseb, Raphael F.; Souza, Valeria B.; Souza, Philipi; Renno, Andre; Vassallo, Jose; Rocha, Raphael M.; Soares, Fernando; Nowill, Alexandre E.; Schenka, Andre A.;*

**INTRODUÇÃO:** Combinações de droga têm sido utilizadas para o tratamento de doenças e redução do sofrimento. A ciência de isolamento e de síntese química e a capacidade de combinações de drogas têm proporcionado uma contínua ampliação do arsenal terapêutico. Tentativas foram feitas ao longo do século passado para medir quantitativamente as relações dose-efeito de cada droga por si só e suas combinações culminantes em um efeito sinérgico e antagônico (Chou TC – 2006). Excluindo-se o câncer de pele, o câncer de mama é a neoplasia maligna mais comum entre as mulheres nos Estados Unidos, e a segunda principal causa de morte por câncer entre as mulheres (DeSantis C – 2011) Portanto, novas combinações de drogas ou terapias são necessárias para aumentar a sobrevida e minimizar a toxicidade (Yan Ma – 2014). Para tratar o câncer de mama utilizam-se quimioterápicos antracíclicos como a Doxorubicina (DOX). A resposta à quimioterapia é um fator preditivo de sobrevida livre de doença e global (Bonadonna G-1998) As Estatinas são inibidores competitivos da 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMG-CoA), enzima que limita a velocidade de conversão de HMG-CoA para Ácido Mevalônico (MA). MA é o precursor na biossíntese de compostos isoprenóides, incluindo colesterol e ubiquinona, e por isso são usados no tratamento de dislipidemia (Witztum, J. L. – 1997). Estudos de Campbell (2006) observaram que a Sinvastatina (SVT), pode ser promissora no tratamento de neoplasias mamárias. **OBJETIVO:** Este trabalho teve o objetivo de identificar um efeito sinérgico in vitro entre Sinvastatina e Doxorubicina sobre três tipos diferentes de linhagens de câncer de mama. **MATERIAIS E METODOS:** As linhagens de adenocarcinomas de mama MCF7, MACL1 e MGS03 foram cultivadas com DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino em frasco de 175 cm<sup>2</sup>, em estufa na atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C e 95% de umidade. As linhagens foram liberadas do frasco de cultura usando Tripsina e a viabilidade celular foi analisada por corante azul de tripano. Todas as células e as sete concentrações de drogas foram automaticamente dispostas em placas de 96 wells (costar 3495) usando o equipamento automatizado epMotion® 5070. Após 72hs de incubação, a viabilidade celular foi determinada pelo ensaio MTT (Sigma M2128) segundo T. Mosman-1982 para medida da densidade óptica obtida por espectrofotometria a 570 nm (Bio-Tek de Energia das Ondas XS). Os resultados foram calculados pelo programa CalcuSyn (Biosoft – 2009) para determinar o índice de combinação (CI) segundo Ting-Chao Chou (2010), determina-se o efeito aditivo (CI = 1), sinérgico (CI < 1) ou antagônico (CI > 1). O CI é definido para efeitos específicos, como por exemplo, para uma dose efetiva de 50% (ED50). Neste caso estaríamos falando de um CI50. O valor de CI normalmente é diferente para diferentes doses efetivas. Em termos práticos, isso quer dizer que podemos observar efeito sinérgico para um dado efeito de uma mistura, e um efeito antagônico em outro nível de efeito da mesma mistura. **RESULTADOS:** O programa CalcuSyn simula os resultados para muitas concentrações de droga a partir dos valores de dose-efeito encontrados experimentalmente para cada droga isolada e para a mistura. A partir destes resultados, podemos concluir que exposição simultânea à sinvastatina e à doxorubicina produz efeitos sinérgicos em MCF7 para ED50 com CI50 = 0,208 (sinergismo forte); em MGS03 para ED50 com CI50 = 0,938 (sinergismo fraco). Não houve sinergismo para MACL1 (ED50 com CI50 = 2,890 – efeito antagônico). **CONCLUSÃO:** Embora nenhum modelo in vitro seja absolutamente preditivo para a atividade clínica e a administração simultânea de Sinvastatina e Doxorubicina na prática clínica é possíveis estamos desenvolvendo estudos pré-clínicos que avaliarão a combinação de Sinvastatina e quimioterápicos em camundongos com câncer de mama.

Palavras chave: sinergismo, câncer, mama, sinvastatina, doxorubicina

**(14.57) SINVASTATINA COMO MEDICAMENTO OFF-LABEL PARA GLIOBLASTOMA.**

*Souza, Valeria B.; Franchi Jr., Gilberto C.; Souza, Philipi; Renno, Andre; Nowill, Alexandre E.; Schenka, Andre A.;*

**INTRODUÇÃO:** Segundo a American Cancer society, medicamentos de uso off-label são aqueles utilizados de uma forma diferente da descrita na bula, ou seja, esta droga pode ser usada para doença, via ou dose diferente da descrita na bula. O uso do medicamento off-label nos EUA não é regulamentado pelo FDA, mas é legal. Observamos no estudo de Campbell (2006), que a Sinvastatina (SVT) é uma droga comumente usada para tratar doenças cardiovasculares, mais especificamente para o tratamento de dislipidemia, e que pode ser promissora no tratamento de neoplasias mamárias. **OBJETIVO:** O presente estudo tem o objetivo de comparar os efeitos citotóxicos da SVT sobre vários tipos de neoplasias usando a tecnologia High-Throughput Screening (HTS). **MATERIAIS E MÉTODOS:** Para a realização deste experimento foi utilizado as linhagens celulares neoplásicas humanas, PC3, MCF7, Ovar, NCI, HOS, HELA, U138MG, U87, U20S, e VW473. Estas células foram automaticamente dispostas em placas de 96 wells e submetidas a diferentes concentrações de drogas usando o equipamento ep-Motion 5070 (pipetting robot Eppendorf AG, Germany). Após 48hs de incubação, a viabilidade celular foi determinada pelo ensaio MTT segundo T. Mosman (1982). Os resultados foram expressos em  $ic_{50}$   $\mu\text{g/mL}$  e comparados com a droga controle Doxorrubicina (DXC) que é comumente usada na clínica oncológica. **RESULTADOS:** Observamos que a SVT inibiu 50% das células U138MG com uma concentração menor ( $0,09\mu\text{g/mL}$ ) que a droga controle DXC ( $0,1609\mu\text{g/mL}$ ). Nota-se que dentre as linhagens testadas, a U138MG foi mais sensível à SVT. A U138MG é um Glioblastoma (GBM) humano (tumor cerebral de alto grau de malignidade) que afeta principalmente adultos entre 45 e 70 anos. Os GBMs estão localizados nos hemisférios cerebrais exatamente na substância branca sub-cortical. Apesar dos tratamentos agressivos como cirurgia, radioterapia e quimioterapia, a sobrevida em humanos pode ser inferior a 12 meses. **CONCLUSÃO:** A sensibilidade observada em U138MG à SVT, nos motiva a usar este dislipidemiante em combinação com os medicamentos utilizados na Neuro-oncológica para investigar, usando HTS, um possível sinergismo em estudos pormenorizados in vitro. Após estes ensaios, selecionaremos a melhor atividade sinérgica para tratar animais Nod Scid inoculados com U139MG para avaliar a sobrevida. Esperamos brevemente testar Sinvastatina como medicamento off-label em camundongos com Glioblastoma.

Palavras chave: High-Throughput Screening, Sinvastatina, Glioblastoma, MTT

**(14.58) TUBB3 Gene and Copy Number Variation analyses in patients with polymicrogyria**

*Gonçalves Mazutti, Marcella ; Rossi Torres, Fabio ; Aguiar de Souza, Daniela ; Guerreiro, Marilisa ; Montenegro, Maria Augusta ; dos Santos, Antonio Carlos ; Terra, Vera Cristina; Sakamoto, Americo Seiki ; Cendes, Fernando ; Lopes Cendes, Iscia ;*

Introduction: Polymicrogyria (PMG) is a malformation of cerebral cortex development characterized by an excessive number of small gyri and abnormal lamination. The severity of PMG symptoms is directly associated to the extension of the malformation and brain region affected. AFF2, TUBA1A, TUBB2B, TUBA8, SRPX2 and WDR62 genes have been described to be associated with different forms of PMG. Previous Sanger sequencing analysis carried out by our group in these genes, failed to identify deleterious variants in a large group of patients with PMG. Recently, mutations in TUBB3, a gene encoding a protein involved with spindle pole organization, have been implicated to the molecular etiology of PMG. In addition, genomic structural variants known as Copy Number Variations (CNV) have been associated with several neurological disorders ranging from psychiatric disorders to malformations of cerebral cortex. Objective: We aimed to search for deleterious variants in the TUBB3 gene and pathogenic CNVs in patients with PMG. Materials and Methods: Mutation screening was performed by polymerase chain reaction (PCR) and Sanger sequencing of the coding region and intron/exon boundaries of TUBB3 gene in a cohort of 27 patients with PMG. Sequencing reactions were carried-out in an ABI3500XL genetic analyzer (Life Technologies Corporation). Missense variants were evaluated by mutation prediction software's such as SIFT, PolyPhen and SNP&Go. Patients with no deleterious variants in TUBB3 gene were submitted to CNV screening with the SNP-array CytoScan HD (Affymetrix). Analyses of CNVs were performed with Chromosome Suite (Affymetrix) software (Affymetrix). To assess the clinical significance of our insertions/deletions findings, we searched all CNVs found in the Database of Genomic Variants (DGV) and The International Standards for Cytogenomic Arrays Consortium (ISCA). Results: Sanger sequencing identified only neutral variants in TUBB3 gene. However, we detected a total of 11 rare CNVs among the 27 patients, including eight gains and four losses. The average size of CNVs found was 277kb, ranging from 113kb to 669kb. Each CNV contains approximately four genes. Potentially pathogenic CNVs, according to DGV and ISCA databases, contained genes involved with N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors (GRIN3A), cell division (HAUS7), centrosome (PCTN), DNA replication (MCM3AP), regulation of dopaminergic signal transduction (PPP3C), collagen (COL6A1, COL6A2) and axon guidance (DCC). Conclusion: TUBB3 gene is not involved with the etiology of PMG in our cohort of patients. We have shown that SNP-array is a powerful tool to identify genetic abnormalities in patients with PMG. In addition, it can point to new candidate genes potentially involved in normal and abnormal cortical development. These results suggested new hypotheses, which can improved diagnosis and contribute to a better understanding of the etiology of PMGs. Supported by: CEPID-FAPESP

Palavras chave: Cortex Malformations, Polymicrogyria, TUBB3 gene, Copy Number Variations

**(14.59) ISOLADO CLÍNICO DE *Candida albicans* RESISTENTE A FLUCONAZOL: IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE MUTAÇÕES NO GENE ERG11.**

*Haddad Peron, Isabela ; Reichert Lima, Franqueline ; Zaninelli Schreiber, Angélica ; Lyra, Luzia ; Busso Lopes, Ariane ; Moretti, Maria Luiza; Siqueira, Lúcia Helena; Kibune Nagasako Vieira da Cruz, Cristiane ;*

As leveduras estão presentes em diversas regiões do corpo humano como integrantes de sua microbiota normal. Quando há um desequilíbrio na relação entre a microbiota e o organismo, essas leveduras podem se tornar patógenos oportunistas e causar infecções superficiais ou sistêmicas conhecidas como candidíases, sendo *C.albicans* a espécie isolada em maior frequência de infecções superficiais e invasivas em diversos sítios anatômicos. A candidíase sistêmica ou visceral apresenta sintomatologia infecciosa localizada e que, em algum período de sua evolução, disseminou-se a outros órgãos por via hematogênica. Determinados fatores predisõem o hospedeiro nesse tipo de disseminação, como doenças que comprometem o sistema imunológico, rupturas de barreiras mecânicas (cateterismo, queimaduras, sondagens). Apesar dos avanços nas intervenções preventivas, no diagnóstico e na terapêutica, infecções fúngicas invasivas têm causado morbidade e mortalidade significativas em pacientes imunocomprometidos. O surgimento de resistência aos antifúngicos em leveduras oferece um excelente exemplo de que a evolução desses micro-organismos teve profundas consequências para a saúde humana. Em adição, os recentes avanços em relação ao conhecimento das bases moleculares da resistência antifúngica, contribuíram para a identificação dos mecanismos responsáveis pela resistência aos antifúngicos em *C.albicans* e outras espécies de *Candida*. O antifúngico azólico Fluconazol, que tem como mecanismo de ação a inibição da síntese de ergosterol, componente essencial da membrana da célula fúngica, é amplamente utilizado para profilaxia e tratamento de infecções causadas por espécies de *Candida*. Enquanto algumas espécies são geneticamente resistentes (*C.krusei*) ou facilmente adquirem resistência (*C.glabrata*) a Fluconazol, não há muitos relatos de resistência em *C.albicans*. Porém, esta levedura possui a capacidade de desenvolver mecanismos de resistência a Fluconazol, dentre estes, as mutações no gene ERG11, responsável pela produção da enzima que atua na biossíntese do ergosterol. O objetivo do estudo foi caracterizar a sequência de nucleotídeos do gene ERG11 de um isolado de *C.albicans* obtido após cultura de escovado esofágico que, quando submetido ao teste de suscetibilidade aos antifúngicos, demonstrou resistência *in vitro* a Fluconazol, com Concentração Inibitória Mínima (MIC)  $\geq 64 \mu\text{g/mL}$ . Para a identificação do micro-organismo, foram realizados: filamentação em ágar fubá (Corn Meal); prova do Tubo Germinativo; semeadura em CHROMagar; Vitek II Yeast Card (bioMérieux®) e identificação molecular por Microarray. O teste de suscetibilidade *in vitro* aos antifúngicos por microdiluição em caldo foi feito segundo os documentos M27A3-S4 (CLSI). A triagem de mutações no gene ERG11 foi realizada pela amplificação de três regiões gênicas, utilizando os iniciadores ERGSec1A/1B, ERGSec2A/2B e ERGSec3A/3B. O produto resultante foi submetido ao sequenciamento no equipamento ABI-3100 (Applied Biosystems) e os fragmentos de DNA amplificados foram analisados no programa ATSQ (Japan Software Inc.) por meio da comparação a uma cepa padrão sabidamente sensível a Fluconazol (*C.albicans* ATCC 90028). Todas as técnicas utilizadas para a identificação confirmaram o isolado como pertencente à espécie *C.albicans*. O MIC obtido pela microdiluição em caldo foi  $\geq 64 \mu\text{g/mL}$  para Fluconazol, sendo este valor classificado como resistente segundo o CLSI M27S4. O sequenciamento do gene ERG11 revelou duas mutações: G448V e G464S. Ambas já foram descritas na literatura como associadas à resistência a Fluconazol nessa espécie. Apesar de diversos fatores serem responsáveis pela resistência, esses resultados confirmam a hipótese de que as mutações no gene ERG11 estão associadas à ausência de resposta de *C.albicans* a Fluconazol, um fenômeno raramente relatado nesta espécie.

Palavras chave: *Candida albicans*, gene de resistência, ERG11, Fluconazol

**(14.60) DNA QUALITY PARAMETERS TO IDENTIFY MOSAIC SOMATIC MUTATIONS USING NEXT GENERATION SEQUENCING TECHNOLOGY**

*Gonçalves Mazutti, Marcella ; Avansini, Simoni ; Rossi Torres, Fabio ; Oliveira Ribeiro, Patricia Aline ; Lopes Cendes, Iscia ;*

Introduction: Mosaic somatic mutations (MSM) have been identified in patients with tuberous sclerosis (TS) and a type of malformation of cortical development called hemimegalencephal (HME). Similar histological features and molecular pathways among TS, HME and another type of cortical malformation, focal cortical dysplasia (FCD) suggests that pathogenic mechanisms could be common to these three disorders. However, MSM are not usually detected by traditional methods such Sanger sequencing. Recently, detection of MSM in central nervous system has been reported using Next-generation sequencing (NGS) technology. However, to achieve reliable results with NGS, initial DNA input must follow straight parameters of concentration (ng/ul), integrity and purity. Therefore, DNA extraction is a critical step to the success of NGS. Objective: The objective of this study was to report establish a reliable protocol of DNA extraction from tissue, which will be subsequently used for NGS. In addition, we will report on quality parameters of genomic DNA extraction obtained from frozen brain tissue and lymphocytes of peripheral blood. Materials and Methods: Four patients and four controls were submitted to genomic DNA extraction from lymphocytes of peripheral blood and frozen brain tissue obtained from surgery using phenol-chloroform protocol. Genomic DNA integrity was evaluated through 1% agarose gel electrophoresis. Concentration and purity were measured in an Epoch spectrophotometer. Results: Electrophoresis analysis showed that genomic DNA from all samples is not degraded. Spectrophotometer analysis revealed that our samples have the necessary requirements for an NGS experiment, including concentration of 50ng/ul and 260/280 ratio between 1.8 – 2.0. Conclusion: Our nucleic acid extraction protocol was successfully established, resulting in genomic DNA of high quality and purity which will be now subjected to experiments using next generation sequencing technology.

Supported by: CEPID- FAPESP

Palavras chave: Epilepsy; Focal Cortical Dysplasia; DNA extraction; Next Generation Sequencing

**(14.61) ESTUDO DA RELAÇÃO FILOGENÉTICA ENTRE FUNGOS DO GÊNERO FUSARIUM OBTIDOS DO AR E ISOLADOS DE HEMOCULTURAS DE PACIENTES IMUNOCOMPROMETIDOS.**

*Busso-Lopes, Ariane Fidelis; Muraosa, Yasunori ; Mikami, Yuzuru ; Lyra, Luzia ; Reichert-Lima, Franqueline ; Trabasso, Plínio ; Moraes, Renato ; Sturaro, Laís Lovison; Tominaga, Kenichiro ; Schreiber, Angélica Zaninelli; Kamei, Katsuhiko ; Moretti, Maria Luiza ;*

A fusariose corresponde à segunda infecção mais frequente por fungo filamentoso em humanos e é causada por espécies do gênero *Fusarium*. Esse grupo é amplamente encontrado no solo e plantas e pode causar infecções disseminadas com alta mortalidade em pacientes neutropênicos. De 2006 a 2013, foram relatados no Hospital de Clínicas da Unicamp uma frequência elevada de casos de fusariose invasiva nos pacientes receptores de células hematopoiéticas e com doenças hematológicas (34 casos). O objetivo desse trabalho foi estudar o ar como possível fonte ambiental associada à alta incidência de *Fusarium* sp. em pacientes imunocomprometidos. Foram recuperados 108 isolados ambientais do gênero *Fusarium* do ar das enfermarias de Hematologia e Transplante de Medula Óssea (TMO) do Hospital de Clínicas/Unicamp, nos anos de 2012 e 2013. Dezoito isolados clínicos de *Fusarium* sp. foram obtidos a partir de hemoculturas de pacientes internados nas mesmas enfermarias entre 2006 e 2013. O sequenciamento de DNA fúngico foi realizado para uma região do gene EF1 $\alpha$  utilizando o kit Big Dye Terminator (Applied Biosystems). A relação evolutiva entre isolados clínicos e ambientais foi avaliada no programa MEGA5 com construção de árvore filogenética pelo método de Neighbor-joining e modelo Maximum Composite Likelihood com 1.000 replicatas. Quinze isolados de sangue foram identificados como *F. solani* sp. e três como *F. napiforme*. Essas mesmas espécies foram encontradas em 14 isolados do ar, sendo 13 identificados como *F. solani* sp. e um *F. napiforme*. A análise filogenética para as amostras de ar e sangue pertencentes à mesma espécie revelou duas clades principais: A, contendo os isolados de *Fusarium solani* sp., e B, com as amostras de *Fusarium napiforme*. Um subgrupo encontrado na clade A classificou com alta confiabilidade (BT=99) nove amostras de *F. solani* sp. de sangue e 10 amostras de ar, sugerindo a mesma origem filogenética para os isolados. Para a clade B, foram agrupados com alta relação um isolado de *F. napiforme* de sangue e um obtido de ar (BT=95). Os dois isolados de *F. napiforme* foram recuperados do mesmo quarto (no. 452) da enfermaria de TMO, sendo o isolado clínico obtido em 2012 e o ambiental em 21/03/2013. Esses dados sugerem que *F. solani* sp. e *F. napiforme* isolados de ar e de hemocultura de pacientes internados são relacionados geneticamente e reforçam a hipótese de que o ar pode representar uma fonte ambiental em potencial para desenvolvimento de fusariose invasiva em pacientes imunocomprometidos. Outras regiões genômicas estão sendo avaliadas nos isolados clínicos e ambientais para confirmar essa hipótese.

Apoio financeiro: FAPESP 2012/5118-0 e JICA/JST/SATREPS/UNICAMP 02P-29548-09

Palavras chave: Relação Filogenética, *Fusarium* sp., Fusariose, Fonte ambiental, Ar

**(14.62) INVESTIGAÇÃO DE INFECÇÕES PULMONARES AGUDAS QUE MOTIVARAM INTERNAÇÃO HOSPITALAR DE PACIENTES HIV POSITIVOS.**

*Passos, Ana Isabela Morsch; Busso-Lopes, Ariane Fidelis; Dertkigil, Raquel Polo; Ribeiro, Éri van Olinda; Trabasso, Plínio ; Matsusawa, Tetsuhiro ; Mikami, Yuzuru ; Tominaga, Kenichiro ; Toro, Ivan Contrera; Schreiber, Angélica Zaninelli; Kamei, Katshiko ; Moretti, Maria Luiza ;*

**INTRODUÇÃO:** Apesar da terapia antirretroviral de alta potência, as doenças pulmonares são as mais frequentes associadas à alta mortalidade em pacientes com aids. A rápida identificação dos patógenos é importante para o correto manejo e tratamento dos pacientes. **OBJETIVO:** Investigar a ocorrência de infecções pulmonares fúngicas em pacientes infectados pelo HIV que motivaram internação. **MÉTODO:** Foram realizados exames microbiológicos de escarro e lavado brônquio-alveolar (LBA), LDH (sérica), radiografia e tomografia de tórax; (1,3)Beta-D-glucana e galactomanana no soro e LBA, LAMP em escarro e LBA. **RESULTADOS:** Incluídos 34 pacientes, idade média 42,97±9,10 anos; 13 (38%) do gênero feminino. Mortalidade geral foi 17,6% (6 óbitos) e dos 12 pacientes com pneumocistose, 4 evoluíram para óbito (33%). A mediana de Linfócitos T/CD4 foi 118,50cel/mm<sup>3</sup>; mediana de carga viral (CV) 52085,00 cópias/mL. Nove (26,5%) pacientes apresentaram CV indetectável e 21(62%) pacientes CD4≤200cel/mm<sup>3</sup>. Quinze pacientes (47%) apresentaram resultado de (1,3)Beta-D-Glucana (valor de referência:<80pg) positivo e dois pacientes (6%) apresentaram resultado positivo para Galactomanana (valor de referência:<0.5) no soro. Para um paciente, os testes de Galactomanana e (1,3)Beta-D-Glucana foram positivos no LBA. Foi observada positividade para *P. jirovecii* para 1 de 2 LBA avaliados e 1 de 8 amostras de escarro analisadas por LAMP. Os diagnósticos prováveis foram os seguintes: pneumocistose:10; PAC:7;PCP+PAC:2; Tuberculose:2; Micobacteriose:1; Nocardiose:1; Histoplasmosse:1; Criptococose:1; Infecção respiratória baixa:6; TEP:1; Diagnóstico não conclusivo:2. Para o diagnóstico de pneumocistose, a sensibilidade e especificidade de (1,3)Beta-D-Glucana foram de 83,3% 70%, respectivamente. O diagnóstico clínico de pneumocistose teve relação significativa com: menor tempo de infecção pelo HIV (p=0,03); maiores valores de lactato desidrogenase (p=0,008); menores valores de CD4 (p=0,004) e maiores valores de (1,3)β-D-Glucana no soro (p=0,002). **CONCLUSÃO:** Pneumocistose foi a principal causa de doença pulmonar nos pacientes com aids e associada com alta mortalidade. A combinação da TC tórax + (1,3)Beta-D-Glucana + LDH + LAMP foram úteis na caracterização dos agentes etiológicos fúngicos do paciente HIV.

Apoio financeiro: FAPESP 2012/5118-0 e JICA/JST/SATREPS/UNICAMP 02P-29548-09.

Palavras chave: Pneumocistose, *P. jirovecii*, LAMP, (1,3)Beta-D-Glucana, Pneumonia, HIV

**(14.63) IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DO GÊNERO FUSARIUM OBTIDOS DO AR DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNICAMP.**

*Moraes, Renato ; Busso-Lopes, Ariane Fidelis; Muraosa, Yasunori ; Mikami, Yuzuru ; Lyra, Luzia ; Reichert-Lima, Franqueline ; Trabasso, Plínio ; Sturaro, Laís Lovison; Tominaga, Kenichiro ; Schreiber, Angélica Zaninelli; Kamei, Katsuhiko ; Moretti, Maria Luiza ;*

O gênero *Fusarium* compreende fungos filamentosos que afetam principalmente indivíduos neutropênicos e estão associados à alta mortalidade. As infecções invasivas são causadas principalmente por membros do complexo *Fusarium solani*. A Seção de Epidemiologia Hospitalar, juntamente com o Laboratório de Micologia da Divisão de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas/Unicamp, reportaram infecções sistêmicas por *Fusarium* spp. em um número maior que o relatado em literatura, sendo 34 casos entre 2006 e 2013. Curiosamente, as espécies desse grupo são também patógenos ambientais e sua presença no ambiente hospitalar poderia representar um risco potencial ao paciente. Com base nessa informação, o objetivo desse trabalho foi isolar e identificar as espécies de *Fusarium* presentes no ar ambiente do Hospital de Clínicas/Unicamp. Amostras de ar foram coletadas entre 03/03/2012 e 21/03/2013 em 13 quartos das enfermarias de Hematologia e Transplante de Medula Óssea (TMO) do Hospital de Clínicas/Unicamp, Campinas, São Paulo. As condições de temperatura e umidade foram anotadas para todas as coletas realizadas. Foi utilizado o amostrador de ar Bio Samp modelo 1000D (Yotsubishi Corp.) e volumes de 1.000mL (TMO) e 500mL (Hematologia) de ar foram coletados. O crescimento foi realizado em meio de cultura seletivo para *Fusarium* spp. (Prof. Mikami Y, Chiba University) e as placas foram incubadas a 37°C por até 15 dias. Isolados com características de *Fusarium* spp. na análise morfológica foram transferidos para tubos contendo Agar-Sabouraud e submetidos à identificação molecular. A identificação pela PCR em tempo real foi realizada no equipamento StepOnePlus™ (Applied Biosystems) pela amplificação da região 28S do DNA ribossomal. O sequenciamento de DNA foi realizado no ABI Prism Genetic Analyzer (Applied Biosystems) para uma região do gene EF1 $\alpha$ . Foram isoladas 108 cepas de *Fusarium* sp. dos setores de TMO (N=30) e Hematologia (N=78). Não foi observada relação entre o número de cepas isoladas e características climáticas no dia da coleta. Treze isolados foram classificados como pertencentes ao complexo *Fusarium solani* (12,0%) e 105 como membros do complexo *Fusarium* não-*solani* (88,0%) pela análise de PCR em tempo real. O sequenciamento do DNA mostrou resultados concordantes com a PCR para todas as amostras analisadas; no entanto, o sequenciamento foi capaz de identificar as cepas não *Fusarium solani* ao nível de espécie, como segue: 29 *F. verticillioides*, 23 *F. incarnatum*, 16 *F. proliferatum*, 11 *F. chlamydosporum*, 3 *F. pseudocircinatum*, 2 *F. subglutinans*, 2 *F. fujikuroi*, 2 *F. bactridioides*, 1 *F. oxysporum* e 1 *F. napiforme*. As espécies *F. verticillioides*, *F. incarnatum* e *F. proliferatum* foram predominantes na Hematologia. Isolados de *F. solani* apresentaram alta frequência no TMO. A classificação quanto ao complexo de espécies revelou predominância de GFSC (*Giberella fujikuroi* species complex) no setor de Hematologia (51% dos isolados) e GFSC e FSSC (*Fusarium solani* species complex) no TMO (30% de cada). Esses dados revelam alta incidência de espécies de *Fusarium* nas enfermarias de Hematologia e TMO do Hospital de Clínicas da Unicamp, os quais são uma fonte potencial de infecção em pacientes imunocomprometidos. A alta frequência de *F. solani* isolados do TMO indica que maior atenção deve ser dada aos filtros de ar instalados nos quartos dos pacientes a fim de evitar possíveis infecções com causa ambiental.

Apoio financeiro: FAPESP 2012/5118-0 e JICA/JST/SATREPS/UNICAMP 02P-29548-09

Palavras chave: *Fusarium* sp., Fusariose, Sequenciamento de DNA, PCR em tempo real, Fonte ambiental, Ar

**(14.64) SPG4 MUTATIONS IN BRAZILIAN PATIENTS WITH HEREDITARY SPASTIC PARAPLEGIA.**

*Euzébio, Mayara Ferreira ; França Junior, Marcondes Cavalcante; D' Abreu, Anelyssa ; Dogini, Danyella ; Cendes, Iscia Lopes; Teive, Helio A.G.; Saute, Jonas ; Jardim, Laura Bannach ;*

Hereditary spastic paraplegia (HSP) is a heterogeneous group of neurodegenerative disorders characterized by progressive lower limb weakness and spasticity. There are 31 causative genes identified to date, but mutations in the SPG4 gene are the major cause of autosomal dominant (AD) HSP in Europe/USA accounting for 40-50% of all patients. Little is known about the frequency of SPG4-related HSP in Brazil. The objective this work is to determine the frequency of SPG4-HSP among Brazilian patients with AD-HSP and to describe the mutational spectrum in this population. For this we recruited 36 unrelated families with AD-HSP from three university hospitals; patients underwent a complete clinical evaluation as well as detailed family history. Genomic DNA was extracted from lymphocytes and used in PCR reactions with primers designed to cover the 17 exons of the SPG4 gene. Mutation screening was performed by automatic sequencing and multiplex ligand probe amplification (MLPA). We found eight previously described mutations in SPG4: c.839delAG (frameshift), c.1267G> T (missense), c.1378C>T (missense), c.1413 +5 G> A (splicing-site mutation), c.1495C>T (missense), c.1651G>C (missense), c.1741C>T (nonsense) and c.1849T> G (nonstop). Three novel mutations were identified, each one in a single family: c.162C>T (splice-site mutation), c.1255G>T (nonsense) and c.1667delCA (frameshift). MLPA revealed no large deletion/duplication in these patients. Our results indicate that SPG4 mutations are a frequent cause of AD-HSP in Brazil, and found in 35% of the families. Palavras chave: hereditary spastic paraplegia, SPG4 mutations, Brazilian patients

**(14.65) INOS INDUZ RESISTÊNCIA A INSULINA E DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL ATRAVÉS DA S-NITROSAÇÃO DA SIRT1.**

*Lenhare, Luciene ; Katashima, Carlos Kioshi; Silva, Vagner Ramon Rodrigues; Alves, Juliana ; Micheletti, Thayana ; Mendes, Maria Carolina ; Torres, Fabio Rossi; La Guardia, Paolo ; Vercesi, Anibal ; Cavalheira, José Barreto; Cintra, Dennys ; Pauli, Rodrigo ; Saad, Mario ; Ropelle, Eduardo Rochete;*

Introdução: A proteína deacetilase SIRT1, exerce papel crucial no metabolismo muscular, aumentando a biogênese mitocondrial e sensibilidade à insulina. Sabe-se que durante o envelhecimento e obesidade, o processo inflamatório subclínico promove um decréscimo na atividade enzimática da SIRT1 no músculo, contribuindo para o desenvolvimento de desordens metabólicas. Contudo o mecanismo responsável pela redução da atividade da SIRT1 é desconhecido. No presente estudo, aventamos a hipótese de que o aumento da expressão da iNOS esteja relacionado com a menor atividade a SIRT1, em modelo experimental de envelhecimento e de obesidade, sendo a S-nitrosação o mecanismo pós-traducional responsável por esse fenômeno. Objetivo: Avaliar a participação da iNOS sobre a S-nitrosação da SIRT1 em tecido muscular em modelo experimental de envelhecimento e obesidade e relacionar esse fenômeno com a sensibilidade à insulina e biogênese mitocondrial. Métodos: O clamp euglicêmico hiperinsulinêmico, as técnicas de biotilação de nitrosotiois e de Western blotting foram combinados para avaliar a sensibilidade à insulina, a S-nitrosação da SIRT1 e a expressão proteica no músculo gastrocnêmio de camundongos C57BL6/J e iNOS-/- jovens, velhos e obesos e camundongos ob/ob nocautes para iNOS (ob/obiNOSKO). Camundongos C57 velhos e obesos foram tratados com o inibidor da iNOS (L-nil, 40mg/kg 2x por dia/5dias). Os dados foram analisados através de teste “t de Student” ou análise de variância (ANOVA), seguida pelo teste de Bonferroni. A significância estatística adotada foi de  $p < 0,05$ . Resultados: Observamos que a expressão da iNOS aumentou no músculo durante o envelhecimento e obesidade. Em paralelo observamos aumento da S-nitrosação da SIRT1. A redução da atividade da SIRT1 foi determinada pelo aumento da acetilação de seus substratos, a PGC1 $\alpha$  e FOXO1. Esses dados foram acompanhados pelo aumento da resistência à insulina e redução de marcadores da biogênese mitocondrial. Por outro lado, camundongos iNOS-/- apresentaram menor S-nitrosação da SIRT1 e melhora da sensibilidade à insulina e perfil mitocondrial durante o envelhecimento ou obesidade. Resultados similares foram encontrados após o tratamento com o inibidor da iNOS. Finalmente, observamos que a deleção da iNOS em camundongos diabéticos (ob/obiNOSKO), apresentaram menor S-nitrosação da SIRT1 e melhora da sensibilidade à insulina e perfil mitocondrial no músculo. Conclusão: O aumento da expressão da iNOS está relacionado à redução da atividade da SIRT1 através da S-nitrosação, contribuindo para a resistência à insulina e disfunção mitocondrial.

Palavras chave: ENVELHECIMENTO, OBESIDADE, RESISTÊNCIA À INSULINA, DISFUNÇÃO MITOCONDRIAL, SIRT1

**(14.66) ANÁLISE DE ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS ATRAVÉS DE SOFTWARE FREESURFER EM PACIENTES COM DISTONIA CRÂNIO-CERVICAL PRIMÁRIA.**

*Vilany, Larissa N N; Rezende, Thiago J R; Piovesana, Luiza G; Campos, Lidiane S; Guimarães, Rachel P; Campos, Brunno M; Torres, Fabio R; França Jr, Marcondes C; Amato-Filho, Augusto C; Lopes-Cendes, Iscia; Cendes, Fernando; D'Abreu, Anelyssa;*

**Introdução:** A distonia crânio-cervical (DCC) é um distúrbio neurológico que promove contrações involuntárias e subdivide-se em: blefaroespasma, distonia cervical, oromandibular, lingual, laríngea. Sua fisiopatologia não se encontra bem esclarecida e seus estudos de neuroimagem têm apresentado resultados heterogêneos. O FreeSurfer (FS) é um método automatizado de segmentação que vem apresentando bons resultados em certas patologias neurológicas. Este estudo objetiva documentar alterações estruturais encefálicas na DCC através da utilização do software FS. **Métodos:** Foram analisadas imagens de ressonância magnética de 47 pacientes com DCC e 79 controles. Utilizou-se o FS para medida de espessura cortical e de volume de estruturas subcorticais. Realizou-se um ANCOVA, covariado para idade, comparando pacientes e controles. Adicionalmente, foi feita uma regressão múltipla para investigação de correlação estrutural com variáveis clínicas - idade de início da distonia, score na escala MARSDEN-FANH e tempo de tratamento com toxina botulínica. **Resultados:** Observou-se nos pacientes: à esquerda, atrofia cortical em giro e sulco do cíngulo, giro e sulco pré-central e temporal superior, giro lingual; à direita, atrofia cortical em istmo, giro e sulco do cíngulo, giro e sulco temporal superior, sulco circular da insula, sulcos pré-central e temporal inferior. Não se observou diferenças entre os grupos em estruturas subcorticais, como os núcleos da base. Não foi demonstrada correlação com as variáveis clínicas. **Conclusão:** O presente estudo demonstrou o envolvimento de áreas motoras, sensoriais e límbicas na DCC.

**Palavras chave:** distonia, distonia crânio-cervical, Freesurfer, espessura cortical, núcleos da base, giro pré-central

**(14.67) INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO DE SORO AMILÓIDE A (SAA) E OBESIDADE COM A SOBREVIVÊNCIA DE PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA.**

*Delfino, Letícia Sathler ; Santana, Aline Barros; Gurgel, Maria Salete Costa; de Barros-Mazon, Sílvia ;*

**Introdução:** O câncer de mama é o câncer mais frequente entre as mulheres e ocupa o segundo lugar na classificação mundial. Estudo recente realizado por nosso grupo demonstrou associação direta das concentrações de SAA com a obesidade em mulheres com câncer de mama na pós-menopausa, revelando que pacientes com altas concentrações de SAA são obesas. Além disso, maiores concentrações de SAA foram observadas em pacientes com tumores receptor de estrógeno negativos (RE<sub>-</sub>) (1). **Objetivo:** O presente trabalho teve como objetivo correlacionar a sobrevivência global e livre de doença de portadoras de câncer de mama, com as concentrações séricas de SAA no pré-operatório e sua associação com a obesidade. **Materiais e Métodos:** Foram avaliados prontuários de 46 pacientes na pós-menopausa que completaram 3 anos de admissão no estudo e que tiveram concentrações de SAA determinadas no pré-operatório, todas procedentes do CAISM, UNICAMP. As sobrevivências total e livre de doença das pacientes foram estimadas e analisadas quanto à associação em relação às concentrações séricas de SAA e outras covariáveis: IMC (índice de massa corpórea), CA (circunferência abdominal), tumores receptores de estrógeno positivos (RE<sub>+</sub>) e tumores receptores de estrógeno negativos (RE<sub>-</sub>). O tempo de sobrevivência livre de doença, em meses, foi definido como o período entre a data da cirurgia (data de entrada no estudo) e a ocorrência de recidiva de câncer local ou à distância (metástases). O tempo de sobrevivência global, também em meses, foi definido como o período entre a data da cirurgia (data de entrada no estudo) e a ocorrência de óbito ou da última consulta. O óbito foi atribuído ao câncer de mama, de acordo com o registro no atestado de óbito. Para estimar a sobrevivência das pacientes foi utilizado o método de Kaplan-Meier e o efeito das concentrações de SAA sobre a sobrevivência foi avaliado, juntamente com as outras covariáveis, pelo modelo de riscos proporcionais de Cox. Para comparar as curvas de sobrevivência das pacientes entre as variáveis de interesse foi utilizado o teste log-rank. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi 5%. **Resultados:** Quando a sobrevivência após 3 anos de acompanhamento foi analisada em função das variáveis IMC, CA e concentrações séricas de SAA, não foi encontrada diferença significativa entre as pacientes. Entretanto, quando se analisou o status de receptores de estrógeno (RE) dos tumores, verificamos que pacientes com tumores RE<sub>-</sub> apresentaram sobrevivência significativamente menor do que aquelas com RE<sub>+</sub> ( $p=0,005$ ). **Discussão/Conclusão:** Esse achado está de acordo com relatos da literatura, uma vez que tumores RE<sub>-</sub> são associados a pior prognóstico (2). A ausência de efeito das variáveis SAA e obesidade sobre a sobrevivência das pacientes pode ser atribuída ao pequeno tamanho amostral, juntamente com o exíguo tempo de seguimento, causas que podem ter enviesado os resultados. Somente com a continuidade desse trabalho, aumentando a casuística e o tempo de seguimento, teremos possibilidade de revelar a real relação entre concentrações elevadas de SAA e obesidade com a sobrevivência de portadoras de câncer mamário.

**Referências bibliográficas:**

1. Santana AB, Gurgel MSC, Montanari JFO, Bonini FM, Barros-Mazon S. Serum Amyloid A Is Associated with Obesity and Estrogen Receptor–Negative Tumors in Postmenopausal Women with Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013 Jan;8 (22):270-274.
2. Maiti B, Kundranda MN, Spiro TP, Daw HA. The association of metabolic syndrome with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 121:479–483.

Auxílio: FAPESP e FAEPEX

Palavras chave: câncer de mama, obesidade, SAA, análise de sobrevivência.

**(14.68) POLIMORFISMOS NOS GENES DO RECEPTOR DE ESTRÓGENO (ESR1 E ESR2) ALTERAM O RISCO E A GRAVIDADE CLÍNICA DO CÂNCER DE MAMA ESPORÁDICO?**

*Rezende, Luciana Montes; Marson, Fernando Augusto Lima; Passos-Lima, Carmen Silvia; Bertuzzo, Carmen Silvia;*

O câncer de mama (CM) é uma doença complexa com alta heterogeneidade clínica, morfológica e biológica. Apresenta-se em subtipos moleculares distintos – luminal A, luminal B, superexpressão de HER2 e basal like – de acordo com a expressão de receptor de estrógeno (ER), receptor de progesterona (PR) e do receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2), com prognóstico e alvos terapêuticos específicos. Estudos recentes sugerem que os polimorfismos G2014A no gene ESR1 (Estrogen Receptor Alpha) e A1730G no gene ESR2 (Estrogen Receptor Beta) alterem a gravidade clínica e aumentem o risco para o desenvolvimento do CM. Portanto, foi verificada a associação entre estes polimorfismos e a ocorrência de CM esporádico, incluindo as variáveis clínicas. Foram selecionadas 208 amostras de DNA de mulheres diagnosticadas com CM esporádico do Laboratório de Genética Molecular do Câncer da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) e 216 controles femininos com idade superior a 50 anos e sem história de CM na família. Para a genotipagem foi utilizada a técnica RFLP-PCR (Restriction Fragments Length Polymorphism-PCR). Os resultados foram analisados pelo software SPSS vs 21.0. Empregou-se o teste  $\chi^2$  para averiguar a distribuição dos polimorfismos e, para a diferença no percentual destes, foi calculado o Odds Ratio. No caso de dados com distribuição numérica foram utilizados os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis. Não foi observada diferença significativa entre os grupos em relação à ocorrência de CM esporádico para os dois polimorfismos (G2014A  $p=0,630$ ; A1730G  $p=0,922$ ). Ao associar os genótipos às variáveis clínicas, observou-se que o genótipo GG (polimorfismo A1730G) teve menor prevalência no grupo de pacientes caucasóides (OR= 0,381; 95%CI= 0,149 - 0,092), enquanto no polimorfismo G2014A o genótipo GG foi associado à proteção do estadiamento em relação aos demais (OR= 0,209; 95%CI= 0,045 - 0,784). Para as demais variáveis clínicas, não houve diferença significativa. Conclui-se que os polimorfismos G2014A e A1730G parecem não alterar o risco para o desenvolvimento de CM esporádico, no entanto, podem estar associados com sua gravidade.

Palavras chave: câncer de mama, polimorfismo, ESR1, ESR2, gene modificador

**(14.69) IDENTIFICAÇÃO DE CANDIDA ATRAVÉS DE PCR EM TEMPO REAL EM SANGUE TOTAL .**

*Tararam, Cibele Aparecida; Bachur, Luis Felipe; Y, Muraosa ; Y, Mikami ; K, Tominaga ; Lopes, Ariane Fidelis Bu; Sturaro, Laís Lovison; Ribeiro, Erivan ; Lyra, Luzia ; Schreiber, Angélica Zaninelli; K, Kamei ; Moretti, Maria Luiza;*

A incidência de infecções fúngicas oportunistas vem aumentando devido ao surgimento de pacientes imunossuprimidos, incluindo indivíduos submetidos a transplantes de órgãos ou células hematopoiéticas, portadores de câncer ou AIDS, neonatos prematuros, pacientes em recuperação de cirurgias e idosos. Devido às altas taxas de morbidade e mortalidade associadas a tais infecções, a rápida identificação de tais patógenos é de extrema importância para o correto tratamento dos pacientes. Infecções sanguíneas causadas por *Candida sp.* são a quarta causa mais frequente de sepse, com taxa de mortalidade em torno de 50%. Apesar de vários testes de laboratório se basearem na detecção de anticorpos, antígenos ou metabólitos específicos para *Candida sp.*, eles apresentam baixa especificidade e sensibilidade. Além disso, esses testes falham em discriminar diferentes espécies de *Candida*, informação que é crucial para iniciar o tratamento com antifúngico específico. A fim de ultrapassar essas limitações de testes diagnósticos convencionais, métodos baseados em testes de DNA têm sido desenvolvidos. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi padronizar a extração de DNA de espécies de *Candida* a partir do sangue total e validar a identificação de três espécies de *Candida sp.* por Nested-PCR e PCR em tempo real. Para isso, foi coletado sangue de pessoas normais, em experimentos individuais, com *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida krusei*, fazendo uma curva de diluição de zero a 10<sup>6</sup> células/ mL. Em seguida, esses materiais foram submetidos à extração de DNA conforme as recomendações do fabricante do kit de extração de DNA (Roche®), com algumas modificações. Para sangue infectado com *Candida albicans* houve a adição de “beads” na etapa de lise das células fúngicas, utilizando o aparelho MagNA Lyser (Roche®). Após a extração, o material genético foi submetido a Nested-PCR para otimizar o número de cópias da região do DNA ribossomal usando primers que diferenciam os três grupos de *Candida sp.*, e em seguida, esse material foi submetido a PCR em tempo real usando sondas específicas para cada grupo durante a amplificação. Ensaios para *C. glabrata* e *C. krusei* detectaram DNA do fungo respectivo em sangue infectado com até 10 células/mL, enquanto que para *C. albicans* foi detectado em 10<sup>3</sup> células/mL e com o auxílio das “beads” no protocolo de extração de DNA, foi detectado em 10<sup>2</sup> células/mL. Dessa forma, novas padronizações na escolha da sonda para PCR em tempo real precisam ser feitas para melhorar a detecção de *C. albicans*.

Palavras chave: *Candida*, diagnóstico, PCR em tempo real, padronização de extração de DNA

**(14.70) VIVÊNCIAS EMOCIONAIS DE GESTANTES OBESAS COM GANHO PONDERAL ADEQUADO DURANTE O PRÉ-NATAL EM SERVIÇO OBSTÉTRICO DE REFERÊNCIA – UM ESTUDO CLÍNICO-QUALITATIVO.**

*Faria, Debora Bicudo; Surita, Fernanda Garanhani ; Vieira, Carla Maria; Turato, Egberto Ribeiro ;*

**Introdução:** O número de mulheres em idade reprodutiva com obesidade cresceu consideravelmente nos últimos anos e representa um aspecto importante do crescimento geral do número de obesos em todo o mundo. A obesidade na gravidez está associada ao aumento de situações de risco maternas, fetais e neonatais. A gravidez é um período ideal para a intervenção de profissionais da saúde, porque as mulheres estão muito próximas desses profissionais e podem se conscientizar dos benefícios de ter um estilo de vida mais saudável para si mesma e para seu futuro bebê. **Objetivo:** Compreender os significados emocionais atribuídos por gestantes obesas, que aderiram às orientações preconizadas pela equipe multidisciplinar do Ambulatório de Pré-Natal Especializado do CAISM/UNICAMP, em relação às suas experiências de haver obtido ganho de peso ponderal adequado. **Método:** Desenho clínico-qualitativo, não-experimental e não-aleatório, com fundamentos psicanalíticos. A amostra de sujeitos foi concluída pelo critério de saturação de informações e utiliza a técnica de entrevista semidirigida de questões abertas. As entrevistas foram realizadas no ambulatório de pré-natal especializado do hospital CAISM / Unicamp. A técnica de tratamento de dados incluiu: transcrição na íntegra das entrevistas; releituras flutuantes para desvelar núcleos de sentidos das falas das entrevistadas; categorização em tópicos para discussão; e análise qualitativa de conteúdo. **Resultados:** Foram realizadas 13 entrevistas. São discutidas categorias teóricas que emergiram dos núcleos de sentido encontrados no conjunto das entrevistas analisadas: 1) Percepções da mulher sobre seu corpo obeso, seus sentimentos e possibilidades de mudanças; 2) Significados emocionais que atribuem na relação com o outro - profissionais da equipe multidisciplinar de saúde e/ou familiares - no processo de cuidado pré-natal. Os resultados indicam que a gestação é um momento oportuno para a mulher entrar em contato consigo mesma e identificar conflitos, que dificilmente seriam percebidos e sentidos se não fosse essa condição. Através das transformações no corpo, fruto das mudanças fisiológicas da gestação e das emoções advindas desta fase, que algumas mulheres, com o auxílio da equipe de saúde e/ou familiares, podem iniciar um processo de autocuidado e integralização de seu psicossoma. **Conclusões:** Para facilitar a adesão das pacientes às orientações preconizadas pelo serviço de saúde, que prestam assistência pré-natal, é importante que os profissionais aprofundem o olhar, a escuta e o apoio na tentativa de compreender e cuidar da mulher na sua integralidade, de modo a aproveitar o significativo período da gravidez de uma mulher obesa para a implantação de hábitos saudáveis de alimentação, cuidado corporal e para o início de um processo de melhor integração de seu psiquismo e corpo.

Tabela I – Características da amostra

Participantes	Idade	Ocupação	Situação Conjugal	Semana de gestação	IMC Pré-gestacional Kg/m <sup>2</sup> *	Ganho de peso gestacional (Kg)
E1	29	Dona de casa	Mora com o companheiro	39	30,72	+6
E2	28	Copeira	Mora com o companheiro	38	40,47	+9
E3	37	Doméstica	Mora com o companheiro	36	35,01	+5, 1
E4	31	Serviços gerais	Solteira	34	48,01	+7,2
E5	27	Serviços gerais	Mora com o companheiro	35	52,18	+4
E6	35	Receptionista	Casada	34	52,70	-0,05
E7	29	Dona de Casa	Casada	35	39,08	-2, 3
E8	29	Comerciante	Mora com o companheiro	35	65,45	-1,75
E9	36	Cozinheira	Mora com o companheiro	36	30,55	+6,5
E10	26	Dona de casa	Casada	38	32,84	+6,3
E11	36	Aux. Administrativa	Casada	36	32,74	-4,2
E12	42	Cozinheira	Casada	36	41,87	+0,9
E13	34	Aux. de produção	Separada	37	51,77	+4

\*Os IMCs foram calculados sobre o peso pré-gestacional declarado pela entrevistada.

Palavras chave: Adesão ao tratamento, ganho ponderal, obesidade, gravidez, pesquisa qualitativa.

**(14.71) AVALIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE IL-6, IL-10 E TGF- $\beta$  EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA NA PÓS-MENOPAUSA.**

*de Andrade, Rodrigo ; Santana, Aline de Barros; Gurgel, Maria Salete Cos; de Barros-Mazon, Sílvia ;*

Introdução: A obesidade tem se mostrado responsável pelo aumento de 30 a 50% na taxa de acometimento de câncer de mama em mulheres na pós-menopausa. Esse fato pode estar associado ao processo inflamatório crônico de baixo grau em pacientes obesas, que com o aumento de produção de IL-6, concomitante à redução de IL-10 e alteração do TGF- $\beta$ , pelas células adiposas e/ou pelos macrófagos infiltrados no tecido adiposo periférico ou mamário, levariam ao desenvolvimento de tumores mamários. Da mesma forma, estas citocinas poderiam estar associadas aos diferentes prognósticos do câncer de mama, na presença da obesidade. Objetivo: O presente trabalho avaliou, em portadoras de câncer de mama na pós-menopausa, as concentrações séricas de IL-6, IL-10 e TGF- $\beta$ , e suas relações com a obesidade e com as características clínico-patológicas das pacientes. Materiais e Métodos: Pacientes na pós-menopausa e com diagnóstico de câncer mamário, internadas na unidade de Oncologia Cirúrgica do CAISM-UNICAMP para o tratamento cirúrgico, foram selecionadas para participar deste estudo, após leitura e assinatura do TCLE. As pacientes foram alocadas em dois grupos, de acordo com o índice de massa corpórea (IMC) e a circunferência abdominal (CA): grupo de estudo: pacientes com IMC  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> e CA > 88 cm (sobrepeso/obesidade - SP/O), e grupo de comparação: pacientes com IMC  $\leq 24,9$  kg/m<sup>2</sup> e CA  $\leq 88$  cm (não obesas - NO). As características clínico-patológicas da doença foram obtidas a partir dos prontuários médicos das pacientes. Amostras de sangue foram coletadas no pré-operatório e submetidas à quantificação sérica de IL-6, IL-10 e TGF- $\beta$  (n= 68 a 70), pela metodologia Luminex® (kits MILLIPIX®, Millipore), com sensibilidades de 0,2 pg/mL, 0,9 pg/mL e 10,0 pg/mL, respectivamente. Resultados: Foi encontrada uma maior concentração de IL-6 no grupo de SP/O ( $p=0,0378$ ), além de correlações diretas com o IMC ( $r=0,3642$ ;  $p=0,0023$ ) e CA ( $r=0,3998$ ;  $p=0,0007$ ). Em relação às características clínico-patológicas, observamos uma tendência de maior concentração de IL-6 em pacientes portadoras de tumores mamários com ausência de expressão de progesterona (RP-) e receptor de fator de crescimento epidermal humano tipo 2 (HER-2-). As demais citocinas não apresentaram resultados estatisticamente significativos, quando considerados os fatores obesidade e características clínico-patológicas. Discussão: Os resultados de tendência de associação de IL-6 com ausência de expressão de RP e HER-2 parecem promissores, mas devem ser interpretados com cautela, face ao caráter preliminar destas análises, pela ausência de dados clínico-patológicos em parte dos prontuários das participantes. Na continuidade deste estudo, a se confirmarem estes resultados, novas análises deverão ser realizadas, para se controlar o eventual efeito confundidor da obesidade, bem como incluir quantificações séricas em portadoras de câncer mamário na pré-menopausa.

Auxílio: FAEPEX e PIBIC/CNPq

Palavras chave: Câncer de mama, obesidade, IL-6, IL-10, TGF- $\beta$ .

**(14.72) AVALIAÇÃO DOS POLIMORFISMOS SLC23A2-05 E KRAS-LCS6 ENTRE PORTADORES DE CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO.**

*Santiago, Marília Bueno ; Lourenço, Gustavo Jacob; Passos Lima, Carmen Silvia ; Bertuzzo, Carmen Silvia ;*

O câncer de cabeça e pescoço em sua maioria é representado por neoplasias epiteliais do tipo carcinoma de células escamosas (CEC) que acometem as vias superiores aéreo-digestivas. Estudos têm associado o CEC a alguns polimorfismos como o Kras-LCS6, que reduz significativamente o tempo de vida em pacientes com tumores de cabeça e pescoço e sugere que esta variante pode alterar o fenótipo ou a resposta terapêutica da doença. Esse polimorfismo é associado ao transporte de sódio dependente de vitamina C, SLC23A2-05, que modifica o risco da doença em indivíduos portadores do HPV16 Humano. O objetivo do presente estudo foi avaliar a prevalência dos polimorfismos Kras-LCS6 e SLC23A2-05 em uma amostra de pacientes com CEC de cabeça e pescoço, verificando a importância desses polimorfismos no acometimento e na gravidade da doença, através de um estudo de associação. Foi utilizada a técnica de PCR associada à digestão enzimática. Foram avaliados 165 casos e 230 controles para cada polimorfismo. No polimorfismo Kras-LCS6 a frequência gênica dos alelos T e G encontradas nos pacientes foram de 0,91 e 0,09 enquanto que no grupo controle foi de 0,90 e 0,10. Para o polimorfismo SLC23A2-05 a frequência gênica dos alelos C e G foram de 0,47 e 0,53, respectivamente, em ambos os grupos. Da análise do teste de regressão logística, nenhuma associação foi encontrada entre os polimorfismos analisados e o CEC, bem como com o estadiamento da doença. Palavras chave: Polimorfismo, Oncogenes, Oncologia, Genética

**(14.73) ANÁLISE DE PROTEOMA NO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LARINGE**

*Santiago, Marília Bueno; Costa, Ana Flávia de Mattos; Altemani, Albina Messias de; Chone, Carlos Takahiro ; Leme, Adriana Franco Pae; Bertuzzo, Carmen Sílvia;*

O câncer de laringe representa cerca de 25% dos tumores malignos que acometem essa área e 2% de todas as doenças malignas. Ocorre em sua grande maioria em homens e é um dos mais comuns entre os tumores que atingem a região da cabeça e pescoço. Pode ocorrer em uma das três porções em que se divide o órgão: laringe supraglótica, glote e subglote, sendo que aproximadamente 2/3 dos tumores surgem na corda vocal verdadeira, localizada na glote, e 1/3 acomete a laringe supraglótica que se localiza acima das cordas vocais. O tipo histológico mais comum e que atinge mais de 90% dos pacientes, é o carcinoma de células escamosas (CEC) e é classificado de acordo com o grau de diferenciação celular. Estudos de expressão gênica tem sido realizado em vários tumores a fim de possibilitar o envolvimento de algumas proteínas na evolução tumoral, bem como determinar marcadores de gravidade. O objetivo deste trabalho é estudar o contexto proteômico em células tumorais e normais de pacientes portadores de CEC de laringe e realizar estudos de comparação através de métodos espectroscópicos, de forma a caracterizá-la. Para isso após a coleta do material, é feita uma lamina de HE para confirmar que as amostras coletadas para este trabalho sejam mesmo tecido tumoral e normal. A partir daí são feitas laminas especiais, onde as células são selecionadas e microdissecadas no Microdissecador a Laser da Zeiss. Em seguida foi realizada uma análise proteômica, utilizando o espectrômetro de massas LTQ Velos Orbitrap ETD acoplado ao cromatografo líquido nLCII ambos da Thermo. O padrão de massas obtido foi comparado em banco de dados para a identificação de proteínas. O objetivo é avaliar 10 pares de amostras. Até o momento 3 pares (tumoral e normal) já foram avaliados em termos de expressão proteica. Foram encontradas 485 proteínas sendo expressas nessas células, sendo que algumas só foram encontradas em tecido tumoral como a P11021|GRP78\_HUMAN, P14618-2|KP YM\_HUMAN e HSP7C\_HUMAN. Outras foram encontradas apenas no tecido normal como, por exemplo, a P02042|HBD\_HUMAN. Essas proteínas que foram inicialmente detectadas parecem ser marcadores biológicos do CEC de laringe.

Palavras chave: Laringe, Proteômica, Oncologia

**(14.74) CARACTERIZAÇÃO DAS POPULAÇÕES DE LINFÓCITOS TCD4+ EM ANEURISMA DE AORTA ABDOMINAL HUMANO.**

*Téo, Fábio Haach; Oliveira, Rômulo Tadeu Dias; Mamoni, Ronei Luciano; Menezes, Fábio Hüsemman; Blotta, Maria Heloisa So;*

**Introdução:** O aneurisma de aorta abdominal (AAA) é uma doença degenerativa caracterizada pela destruição da matriz extracelular e pela morte de células musculares lisas que formam a parede da aorta abdominal, culminando na dilatação e ruptura do vaso. Trabalhos recentes mostram a presença de grandes infiltrados inflamatórios nas lesões, indicando um papel importante da resposta imunológica na patogênese da doença. O objetivo desse estudo foi avaliar a presença e o papel dos diferentes subtipos de linfócitos helper (TCD4+) em lesões provenientes de pacientes submetidos à cirurgia corretiva eletiva aberta. **Métodos:** Amostras de AAA obtidas de 24 pacientes foram caracterizadas quanto à presença de componentes das respostas Th1, Th2, Th17 e Th22 através da análise de expressão gênica por qRT-PCR. Essa metodologia também foi utilizada para a detecção das populações de linfócitos TCD4+ em amostras de células mononucleares do sangue periférico (CMSP) ex vivo e após estimulação in vitro com PHA, LPS ou beads revestidas com anticorpos anti-CD3 e anti-CD28. A fim de se confirmar os resultados obtidos na análise de expressão gênica, amostras de CMSP e do infiltrado celular obtido de lesões foram submetidas à fenotipagem por citometria de fluxo antes e após estimulação in vitro. **Resultados:** A análise de expressão gênica nas amostras de AAA mostrou a presença do RNAm para IFN- $\gamma$ , t-bet e IL-12p35, fatores característicos da resposta Th1. O RNAm de componentes característicos da resposta Th2 (GATA-3, c-Maf e IL-4) também foi detectado nas amostras analisadas. As células presentes das lesões mostraram-se capazes de responder à IL-17, pois expressavam o receptor da citocina. Além do mais, expressavam outros componentes da resposta Th17 como IL-23p19 e RorC. Por fim, detectou-se a expressão de IL-22 e AhR, indicando a presença da resposta Th22 no AAA. A fenotipagem por citometria de fluxo das células extraídas das lesões confirmou a existência de células TCD4+ positivas para IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-17 e IL-22 em amostras sem estimulação in vitro, mas elas representavam uma pequena porcentagem da população analisada. Apenas a positividade para IL-4 já era significativa nessas amostras, indicando a ativação prévia da resposta Th2 in situ. Após estimulação, a positividade para todas as citocinas aumentou na população TCD4+ das lesões. A caracterização da resposta imunológica periférica através da análise da expressão gênica nas CMSP mostrou uma pequena quantidade do RNAm para IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-17, GATA-3, RorC e AhR nas amostras ex vivo, enquanto a expressão das citocinas aumentou drasticamente após estimulação in vitro. A IL-22 apresentou expressão relativamente alta nas amostras ex vivo e após estimulação. Em concordância com esses resultados, a análise das CMSP por citometria de fluxo demonstrou uma porcentagem insignificante de células TCD4+ positivas para IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-17 e IL-22 ex vivo, sendo que somente após estimulação in vitro a positividade dessas citocinas na população analisada foi maior. Comparando-se as populações de células Th na periferia e in situ, notou-se uma maior positividade para as citocinas IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 e IL-22 nas células extraídas das lesões após estimulação in vitro, indicando a presença das respostas Th1, Th2, Th17 e Th22 preferencialmente na parede dos aneurismas. Entretanto, notou-se um maior número de células positivas para a IL-4 nas células Th das lesões mesmo na ausência de estimulação prévia. **Conclusões:** Analisados em conjunto os resultados mostram a presença de elementos das respostas Th1, Th2, Th17 e Th22 tanto nas lesões quanto no sangue periférico de pacientes com aneurisma de aorta abdominal, mas sugerem que tais respostas possuem limitada ação sistêmica, sendo as células preferencialmente ativadas in situ. Além disso, a resposta Th2 parece ser a mais ativada durante o desenvolvimento das lesões.

**Palavras chave:** Aneurisma - aorta - linfócitos - TCD4+ - inflamação - resposta imunológica

**(14.75) A-FABP (PROTEÍNA TRANSPORTADORA DE ÁCIDOS GRAXOS DE ADIPÓCITOS) – UM ELO ENTRE OBESIDADE, ALTERAÇÕES METABÓLICAS E INFLAMAÇÃO NO CÂNCER MAMÁRIO?**

*do Nascimento, Higor Campos; Santana, Aline Barros; Gurgel, Maria Salete Costa; de Faria, Eliana Cotta ; Costa, Fernanda Luz P.; de Barros-Mazon, Sílvia ;*

Introdução: A A-FABP é uma proteína intracelular abundante nos adipócitos maduros e nos macrófagos, que transporta ácidos graxos de cadeia longa. Está intimamente envolvida com o metabolismo energético e a obesidade. Por outro lado, a obesidade, as alterações metabólicas e alguns marcadores inflamatórios, como a soro amilóide A (SAA), têm sido associados ao câncer mamário. Devido ao crescente número de casos de câncer de mama no Brasil e no mundo, estudos são necessários para a busca de possíveis biomarcadores prognósticos. Objetivo: Investigar a associação entre A-FABP e obesidade em portadoras de câncer de mama na pós-menopausa e suas relações com as concentrações de SAA e alguns parâmetros bioquímicos. Materiais e Métodos: 60 pacientes com diagnóstico de câncer de mama na fase pós-menopausa, internadas na unidade de Oncologia Cirúrgica do CAISM-UNICAMP, para o tratamento cirúrgico, foram selecionadas para participar deste estudo, após leitura e assinatura do TCLE. As pacientes foram alocadas em dois grupos, de acordo com o índice de massa corpórea (IMC) e a circunferência abdominal (CA). Grupo de estudo: pacientes com  $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$  e  $CA > 88 \text{ cm}$  (sobrepeso/obesidade - SP/O), e grupo de comparação: pacientes com  $IMC \leq 24,9 \text{ kg/m}^2$  e  $CA \leq 88 \text{ cm}$  (não obesas - NO). As concentrações séricas de A-FABP foram determinadas por meio de reação imunoenzimática (ELISA), utilizando-se kit comercial BioVendor (Brno, República Checa) e as de SAA, por nefelometria, com kit e equipamento SIEMENS (Erlangen, Alemanha). Os parâmetros bioquímicos: colesterol total (Col-T) e frações (LDL-Col, HDL-Col), triglicerídeos (TG) e glicose (Gli) foram determinados pelo método enzimático-colorimétrico, em sistema de automação (Boehringer Mannheim, Hitachi 917-Roche-Basileia, Suíça). Para os cálculos de correlação foi utilizado o teste de Spearman (análise entre A-FABP e parâmetros bioquímicos, CA, IMC e SAA); já a comparação entre os grupos foi analisada por meio do teste de Mann-Whitney. O nível de significância adotado foi de 5% ( $p < 0.05$ ). Resultados: A análise entre os grupos SP/O e NO demonstrou diferença significativa das concentrações séricas de A-FABP, mais elevadas no grupo SP/O ( $p < 0,0001$ ). Foi demonstrada correlação direta das concentrações séricas de A-FABP com CA ( $r=0,56$ ,  $p < 0,0001$ ) e IMC ( $r=0,57$ ,  $p < 0,0001$ ). Quanto aos parâmetros bioquímicos, foi revelado que as concentrações de A-FABP foram diretamente correlacionadas com as concentrações de Gli ( $r=0,37$ ,  $p=0,003$ ) e TG ( $r=0,39$ ,  $p=0,002$ ) e inversamente com as concentrações de HDL-Col ( $r= -0,33$ ,  $p=0,009$ ). Foi ainda verificada correlação positiva entre as concentrações de A-FABP e SAA ( $r= 0,33$ ,  $p=0,0099$ ). Discussão/Conclusão: As concentrações de A-FABP mostraram correlação direta com as concentrações de Gli e TG e inversa com as concentrações de HDL-Col, estando de acordo com resultados da literatura, decorrentes de estudos metabólicos em outras patologias. Também foi demonstrado que portadoras de câncer de mama na pós-menopausa, com sobrepeso/obesidade possuem concentrações séricas de A-FABP mais elevadas do que as não obesas. Estudo prévio de Hancke e col. (1) demonstrou a associação de altas concentrações de A-FABP com pior prognóstico do câncer mamário, sugerindo sua possível utilidade como biomarcador prognóstico. Embora o presente estudo não tenha avaliado a relação da A-FABP com as características clínico-patológicas das pacientes, ele demonstrou a correlação positiva entre a A-FABP e a SAA, recentemente associada a tumores receptores de estrogênio negativos (RE<sub>-</sub>), em trabalho de nosso grupo (2). Considerando a característica da SAA como proteína de fase aguda, este achado pode sugerir eventual associação entre a A-FABP e o estado inflamatório no câncer de mama. Este será o foco da continuidade da presente investigação.

## Referências Bibliográficas:

1. Hancke K, Grubeck D, Hauser N, Kreienberg R, Weiss JM. (2010) Adipocyte fatty acid-binding protein as a novel prognostic factor in obese breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* Vol 119(2) pp 367-377.
2. Santana AB, Gurgel MSC, Montanari JFO, Bonini FM, Barros-Mazon S. Serum Amyloid A Is Associated with Obesity and Estrogen Receptor–Negative Tumors in Postmenopausal Women with Breast Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013 Jan;8 (22):270-274. Auxílio – FAPESP e FAEPEX.

Palavras chave: A-FABP, câncer de mama, obesidade, dislipidemia, hiperglicemia, SAA.

**(14.76) RELEVÂNCIA CLÍNICA DE INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS POTENCIAIS EM TERAPIA INTENSIVA.**

*Rodrigues, Aline Teotonio; Granja, Sílvia ; Falcão, Antonio Luis Eiras; Moriel, Patricia ; Mazzola, Priscila Gava;*

**Introdução:** A incidência de Interações Medicamentosas Potenciais (IMP) em prescrições de unidade de terapia intensiva (UTI) é conhecidamente superior à observada em outros setores hospitalares. O nível de complexidade tecnológica desta unidade, o elevado número de medicamentos a que os pacientes estão expostos e as dificuldades inerentes aos cuidados críticos são fatores que evidenciam a necessidade de cuidadosa análise da farmacoterapia utilizada em medicina intensiva. A avaliação das prescrições de UTI por um farmacêutico clínico, realizando o rastreamento e a discussão das IMP presentes em prescrição com a equipe intensivista, apresenta-se como uma importante contribuição na qualidade e na segurança da farmacoterapia utilizada. Nesse contexto, é fundamental que se conheça o perfil e a relevância clínica destas interações para a terapia intensiva, evitando o excesso de avisos originados pela presença de IMP irrelevantes clinicamente (fadiga de alertas).

**Objetivos:** Avaliar as IMP encontradas em prescrições de UTI adulto de um hospital da rede pública de saúde, quantificá-las e classificá-las quanto à sua gravidade, utilizando as bases de dados Micromedex® e Lexicomp® (Lexi-Interact™), traçando com isso um perfil das IMP mais recorrentes nesta unidade e sua relevância clínica em terapia intensiva.

**Métodos:** Estudo prospectivo, realizado no período de janeiro a dezembro de 2011. Foram coletadas e avaliadas prescrições de 369 pacientes (amostragem por conveniência), sendo selecionada de forma aleatória uma prescrição por paciente para o estudo. Os critérios de inclusão de pacientes foram: ter 18 anos ou mais, ter período de internação mínimo de 24 horas na UTI adulto e o mínimo de 2 medicamentos em prescrição. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 0882.0.146.000-10).

**Resultados:** Foram prescritos no período avaliado 205 diferentes tipos de medicamentos, média de  $13,04 \pm 4,26$  por prescrição. Entre as prescrições avaliadas 89% apresentaram IMP, obtendo-se uma média por prescrição de  $5,00 \pm 5,06$ . Os 405 tipos de IMP observadas nas prescrições foram classificadas, destacando-se a prevalência de interações moderadas e importantes, presentes em 74% e 67% das prescrições, respectivamente.

**Conclusão:** Os resultados encontrados contribuem para o delineamento do perfil de risco relativo às IMP em terapia intensiva. Diante do elevado número de IMP observadas destaca-se a necessidade de avaliação da relevância clínica destas interações, ressaltando a elevada incidência de interações potenciais moderadas e importantes, que em sua maioria não exigem troca ou suspensão de fármacos prescritos, mas pedem monitoramento adequado para possíveis sinais ou sintomas de eventos adversos. Este estudo demonstra a necessidade de atuação do farmacêutico clínico nesta área, a fim de contribuir com a equipe multidisciplinar na redução de riscos e manejo ideal das IMP em terapia intensiva.

**Palavras chave:** Interações medicamentosas, Terapia Intensiva, Farmacoterapia, Farmácia Clínica

**(14.77) AVALIAÇÃO DA SUSCETIBILIDADE “IN VITRO” DE ESPÉCIES DE CRYPTOCOCCUS ISOLADAS DE MATERIAL CLÍNICO DE PACIENTES ATENDIDOS NO HC-UNICAMP FRENTE AOS AGENTES ANTIFÚNGICOS EM DIFERENTES COMBINAÇÕES.**

*Reichert Lima, Franqueline ; Peron Haddad, Isabela ; Fidelis Busso Lopes, Ariane ; Lyra, Luzia ; Moretti, Maria Luiza ; Zaninelli Schreiber, Angelica ;*

Introdução: Apesar de todos os avanços na área de medicina, a criptococose permanece sendo uma das infecções fúngicas sistêmicas mais importantes no Brasil. A combinação de anfotericina B (AMB) e flucitosina (5-FC) tem sido a melhor escolha na terapia de indução da criptococose. Uma vez que no Brasil, 5-FC não está disponível, o tratamento dessa micose é feito com AMB sozinha ou em associação com fluconazol (FCZ). Objetivo: identificar os genótipos de isolados clínicos de *Cryptococcus* spp. provenientes de amostras clínicas de pacientes tratados no Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas e avaliar sua suscetibilidade frente a combinações de antifúngicos. Métodos: 80 isolados clínicos de *Cryptococcus* spp. de 57 pacientes com criptococose foram estudados. Os testes de suscetibilidade aos antifúngicos foram realizados conforme o documento M27-A3 do CLSI (2008) para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) dos antifúngicos AMB, 5-FC, FCZ, voriconazol (VCZ), itraconazol (ITZ) e terbinafina (TRB). A interação dos antifúngicos foi avaliada a partir da concentração inibitória fracional (CIF) utilizando o método do “tabuleiro de xadrez” e foram realizadas 4 diferentes associações: AMB+5-FC, AMB+FCZ, AMB+TRB e TRB+FCZ. A genotipagem foi realizada com a utilização do método restriction fragment length polymorphism do gene URA5 (URA5 – RFLP). Resultados: 66 isolados foram identificados como *C. neoformans* e 14 como *C. gattii*. Todos *C. gattii* pertenceram ao subtipo VGII enquanto que 62 (94%) isolados de *C. neoformans* pertenceram ao genótipo VNI e apenas 4 ao subtipo VNII. Os valores dos intervalos de CIM para *C. neoformans* foram AMB:  $\leq 0.125$ -1  $\mu\text{g/mL}$ ; 5-FC:  $\leq 0.125$ -2  $\mu\text{g/mL}$ ; FCZ: 0.25-8  $\mu\text{g/mL}$ ; TRB: 0.125-2  $\mu\text{g/mL}$ ; ITZ: 0.03-0.25  $\mu\text{g/mL}$  e VCZ:  $\leq 0.015$ -0.125  $\mu\text{g/mL}$ . Intervalos de CIM para *C. gattii* variaram de  $\leq 0.25$ -1  $\mu\text{g/mL}$  para AMB; 0.5-4  $\mu\text{g/mL}$  para 5-FC; 2-16  $\mu\text{g/mL}$  para FCZ; 0.5-4  $\mu\text{g/mL}$  para TRB; 0.06-0.5  $\mu\text{g/mL}$  para ITZ e 0.06-0.25  $\mu\text{g/mL}$  para VCZ. O genótipo VNI de *C. neoformans* mostrou 75.80% de interação sinérgica para AMB+5-FC; 79.03% para AMB+FCZ; 77.41% para AMB+TRB e 95.16% para TRB+FCZ. O genótipo VNII apresentou 100% de sinergismo em todas as combinações. *C. gattii* (VGII) apresentou 85.71% de sinergismo na combinação entre AMB+5-FC; 85.71% para AMB+FCZ; 100% para AMB+TRB e 85.71% para a combinação TRB+FCZ. Conclusão: Pode ser observada boa performance nas combinações realizadas, especialmente naquelas envolvendo a TRB para ambas as espécies *C. neoformans* e *C. gattii*. Para *C. gattii* observou-se mais de 80% de sinergismo frente a todas as combinações realizadas. Para isolados de *C. neoformans* subtipo VNI a melhor combinação foi FCZ+TRB (95.16% de sinergismo) e para o genótipo VNII observou-se 100% de sinergismo para todas as combinações estudadas, sugerindo a importância de determinar o genótipo das espécies de *Cryptococcus* spp. para guiar o tratamento. O genótipo VNI foi o predominante entre os genótipos que afetam os pacientes com criptococose na região de Campinas. Em infecções de difícil tratamento ou que não respondem aos antifúngicos convencionais, a combinação de diferentes antifúngicos como AMB+TRB ou FCZ+TRB podem vir a ser uma alternativa empregada na terapia em países onde 5-FC não está disponível, como no Brasil. Mais estudos são necessários para avaliar o papel do genótipo na sensibilidade aos antifúngicos. Além disso, estudos adicionais utilizando combinações de antifúngicos in vitro devem ser realizados para que novas estratégias terapêuticas possam ser empregadas no tratamento da criptococose.

Palavras chave: *Cryptococcus*; criptococose; genotipagem; suscetibilidade aos antifúngicos

**(14.78) NON-INVASIVE BIOMARKERS IN PLASMA OF PATIENTS WITH EPILEPSY: ASSESSING AN IMPROVED PROTOCOL FOR microRNAs EXTRACTION .**

*Lima, Beatriz Pereira de Sousa; Avansini, Simoni Helena; Torres, Fábio Rossi; Dogini, Danyella Barbosa; Vieira, André Schwambach; Santos, Marilza Lima; Rogério, Fabio ; Coan, Ana Carolina; Queiroz, Luciano Souza; Cendes, Fernando ; Cendes, Iscia Lopes;*

Introduction: One of the main challenges in modern medicine is treating disorders of the central nervous system (CNS), since many of the mechanisms underlying these disorders is unknown. In addition, to the complex mechanisms leading to neurological disorders there is the challenge of achieving an accurate diagnosis at an early stage. We have been studying focal cortical dysplasias (FCD), a malformation of the cerebral cortex which is often associated with intractable epilepsy. In patients with FCDs and medically refractory epilepsy it is possible to perform surgical resection of the abnormal tissue, containing the malformation, in order to achieve seizure control. Nevertheless, surgery indication may be delayed due to a long investigation period. Therefore, the identification of biomarkers for FCD, ideally obtained from peripheral blood could potentially improve the efficiency of diagnosis which in turn could lead to early treatment. One potential candidate for biomarkers is circulating microRNAs (miRNAs), small noncoding RNAs present in extracellular human body fluids including plasma or serum. It is well known that changes of miRNAs levels in circulation reflect changes in diseased tissues. In addition, miRNAs have demonstrated to i) have high stability in plasma, ii) to be strongly associated with specific disease states, iii) can be noninvasively and easily quantifiable. On the other hand, there are limitations for this potential biomarker. The small amount of circulation miRNAs and large amount of proteins, make it extracting miRNA from serum or plasma technically challenging. Thereby, to be able establish a protocol for microRNA extraction of high quality is essential for the following steps as qPCR and data analysis. Objective: To identify the most suitable method for extracting miRNAs from human plasma samples. Methods: We have tested four different commercial kits/reagents to identify which one offers more effectiveness in clinical samples preparation: mirVana PARIS kit (Ambion), TRIzol-LS (Life Technologies), miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen), and QIAamp Circulating Nucleic Acid (Qiagen). To date, blood samples were collected from 36 patients: 17 patients with FCD and intractable epilepsy; 19 patients with mesial temporal lobe epilepsy (MTLE) and 17 healthy control subjects. All blood samples were initially centrifuged at 1500 g for 10 minutes to separate the plasma and blood cells. The supernatant was carefully removed and centrifuged again at 12000 g for 10 minutes at 4°C. The collected plasma was used for the subsequent. RNA extraction was performed according to manufacturer's instructions, except for TRIzol-LS, for which we used a modified protocol including i) linear acrylamide addition before isopropanol, ii) an overnight precipitation step, iii) addition of butane and dieter to help with precipitation of contaminants. To identify if specific miRNAs species may be useful as biomarkers of pharmaco-resistance in patients with FCD we have used miRNA quantification performed by quantitative PCR (qPCR) using TaqMan (Life Technologies) assays. We have quantified hsa-miR-23a, hsa-miR-31 and hsa-miR-134, since they have been previously shown to be involved epileptogenesis. The differential miRNA expression will be analyze using Wilcoxon test. Results and conclusion: Overall, the different extraction methods resulted in similar results, including 260/280 and A260/230 ratios. TRIzol-LS produced a higher concentration of RNA. However, we observed that Ct values obtained using miRvana PARIS kit were the most suitable for quantification experiments; as well as it exhibited stable values in triplicate sample, which resulted in a better reproducibility of qPCR experiments.

Financial support: CEPID-FAPESP, CNPq and CAPES.

Palavras chave: Epilepsy, Biomarkers, microRNAs, plasma, FCD, extraction

**(14.79) APPLICATION OF LASER MICRODISSECTION OF HIPPOCAMPUS SUBFIELDS FOR RNASEQ ANALYSIS IN ANIMAL MODELS OF MESIAL TEMPORAL LOBE EPILEPSY WITHOUT STATUS EPILEPTICUS.**

*Vieira, Andre Schwambach; Berenguer, Alexandre Hilario; Canto, Amanda Morato; Gilioli, Rovilson ; Lopes-Cendes, Iscia ;*

A recently developed animal model based on long electrical stimulation of the perforant pathway (pp) in rats is capable of inducing hippocampal damage that more closely resemble that found in patients with mesial temporal lobe epilepsy (MTLE). Although this model has been well characterized, it remains unclear how different hippocampus subfields are affected. RNAseq based transcriptome analyzes offers the possibility of profiling global gene expression, and laser microdissection allows for analyzes of discrete cell populations. Therefore, the aim of the present study is to establish a protocol for precise RNA extraction from different hippocampus subfields. For surgery, six male adult Wistar rats were anesthetized with Isoflurane. Electrodes were implanted bilaterally in the dentate girus (DG) and in PP. After one week three rats were stimulated at 2 Hz with continuous paired 20V 0,1ms square pulses, with 40ms interpulse interval, intercalated with 10 seconds trains of 20Hz 20V 0,1ms square pulses applied at every minute. The above protocol was applied once for 30 minutes in two consecutive days, and was used for 8h in the third day. Control animals had electrodes implanted but were not stimulated. Fifteen days following stimulation rats were anesthetized with isoflurane, quickly euthanized by decapitation and the brain was quickly removed and frozen -60oC. Serial frozen sections (60um) were produced in a cryostat (Leica) and mounted in PEN covered glass slides (Zeiss). Slides were Nissl stained, dehydrated and the CA1, CA2, CA3 and the dentate gyrus from dorsal and ventral hippocampus was laser microdissected using Zeiss PALM LCM. RNA was extracted from microdissected samples. Stimulated rats presented extensive pyramidal layer lesions; however, we were able to obtain more than 500ng of high quality RNA (RIN > 7) from each microdissected region. The present protocol is adequate for the analysis of different hippocampus subfields by next generation sequencing.

Palavras chave: Epilepsy, experimental models, hippocampus, RNA-seq

**(14.80) ZIGOMICETOS: SUSCETIBILIDADE FRENTE A ANTIFÚNGICOS ISOLADOS E EM COMBINAÇÃO E CORRELAÇÃO COM IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR.**

*Fonseca, Adenilza Cristina da Silva; Lima, Franqueline Reichert; Lopes, Ariane Fidelis Busso; Muraosa, Yasunori; Kamei, Katusuiko; Lyra, Luzia; Moretti, Maria Luiza; Schreiber, Angélica Zaninelli;*

Zigomicose é uma infecção oportunista invasiva causada por fungos da classe Zygomycetes, de difícil tratamento e com mau prognóstico em pacientes imunocomprometidos. A terapia inclui a reversão dos fatores predisponentes, retirada cirúrgica da área infectada e administração de antifúngico, em geral, Anfotericina B, de atividade terapêutica limitada e muitos efeitos colaterais. Este trabalho teve como objetivos a avaliação de suscetibilidade a antifúngicos de isolados clínicos de zigomicetos através da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) (CLSI M38-A2, 2008) e avaliação da suscetibilidade aos antifúngicos em combinação (Eliopoulos et al., 1991), em busca de alternativas ao tratamento de zigomicose e detecção de diferenças de suscetibilidade possivelmente relacionadas a gênero e/ou espécie. Foram avaliados 10 isolados de espécimes clínicos de pacientes atendidos no HC-UNICAMP: *Cunninghamella bertholletiae* LIF 299, 300 e 301, *Rhizopus oryzae* LIF 1046, 1143, 1237, 1455 e 1832, *Rhizopus stolonifer* LIF 1820e *Syncephalastrum racemosum* LIF 1834 previamente identificados por sequenciamento da região D1/D2 constituinte do DNA ribossomal 5.8 S utilizando os iniciadores NL1/NL4, realizados com auxílio do Medical Mycology Research Center – Chiba – Japão. A determinação da CIM foi realizada para os antifúngicos: micafungina (MCF); anfotericina B (AMB); 5-fluorocitosina (5FC); fluconazol (FCZ); itraconazol (ITZ); voriconazol (VOR); miconazol (MCZ) e terbinafina (TERB). O teste de suscetibilidade in vitro aos antifúngicos em combinação foi realizado para as combinações: AMB x ITZ; AMB x VOR; TERB x ITZ; TERB x VOR e TERB x AMB. As CIMs obtidas foram: de 8 a  $\geq 16$   $\mu\text{g/mL}$  para MCF, 0,25 a 8  $\mu\text{g/mL}$  para AMB,  $\geq 64$   $\mu\text{g/mL}$  para 5FC, 16 a  $\geq 64$   $\mu\text{g/mL}$  para FCZ, 1,0 a 8  $\mu\text{g/mL}$  para ITZ,  $> 8$   $\mu\text{g/mL}$  para VOR e 0,25 a 4  $\mu\text{g/mL}$  para MCZ e de 0,016 a  $> 16$   $\mu\text{g/mL}$  para TERB. Os resultados dos testes de suscetibilidade in vitro aos antifúngicos isolados mostraram que todos os isolados foram resistentes a MCF, 5FC, FCZ e VOR; os antifúngicos mais ativos contra a maioria das cepas foram AMB e ITZ e *Cunninghamella bertholletiae* e *Syncephalastrum racemosum* foram bem mais sensíveis a TERB com valores de CIMs bem baixos em relação a *Rhizopus oryzae* e *Rhizopus stolonifer*. Os resultados do teste de combinação aos antifúngicos demonstraram em 100% de sinergismo nas interações entre AMB x VOR e AMB x ITZ. Nas interações entre TERB x ITZ foi observado 90% de sinergismo e 10% de indiferença. As interações resultantes da combinação de TERB x VOR foram de 80% de sinergismo e 20% de indiferença. A combinação de TERB x AMB demonstrou 100% de sinergismo. Através dos resultados observa-se que além da anfotericina B, outros antifúngicos possuem atividade in vitro contra zigomicetos e que a combinação de antifúngicos poder ser promissora no tratamento de zigomicose resultando em uma redução de toxicidade em relação às dosagens individuais, na dependência do tipo de interação resultante entre os antifúngicos avaliados. A literatura relata diferenças nos perfis de suscetibilidade in vitro para diferentes gêneros e espécies de Mucorales o que também se observa em nossos resultados, apesar da baixa incidência destes micro-organismos em nossa instituição. Sendo assim, a realização de testes de suscetibilidade a antifúngicos associada a identificação correta dos agentes causais é de extrema importância para orientação terapêutica, uma vez que algumas espécies de zigomicetos apresentam perfis diferenciados.

Palavras chave: Zigomicetos, testes de suscetibilidade, combinação de antifúngicos

**(14.81) AVALIAÇÃO DE SUSCETIBILIDADE DE HIFAS E CONÍDIOS DE RHIZOPUS ORYZAE FRENTE AOS ANTIFÚNGICOS DISPONÍVEIS PARA TRATAMENTO: ESTUDO DE UM CASO CLÍNICO.**

*Fonseca, Adenilza Cristina da Silva; Teixeira-Loyola, Ana Beatriz Alkmim; Lyra, Luzia; Lopes, Ariane Fidelis Busso; Muraosa, Yasunori; Taguchi, Hideaki; Moretti, Maria Luiza; Schreiber, Angélica Zaninelli;*

Os zigomicetos são fungos da classe Zygomycetes, ordem Mucorales, caracterizados por hifas largas, hialinas e raramente septadas, sendo responsáveis por uma doença invasiva denominada de zigomicose. A identificação correta destes fungos é um dos principais questionamentos levantados na literatura já que o diagnóstico não é simples, sendo necessário a detecção em biópsias de tecidos infectados e isolamento do micro-organismo para posterior identificação por métodos morfológicos e moleculares. Os resultados dos testes de suscetibilidade *in vitro* ainda não são totalmente claros uma vez que há alguns relatos demonstrando que a resistência micológica *in vitro* nem sempre significa fracasso terapêutico. Embora testes de suscetibilidade a antifúngicos tenham sua execução padronizada com conídios, alguns estudos utilizando hifas de outras espécies fúngicas demonstraram que estas podem responder a concentrações mais baixas de agentes antifúngicos do que os conídios podendo ter uma melhor relação com o efeito do tratamento antifúngico nas infecções. Sendo assim, através do teste de avaliação de crescimento dinâmico pelo sistema automatizado BCTâ (BioCell-Tracer®) é possível mimetizar uma situação de crescimento do fungo bem semelhante à que acontece no organismo, através do acompanhamento do crescimento da hifa. Neste relato é descrito um caso de zigomicose rino-órbito-cerebral por *Rhizopus oryzae* em paciente etilista com pancreatite crônica e diabetes mellitus secundária envolvendo o diagnóstico microbiológico, os testes de suscetibilidade a antifúngicos, realizado para conídios e hifas, e a correlação clínico-laboratorial, uma que foi observado sucesso terapêutico. Para isto, determinamos a concentração inibitória mínima (CIM) do isolado de zigomiceto *Rhizopus oryzae* isolado de espécime clínico de paciente atendido no HC-UNICAMP-Campinas-SP previamente identificada por métodos morfológicos e moleculares, aos antifúngicos isolados: anfotericina B (AMB), itraconazol (ITZ) and terbinafina (TERB) pelo método de microdiluição em caldo estabelecido pelo CLSI (M38-A2,2008); realizou-se o teste de avaliação de crescimento dinâmico pelo sistema automatizado BCTâ (BioCell-Tracer®) determinando o controle de crescimento da hifa e o efeito de diferentes concentrações dos antifúngicos anfotericina B, terbinafina e itraconazol sob este crescimento; determinou-se também a concentração inibitória fracional (CIF) de acordo com a metodologia do “tabuleiro de xadrez” frente à combinação dos antifúngicos: terbinafina x itraconazol (que foi administrada ao paciente. O micro-organismo isolado do abscesso retro-orbitário foi identificado inicialmente por metodologia clássica de avaliação de micromorfologia como sendo *Rhizomucor sp.* e após identificação molecular foi classificado como sendo *Rhizopus oryzae* por seqüenciamento da região D1/D2 constituinte do DNA ribossomal 5.8S utilizando os iniciadores NL1/NL4, com confirmação das seqüências obtidas pelo Medical Mycology Research Center (Universidade de Chiba/Japão). Os resultados dos testes de concentração inibitória mínima (CIM) do estudo avaliando conídios da cepa de *Rhizopus oryzae* revelou alta sensibilidade frente a anfotericina B e itraconazol quando comparada à CIM obtida para terbinafina. Os testes no sistema automatizado BioCell-Tracer®, que permite a avaliação de hifas, confirmou a sensibilidade do micro-organismo frente aos antifúngicos avaliados. A combinação *in vitro* de terbinafina e itraconazol demonstrou sinergismo. Assim, os dados obtidos foram bastante promissores no sentido de comprovar *in vitro*, o sucesso terapêutico obtido *in vivo* com a terapêutica inicial de anfotericina B, seguida de manutenção com a associação de itraconazol e terbinafina. Num futuro próximo, espera-se que estes teste possam ser realizados para orientação da terapêutica.

Palavras chave: Zigomicose, testes de suscetibilidade a antifúngicos, hifas, conídios, identificação morfológica e molecular.

**(14.82) ASSOCIAÇÃO ENTRE VARIÁVEIS CLÍNICAS RELACIONADAS À ASMA EM ESCOLARES E ADOLESCENTES NASCIDOS PREMATUROS, COM MUITO BAIXO PESO, COM E SEM DISPLASIA BRONCOPULMONAR.**

*Gonçalves, Emília Silva ; Toro, Adyléia A. D. Contrera; Filho, Francisco Mezzacappa; Severino, Silvana Dalge; Ribeiro, Maria Ângela G. O.; Morcillo, André Moreno ; Marson, Fernando A. L. ; Ribeiro, José Dirceu ;*

Resumo: Objetivo: determinar e comparar a prevalência e fatores de risco para asma em escolares e adolescentes que nasceram com muito baixo peso(RNMBP), <1500gramas, com e sem displasia broncopulmonar(DBP). Método: Estudo comparativo, observacional, de corte transversal com componente analítico. Aplicou-se aos pais, o questionário do International Study of Asthma and Allergies in Childhood(ISAAC) e aos sujeitos o teste cutâneo de hipersensibilidade imediata (TCHI). Resultados: Sexo masculino: 33/54(61,1%), idade: 9,9±0,92 anos. Sexo feminino: 21/54(38,9%) com idade: 9,9±0,90 anos; (p=0,810). Não houve diferença estatística para peso de nascimento entre os gêneros (p=0,423). Caucasoides: 47/54(87%). A idade foi menor no grupo com DBP (9,5+085 vs 10,1+0,86) p=0,014. A média de peso ao nascer também foi menor no grupo com DBP (916,7±251,2 vs 1171,3±190,5) p=0,001. A prevalência de asma entre os RNMBP foi 17/54(31,5%). No grupo com DBP foi 6/18(33,3%)IC95%: 13,3-59,0 e no grupo sem DBP de 11/36(30,6%) IC95%: 16,3-48,1 (p>0,005). Não houve associação entre DBP e gravidade da asma (p=0,620) e entre DBP e número de pneumonias (p=1,000). Nos fatores de risco da asma houve associação entre asma e uso de cobertor de lã no primeiro ano de vida (p=0,026). No grupo com asma o TCHI foi positivo em 13/17(76,5%) e no grupo sem asma 23/37(62,2%) (p=0,364) OR: 1,954(0,473-9,884). Conclusão: Os RNMBP avaliados entre 7,9 e 11,5 anos de idade, com e sem DBP, tiveram prevalências elevadas de asma, porem sem diferença estatística entre os grupos. Os fatores de risco para asma não foram estatisticamente diferente entre os grupos estudados.

Palavras chave: displasia broncopulmonar; prematuridade; asma

**(14.83) AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE LACTENTES APÓS TRIAGEM NEONATAL POSITIVA PARA FIBROSE CÍSTICA.**

*Gomez, Carla Cristina Souza; Servidoni, Maria de Fátima ; Ribeiro, Maria Ângela Gonçalves de Oliveira; Toro, Adyléia Aparecida Dalbo C.; Marson, Fernando Lima; Ribeiro, Antônio Fernando ; Ribeiro, José Dirceu ;*

**Introdução:**A triagem neonatal (TNN) foi criada para diagnosticar precocemente diversas doenças congênitas ao nascimento, antes do aparecimento dos sintomas clínicos. Após a implantação da TNN os pacientes com FC estão sendo identificados antes do primeiro ano de vida. **Objetivos:**Avaliar as manifestações clínicas e alterações laboratoriais de lactentes com TNN positivo para FC em seu primeiro ano de vida acompanhados no Centro de Referência para atendimento de FC do HC/UNICAMP. **Metodologia:** Estudo descritivo de corte transversal. Os pacientes foram encaminhados pelo programa de TNN da universidade com duas amostras de IRT alteradas e um ou nenhum teste do suor positivo. **RESULTADOS:** Entre os 24 pacientes: 16 eram do sexo masculino, 21 eram brancos e três óbitos (2010, 2011 e 2012). O IRT foi realizado durante a primeira e com três ou quatro semanas de vida. Os valores médios foram: IRT1 = 191ng/ml e IRT2 = 207ng/ml. Os valores médios de TS foram 100.3 e 110 mEq / l. 90% apresentavam manifestações respiratórias e 33,33% com a colonização pulmonar por *P. aeruginosa*. Todos os 24 pacientes apresentavam manifestações digestivas, 21% dos pacientes tiveram índices positivos em gordura nas fezes. No primeiro mês de vida, 16,66% e 12,5% os lactentes já haviam sido hospitalizados por doenças respiratórias e digestivas, respectivamente. A condição de saúde clínica mais grave aconteceu entre 3 e 6 meses de vida, em que 45,83% foram hospitalizados (20,83% e 25% com distúrbios metabólicos e respiratórios). Na avaliação de 0,3 e 6 meses de vida todos os lactentes apresentaram um ou mais das seguintes características: diarreia, desnutrição, peso percentil <3, tosse persistente, desidratação e exacerbações pulmonares. Nenhum paciente apresentou as características acima entre os 9 e 12 meses de idade. **Conclusão:** Os lactentes com FC, após TNN, melhoraram o estado nutricional, as condições metabólicas, diminuíram as internações por distúrbios respiratórios no decorrer do primeiro ano de vida. **Palavras chave:** triagem neonatal, fibrose cística, sintomas clínicos e exames laboratoriais.

**(14.84) IDENTIFICATION OF A MOLECULAR MECHANISM LEADING TO FAILURE IN NEUROGLIAL DIFFERENTIATION IN FOCAL CORTICAL DYSPLASIAS (FCDs) OFFERS CLUES TO BRAIN DEVELOPMENT AND EPILEPTOGENESIS.**

*Avansini, Simoni Helena ; Torres, Fábio Rossi ; Dogini, Danyella Barbosa; Rogério, Fábio ; Vieira, André Schwambach; Coan, Ana Carolina; Queiroz, Luciano Souza; Cendes, Fernando ; Cendes, Iscia Lopes;*

**BACKGROUND:** The formation of the cerebral cortex involves complex steps, requiring tightly regulated molecular mechanisms for the efficient control of gene expression. Some of the molecular pathways that control gene expression are performed by microRNAs (miRNAs), a class of non-coding RNAs that regulate gene expression at the post-transcriptional level. FCD is characterized by a spectrum of abnormalities in the development of the laminar structure of the human cerebral cortex usually associated with cell abnormalities, giant/dysmorphic neurons and balloon cells and severe drug-resistant epilepsy. The mechanisms involved in the pathogenesis of type II FCD are not completely understood. In addition, it is unclear how abnormal cortical development can contribute to severe seizure generation in cortical dysplastic tissue. **OBJECTIVE:** Our main objective was to determine whether abnormal miRNA regulation could be present in type II FCD. In addition, we aimed to identify potential miRNA target-genes abnormally expressed. By accomplishing these aims we believe that we could help clarify the molecular mechanisms involved in the development of FCDs as well as in seizure generation in these abnormalities. **DESIGN/METHODS:** We studied cortical tissue from 17 patients with FCD type II (nine patients with type IIA FCD and eight with type IIB FCD) who underwent selective resection of the cortical structures for treatment of clinically refractory seizures. Control samples (n=20) were obtained from autopsies of individuals whose cause of death were other than central nervous system diseases. Total RNA was isolated with RecoverAll™ kit (Ambion) and RNA integrity was assessed by Agilent RNA Pico Chip Kit and Bio-Analyzer 2100. MiRNA expression profile was assessed by Affymetrix GeneChip platform miRNA array. Background correction, summarization and normalization were performed by RMA function. MiRNA expression was analyzed using RankProd (FDR  $p < 0.05$ ). Bioinformatics algorithms were used for identification of miRNA-regulated genes and their putative function. Quantitative PCR (qPCR) (TaqMan™ - Life Technologies) and in situ hybridization (ISH) (Exiqon) and laser capture microdissection (LCM) were used to validate results of miRNAs screening experiments and to assess expression and localization of target-genes. **RESULTS:** Microarray analysis revealed 39 miRNAs which were downregulated and only one miRNA overexpressed. Decreased expression of three miRNAs was validated by qPCR: hsa-miR-31, hsa-miR34a and hsa-let-7f. In addition, overexpression (five times increase) of NEUROG2 gene, a possible target-gene regulated by hsa-miR-31, was observed in type II FCD. Furthermore, when analyzing specific regions by LCM, we found that NEUROG2 was specifically overexpressed in white-matter as compared to control. **CONCLUSIONS:** Our results indicate that the three microRNAs, confirmed to be downregulated could lead to the abnormal histopathological features seen in type II. It has been shown that NEUROG2, in cerebral cortex, has a specific temporo-spatial expression pattern, since it is exclusively detected in the ventricular zone, where the precursor-cells are located only during neurogenesis. It has been demonstrated that down-regulation of NEUROG2 is a key step in the transition phase between inhibition of neurogenesis and induction of early gliogenesis. Therefore, our results support the hypothesis of failure in neuronal differentiation in FCDs, since the transition from neurogenesis to gliogenesis may be hampered by the abnormally increased expression of NEUROG2 which was found in our study. Therefore, we can speculate that the high epileptogenicity seen in FCD lesions are probably a consequence of incomplete cellular maturation. Supported by: CEPID-FAPESP

Palavras chave: cerebral cortex , malformation, epilepsy, microRNAs, differentiation,

**(14.85) ANÁLISE COMPORTAMENTAL DE LARVA DE DANIO RERIO EXPOSTO A SOLUÇÃO DE PTZ 15mM**

*de Oliveira, Renato Aparecido; Maurer-Morelli, Cláudia Vianna ;*

**Introdução:** Este estudo faz parte de um estudo maior que visa investigar o perfil de expressão global de miRNAs no cérebro de zebrafish após indução de crises epiléticas de longa duração e que mimetizem um status epilepticus (SE). As crises epiléticas são características comuns das epilepsias e se devem a uma hiperexcitabilidade e hipersincronia de grupos de neurônios do cérebro. O SE é uma condição na qual as crises epiléticas mantêm-se de forma contínua ou recorrente sem que haja recuperação entre as crises. Devido às sérias consequências neurológicas e a alta mortalidade que acompanham o SE, ela tem sido alvo de investigações tanto em humanos como em modelos animais. Os modelos animais mais utilizados em pesquisas são os murinos, por serem mamíferos e de pequeno porte. Contudo, recentemente o zebrafish (*Danio rerio*) tem sido apontado como uma alternativa aos modelos clássicos, principalmente em investigações genéticas. Ainda que o SE não tenha sido caracterizado no zebrafish, estudos já consolidaram o peixe como modelo para estudos de crises epiléticas. Dentre as vantagens de se estabelecer um protocolo que mimetize o SE no zebrafish estão: a facilidade que este modelo oferece para as investigações moleculares e a possibilidade de criar protocolos para estudos de novos fármacos que atuem nessa condição. **Objetivos:** Caracterizar o comportamento de larvas de *Danio rerio* com sete dias de vida pós-natal (7dpf) expostas à solução de Pentilenotetrazol (PTZ) 15mM em situação que mimetize status epilepticus.

**Métodos:** Larvas de 7dpf foram colocadas individualmente em poços de uma placa de 24 wells contendo solução de PTZ em concentração de 15 mM pelo período de 3h. O comportamento desses animais foi filmado utilizando-se uma câmera JVC modelo GZ-EX210. As filmagens foram realizadas em três etapas: filmagem contínua de (i) 0.0h a 45min, (ii) 1h a 1:45h e (iii) 2h a 3h. Posteriormente foram analisados os vídeos de 24 animais, sendo 12 experimentais e outros 12 controles. **Resultados:** Durante a exposição ao PTZ, as larvas apresentaram comportamento como descrito previamente por Baraban et al. (2005), mas em um padrão recorrente e marcado pela perda da capacidade de flutuação em um estágio mais avançado da exposição (15 à 20 minutos). Interessantemente, notou-se que durante a exposição e com o passar do tempo, o período em que o animal permaneceu “em crise”, aumentou gradualmente influenciado pelo tempo que o animal permaneceu com perda de postura. **Conclusão:** Após o início da recorrência dos eventos que marcam a crise epilética em larva de zebrafish, nota-se que não há sinais de recuperação e nem tão pouco um retorno para um comportamento normal dos animais. Toda essa primeira análise comportamental sugere que nosso protocolo experimental de crises recorrentes é semelhante ao de um SE já descrito previamente para outros modelos. Contudo, sabemos que o padrão ouro para definir o SE é a coleta de dados eletrográficos que pretendemos fazer em outra fase do estudo.

**Suporte:** FAPESP CEPID/BRAINN e CNPq. **Palavras chave:** Zebrafish, Epilepsia, Status Epilepticus

**(14.86) CHARACTERIZATION OF SEIZURE-LIKE BEHAVIOR OF FREE SWIMMING ZEBRAFISH LARVAE SUBMITTED TO HYPERTHERMIA AND PENTYLENETETRAZOLE SEIZURE-INDUCING MODELS.**

*Gonsales, Marina Coelho; Gabriel, Guilherme Paiva; Lopes-Cendes, Iscia ; Maurer-Morelli, Cláudia Vianna;*

**INTRODUCTION:**The zebrafish (*Danio rerio*) has been recognized as a promising animal model for the investigation of human diseases, with successful applications in epilepsy studies. Recently, it has been shown that seizure-like responses can be evoked in zebrafish larvae and adults as response to a common convulsant agent, pentylenetetrazole (PTZ). Zebrafish treated with PTZ display alterations similar to those seen in rodents, the main model for epilepsy. Even though the characterization of PTZ-induced seizures in zebrafish is well-established, the behavior of free swimming larvae exposed to this agent in ages earlier than 7 days post-fertilization (dpf) has not been assessed. A recent study has also shown a novel model of hyperthermia-induced seizures in larval zebrafish which simulates febrile seizures, the most common seizure type observed in the early childhood. The study evaluated electrographic activity in larvae embedded in agarose. However, no behavioral assessment was made in free swimming larvae. Thus, further work on the zebrafish model of hyperthermia-induced seizures is required for a better understanding of the mechanisms underlying febrile seizures. **OBJECTIVE:** The aim of this study is to characterize the seizure-like behavior of free swimming zebrafish larvae of 3 and 5 dpf in two seizure-inducing models: hyperthermia and PTZ. **METHODS:** A pilot study was performed using larvae of two ages (3dpf and 5dpf) in three groups each: hyperthermia, PTZ and control. Five larvae were analyzed in each group for the age of 3dpf (total = 15) and 15 larvae in each group for the age of 5dpf (total = 45). Each animal was placed in a Becker containing 20 ml of water and observed during 10 minutes. Water temperature for the hyperthermia group was maintained at 35°C using dry-bath equipment. This temperature had been previously established as optimal for hyperthermia studies by our research group. For the PTZ and control groups, temperature was kept at 25°C. Pentylenetetrazole 15mM was added to the water for the PTZ-treated group. **RESULTS:** Larvae in the hyperthermia group presented hyperlocomotion compared to the control group. All 3dpf larvae remained resting in the first minute with later increase in natatory activity, while 5dpf larvae were already hyperactive in the first minutes. Larvae moved towards the top and then displayed buoyancy dysregulation, marked by an inability to remain at a constant elevation, frequently accompanied by passive vertical drift (Cartesian diver behavior). The number of seizure-like response was variable in both ages, with a few larvae presenting only increased natatory activity and others presenting up several seizures, usually characterized by circling and 'jittery' swimming, spasms and tremor followed by ataxia. Seizure latency appears to be higher in 3dpf than in 5dpf larvae. All PTZ-treated larvae in both ages remained hypoactive during the first minutes of exposition. Seizures were characterized by rapid 'whirlpool-like' (spiraling) swimming, either around edge of the Becker or with smaller amplitude, clonus-like convulsions and subsequent loss of posture. The number of seizures was similar in both ages. PTZ-treated larvae of 5dpf presented higher seizure latency than the ones with 3dpf. **CONCLUSION:** Our preliminary results illustrate a number of characteristic behaviors evoked by two different seizure-inducing models. There appear to be less sensibility to temperature-induced seizures in younger larvae, while 3dpf larvae submitted to PTZ presented seizure-like behaviors earlier than those of 5dpf. However, we still cannot confirm whether latency correlates with age in these cases. Since the studies using zebrafish to elucidate the basis of seizure generation are still relatively scarce, our study may provide new insights into the mechanisms underlying seizures. Supported by: CEPID-FAPESP

Palavras chave: animal model, epilepsy, febrile seizures

**(14.87) APLICAÇÃO CLÍNICA DO SEQUENCIAMENTO DE EXOMAS: AVALIAÇÃO E PROPOSTA DE UTILIZAÇÃO NO ÂMBITO DO SISTEMA PÚBLICO DE SAÚDE.**

*Prota, Joana ; Guimarães Borges, Murilo ; Oliveira Ribeiro, Patrícia Aline ; Carvalho, Benilton ; Steiner, Carlos Eduardo ; Benaglia, Tatiana ; Marques de Faria, Antonia Paula ; Lopes Cendes, Iscia ;*

Os gastos crescentes dos sistemas de saúde ao redor do mundo têm sido alvo de preocupação de gestores, profissionais de saúde e usuários. A incorporação de novas tecnologias aos exames complementares é um dos fatores responsáveis por esse fenômeno e a oneração dos sistemas de saúde não necessariamente representa melhorias diagnósticas ou terapêuticas. Diante deste impasse surgiram os estudos de avaliação de tecnologias em saúde, dentre eles, as análises de custo-efetividade. Na área da genômica, o advento do sequenciamento de nova geração propiciou a redução dos custos das ferramentas genômicas e por conseguinte viabilizou a ampliação dessas abordagens, antes utilizadas apenas como ferramentas de pesquisa, para aplicações clínicas. Frente a tal perspectiva, este projeto demonstrativo propõe avaliar o sequenciamento completo de exomas como método diagnóstico, dentro do fluxograma da investigação complementar, para diferentes grupos de doenças de provável etiologia genética, no âmbito do sistema público de saúde e em conformidade com a Política Nacional de Gestão de Tecnologias em Saúde. Até o momento, foram coletadas amostras de dez trios (propósito e pais) para sequenciamento completo de exoma e em todos os casos os responsáveis legais pelos propósitos mostraram-se interessados em saber não apenas os achados relacionados ao diagnóstico principal, mas também os possíveis achados incidentais (achados secundários passíveis de uma intervenção médica terapêutica, embora não relacionados com o diagnóstico de base) decorrentes desta técnica, esse fato possivelmente nos aponta para um novo direcionamento em termos de aconselhamento genético e para a necessidade de discutir e estabelecer parâmetros para o uso de dados genômicos num contexto clínico-diagnóstico. Outro desafio em enfrentamento na atual fase do projeto é a análise dos dados genômicos através de ferramentas de bioinformática. A proposta final do projeto é, diante dos dados coletados e analisados, procedermos uma análise econômica em saúde, através de avaliações de custo-efetividade e custo-minimização para estimarmos o impacto orçamentário da incorporação deste teste genético no fluxograma diagnóstico das condições determinadas geneticamente no rol de procedimentos do SUS.

Palavras chave: exoma, diagnóstico, custo-efetividade, avaliação de tecnologias em saúde.

**(14.88) SIGNIFICADOS PSICOSSOCIAIS DAS VIVÊNCIAS DE PACIENTES COM DOR CRÔNICA: UMA REVISÃO.**

*Lima, Daniela Dantas; Alves, Vera Lucia Pereira; Caruy, Cristina Aparecida Arrivabene; Turato, Egberto Ribeiro;*

**Introdução:** Uma dor que dura mais de três meses é considerada incapacitante e afeta vários níveis de atividade do sujeito, bem como sua interação social e conseqüentemente seu bem estar. A dor crônica (DC) é uma experiência complexa influenciada, além de fatores biológicos, pelo ambiente sociocultural do indivíduo, por suas crenças, expectativas, atitudes, e o significado que atribui a ela. Pode ser entendida, deste modo, como um jeito de ser no mundo, não estando necessariamente localizada em determinada parte do corpo. Acometeria o indivíduo integralmente por tomar sua atenção, despertar dúvidas, sofrimento, alterar seu papel familiar, modificar sua condição de trabalho, limitar suas possibilidades de lazer e assim por diante. Entende-se com isso que não é possível compreender um processo de dor sem que se compreenda o contexto individual do paciente. Para compreender a DC é necessário dar voz à experiência do paciente. Diante disto, embora se saiba da importância da produção científica tradicionalmente biomédica dos estudos voltados ao entendimento isolado de repercussões físicas, psicológicas ou sociais, compreende-se que é essencial a realização de estudos que tratem das vivências desses indivíduos partindo de uma visão integrada do ser. **Objetivo:** Traçar um panorama sobre as publicações científicas atuais que tratem das vivências de indivíduos com DC utilizando metodologia qualitativa de pesquisa. **Método:** Foi realizado um levantamento bibliográfico na base de dados PubMed, utilizando-se a associação dos termos chronic pain, life experiences e qualitative; considerando-se as publicações do período de 2008 a 2013. Obteve-se 51 artigos e a partir da leitura de seus resumos, 14 foram eleitos para realização deste trabalho. Foram realizadas leituras e releituras do conjunto do material coletado e os significados advindos foram tratados através de análise de conteúdo. **Resultados e Discussão:** Os achados dos estudos foram agrupados de acordo com a afinidade temática e categorizados em temas. Estes achados apontam principalmente para as necessidades de adaptação do indivíduo à DC enfatizando as habilidades que desenvolvem para enfrentar de modo bem sucedido seu problema. Descrevem este percurso ressaltando aspectos físicos e psicossociais, passando pelos percalços nas relações com a equipe de saúde e entes próximos, culminando com um processo de reformulação de sua identidade. **Conclusões:** Não é escassa a produção científica sobre vivências de DC, entretanto percebe-se a tendência nesses trabalhos em direcionar o foco da investigação perdendo-se o que pode ser compreendido da real experiência do indivíduo. **Palavras chave:** Dor crônica, Experiência de vida, Psicossomática, Estudo qualitativo, Estresse psicológico, Revisão.

**(14.89) AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL DE ZEBRAFISH EXPOSTO A SUCESSIVAS CRISES EPILÉPTICAS INDUZIDAS POR PENTILENOTETRAZOL.**

*Mangolin, Rafael Felipe Pires; Maurer-Morelli, Cláudia Vianna;*

**Introdução:** Asepilepsias formam um conjunto de condições neurológicas crônicas, caracterizadas por crises epiléticas recorrentes e que afetam mais de 1% da população geral. Parte do conhecimento adquirido sobre os mecanismos que permeiam as crises epiléticas e suas consequências advém de modelos animais experimentais. Nesse contexto, o zebrafish (*Danio rerio*) possui um grande potencial, visto que possuem características que trazem muitas vantagens para os estudos genéticos e de desenvolvimento. Uma discussão importante é se crises epiléticas repetidas podem causar danos ao SNC. Como parte de um projeto maior, estamos investigando se o modelo de zebrafish apresenta alguma consequência estrutural em seu cérebro em decorrência das crises epiléticas. Para isso estamos, em uma primeira fase, estabelecendo diferentes protocolos de indução química de crises epiléticas. Sendo assim, este trabalho visa apresentar os achados comportamentais preliminares de um protocolo de indução de crises epiléticas alternada durante uma semana em cérebros de animais adultos. **Métodos:** 15 animais adultos (wild-type zebrafish) foram expostos ao Pentilenotetrazol (PTZ) na concentração de 15mM para eliciação de crises epiléticas em adultos. Os animais foram retirados da solução após a perda de postura (o que caracteriza uma crise epilética completa) sendo esse período registrado por uma câmera de vídeo JVC HD Everio GZ-EX210. Esses vídeos foram analisados cuidadosamente e os tempos de latência medidos em segundos para cada uma das três induções e posteriormente realizada análise estatística pelo teste de Mann-Whitney. **Resultados:** A média dos tempos obtida em segundos, para a análise de latência foi:  $110,7 \pm 20,18$  (s) para o primeiro dia,  $171,3 \pm 89,44$  (s) para o segundo dia e  $206,3 \pm 50,67$  (s) para o terceiro dia de indução. Houve diferença significativa entre o primeiro e terceiro dia com  $p = 0,0011$ , entretanto, não houve significância entre o primeiro e segundo dia ( $p = 0,1657$ ), e entre o segundo e terceiro dia  $p = 0,3010$ . A média dos tempos obtida em segundos, para a análise da duração das crises foi:  $66,2 \pm 48,39$  (s) para o primeiro dia,  $42,67 \pm 18,27$  (s) para o segundo dia e  $47,07 \pm 28,69$  (s) para o terceiro dia de indução ( $p > 0,9$ ). **Conclusão:** Apesar de iniciais, os dados comportamentais obtidos mostram que a exposição repetida ao PTZ altera o padrão comportamental do animal induzido à crise epilética. O aumento da latência para atingir a crise epilética pode indicar que eventos protetores podem estar envolvidos neste mecanismo.

Suporte: FAPESP CEPID/BRAINN

Palavras chave: Zebrafish, Epilepsia, Status Epilepticus

**(14.90) APLICAÇÃO DA TÉCNICA DE MLPA PARA TRIAGEM DE MUTAÇÕES DO CROMOSSOMO X EM INDIVÍDUOS COM DEFICIÊNCIA INTELLECTUAL DE CAUSA INDETERMINADA.**

*Henrique, Pamela Pontes; Lincoln-de-Carvalho, Carolina Rodrigues; De Mello, Maricilda Palandi; Marques-de-Faria, Antonia Paula;*

A deficiência intelectual (DI) é caracterizada por significativa heterogeneidade causal e investigação diagnóstica complexa, com cerca de 40% dos casos permanecendo de origem indeterminada. Entre as causas genéticas da DI estão as cromossomopatias, as heredopatias monogênicas, incluindo diversos erros inatos do metabolismo e o grupo classificado como DI ou retardo mental ligado ao X (RMLX). Nesse grupo, destaca-se a síndrome do X-Frágil, principal causa monogênica de DI, bem como muitas outras condições que se associam ou têm a DI como manifestação principal e são determinadas por genes do cromossomo X. O RMLX ocorre entre 10–12% de todos os homens com DI, provavelmente pelo maior número de genes no cromossomo X, em comparação a qualquer segmento autossômico. Já foram listadas pelo menos 215 condições ligadas ao X e associadas a DI, sendo 98 classificadas como RMLX síndrômico, 51 como distúrbios neuromusculares e 66 como RMLX inespecífico ou não síndrômico. Cerca de 90 genes seriam determinantes de RMLX, porém, mesmo com o conhecimento do papel de vários desses genes, há aspectos a serem elucidados, como a contribuição de cada um deles na determinação da DI, ou ainda a correlação genótipo-fenótipo, cuja análise depende da ampliação diagnóstica nos indivíduos afetados. Entre os métodos que permitem a investigação molecular dessas condições, destaca-se a Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA), por sua rapidez, sensibilidade e baixo custo. O presente estudo tem por objetivo principal investigar alterações em genes ligados ao cromossomo X, pela técnica de MLPA para RMLX, em indivíduos do sexo masculino com DI, atendidos no Serviço de Genética Clínica do Departamento de Genética Médica da FCM–UNICAMP, com diagnóstico etiológico indeterminado após realização do exame de cariótipo convencional, pesquisa da mutação do X frágil e de rearranjos cromossômicos subteloméricos. Até o momento, foram investigados 66 indivíduos com o kit SALSA MLPA P106-B1 MRX (MRCHolland, Amsterdã, Holanda – <http://www.mlpa.com>). Para genotipagem foi utilizado o sequenciador ABI–PRISM® 3500-XL DNA Analyser (4 capilares) (Applied Biosystems–Applied Biosystems Corporation, USA). As reações foram analisadas por planilha caseira desenvolvida para o kit, baseada em programa Excel, que inclui todos os passos para a normalização dos dados, além de correções para efeitos característicos da maioria das misturas de sondas (decréscimo na altura/área do pico dependente da sonda). Dos indivíduos analisados, 63 apresentaram resultado na faixa de normalidade. Em três indivíduos houve evidências de alterações em genes já relacionados ao RMLX, interpretadas como duplicações e ainda dependentes de confirmação. Uma delas ocorreu no gene HUWE1 (caso P13), que tem participação no controle da diferenciação neural e com mutações descritas em algumas famílias com DI de moderada a grave; a outra no gene ARX (caso P39), relacionado a mais de uma condição classificada como RMLX síndrômico; e as últimas nos genes GDI1 e SLC6A8 do mesmo paciente (caso P139), sendo o primeiro associado a RMLX não síndrômico e o segundo incluído entre as síndromes de deficiência de creatina, com fenótipos variando de DI leve e atraso de fala até DI grave, convulsões e alterações de comportamento no sexo masculino. Para o próximo período, pretende-se confirmar e validar essas e outras alterações que vierem a ser detectadas, por meio de técnicas independentes, de acordo com tamanho e tipo de alteração encontrada. A possibilidade de ampliar a identificação das causas de DI sempre poderá contribuir para o conhecimento dessa condição, aprimorando o processo de determinação do diagnóstico etiológico e do aconselhamento genético para as famílias envolvidas.

Palavras chave: Deficiência intelectual, retardo mental ligado ao X, MLPA

**(14.91) GENE EXPRESSION ANALYSIS USING BIOINFORMATICS METHODS IN RNA-SEQ EXPERIMENTS.**

*Katia Cr. Brumatti Gonçalves, Cristiane Rocha, Benilton Carvalho Advisor: Íscia Lopes Cendes*

Affiliation: Medical Physiopathology Concentration area: Neurosciences Department of Medical Genetics, School of Medical Sciences, University of Campinas – UNICAMP and The Brazilian Institute of Neuroscience and Neurotechnology (BRAINN), Campinas, SP, BRAZIL.

High-throughput sequencing technologies allowed biomedical researchers to advance greatly in their studies by granting them access to molecular signatures with accuracies that was never seen before. Current technologies produce hundreds of millions of sequenced fragments, often referred to as reads, which can be used to characterize in detail macromolecules like DNA and RNA. In this study, we use RNA sequencing technologies (RNA-Seq) to better understand the gene expression patterns of Mesial Temporal Lobe Epilepsy (MTLE) through the use of bioinformatics tools on animal models. We used an analysis pipeline comprised of TopHat (for alignment), Cuffdiff (for differential expression) and CummeRbund (for data visualization) to investigate the differential gene expression between control and pilocarpine-treated subjects. We identified 19 differentially expressed genes, among them Neurod6 gene that had a 4-fold increase in expression and Sv2b gene with a 6-fold increase. Both genes are related to the neuronitis disease, which has in its signaling pathway a relationship with nocturnal frontal lobe epilepsy.

Supported by: CEPID-FAPESP.

Palavras chave: sequencing, RNA-Seq, bioinformatics, gene expression.

**(14.92) OBTENÇÃO DE POLIURETANOS A PARTIR DA SÍNTESE DE BIURETO DE HEXAMETILENO DIISOCIANATO E ÁCIDO RICINOLÉICO: ENSAIO IN VITRO.**

*Pavanini, Rodrigo ; Mallmann, Evandro Stoffels; Benides, Cibelem Iribarrem; Jardini, Andre ; Batista, Nilza Alzira; Rodrigues, Ana Amélia; Belangero, William Dias; Filho, Rubens Maciel;*

O estudo e aplicação de biomateriais na área médica têm contribuído significativamente para o tratamento diversas desordens associadas à saúde. A partir da técnica de biofabricação é possível construir novos dispositivos que contribuam para a melhora da qualidade de vida dos pacientes. Utilizando-se a técnica citada, os suportes (scaffolds) biofabricados podem apresentar diversos formatos de acordo com a necessidade, podem ou não ser estruturas porosas que permitam a interação celular e conseqüentemente a reparação do tecido lesado, além de apresentar características específicas como ausência de toxicidade aliada ao bom comportamento biológico associado à biofuncionalidade. No presente estudo, foram avaliados três de Poliuretanos (PUs), utilizando o isocianato HDB (biureto de hexametileno diisocianato) e o ácido ricinoleico, um polioli extraído do óleo de mamona. Estes suportes foram sintetizados considerando-se diferentes proporções entre isocianato (ligações NCO) e polioli (ligações OH), os quais formam ligações uretânicas, que caracterizam os poliuretanos. As três diferentes amostras de PUs sintetizados foram nomeados, de acordo com o tipo de isocianato utilizado (HDB – 'B') e as razões NCO/OH 1.0, 1.5 e 2.0. As amostras foram esterilizadas em autoclave à 121°C por 15 minutos e avaliadas pelo teste de citotoxicidade direta utilizando-se o método do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium) na presença de células tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo humano (MSC/TA). As células foram inoculadas nos poços e cultivadas por 24 horas e, após este período, as amostras (n=4) foram inoculadas sobre as mesmas em contato direto por 24 horas a 37°C. Como controle positivo de toxicidade (CPT) utilizou-se meio Ham F12 o qual foi adicionado 10% soro fetal bovino e 10% de Fenol e como controle negativo toxicidade (CNT), o extrato de poliestireno conforme normas (ISO-10993-5, 1992; ISO-10993, 1997, NBR-ISO10993, 1999; SJOGREN, 2000). Após incubação retirou-se o meio de cultura e os poços foram lavados com 200 µl de solução tampão fosfato salino (PBS). Adicionou-se 200 µl meio Ham F12, 10mM de tampão Hepes e 50 µl MTT. A placa foi incubada no escuro por 4 horas a 37°C foi substituído por 200 µl de Dimethyl Sulphoxide (DMSO) e agitada por 30 minutos e feita leitura da absorbância em comprimento de onda de 595 nm. Os resultados obtidos de absorbâncias médias foram: CPT (0,0477), CNT (0,8506), PUB 1.0- (0,0724), PUB 1.5 (0,9672) e PUB 2.0 (0,7679). Na análise estatística utilizando-se o método de Duncan (P<0,05), pode-se perceber que o PUB 1.0 e o CPT não apresentaram diferença estatística, evidenciando o efeito tóxico dessa amostra, enquanto que as demais amostras mostraram ausência estatística quando comparadas com o CNT, indicando-as como potenciais para a utilização como biomaterial a serem testados in vivo. Os resultados preliminares foram satisfatórios, além de ressaltar que os polímeros PUB 1.5 e 2.0 com maior proporção NCO/OH apresentam maior rigidez, característica importante para sua potencial utilização na produção de próteses.

**Referências**

ISO 10993. International Standard. Biological evaluation of medical devices – part 1 – Evaluation and testing, 1997.

ISO 10993-5 I (E) Biological evaluation of medical devices. Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods, 1992.

Meier MAR, Metzger JO, Schubert US. Plant oil renewable resources as green alternatives in polymer science. Chem. Soc. Rev 36 (2007) 1788 – 1802.

Petrovic ZS. Polyurethanes from vegetable oils. Polymer Reviews, v. 48, n. 1, p. 109-155, 2008.

Souza AMG. Biopolímero da mamona para reconstrução de falhas ósseas pós-ressecção tumoral: Aplicação clínica, 73p. Tese (Doutorado). Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2002.

Palavras chave: Scaffold de poliuretana, Biofabricação, Células Mesenquimais, Ensaio toxicidade

**(14.93) LOCALIZATION AND CELL TYPE IDENTIFICATION OF GENES AND MICRORNA IN BRAIN TISSUES FROM EPILEPSY PATIENTS.**

*Santos, Renato O.; Avansini, Simoni H.; Vieira, André S.; Rogério, Fábio ; Lopes-Cendes, Íscia ;*

**Introduction:** The knowledge of spatial and developmental expression of genes is vital information that generates primary insights into their possible developmental functions. Most studies quantifying differential expression of genes have been based on microarrays, real-time PCR and deep sequencing. However, important clinical information may be lost when focal RNA expression is masked by normal tissue present in the samples. In situ hybridization (ISH) has become a powerful and versatile method for the detection and localization of nucleic acid sequences within cells or tissue preparations. This technology is based on the hybridization with labeled complementary DNA, RNA or small non-coding RNAs strands to localize a specific sequence in a portion or section of tissue (in situ) or in the entire tissue (whole mount ISH), on formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tissue samples or cryosections. These FFPE samples are part of an invaluable repository that contains a retrospective patient clinical data. The protocol focuses on the use of locked nucleic acids (LNAs), which are bi-cyclic RNA analogs that allow a significant increase in the hybridization temperature. The LNA provides an increased sensitivity to the protocol and enhanced stringency for short probes as required for miRNA detection, together with high cellular resolution.

**Objective:** We have been focused on the use of ISH for sensitive and specific histological characterization, aiming localize genes and regulatory RNAs expression in formalin fixed brain tissues of epilepsy patients.

**Patients and Methods:** We studied tissue from patients who underwent selective resection of the cortical structures for treatment of clinically refractory seizures. Control samples were obtained from autopsies of individuals whose cause of death were other than central nervous system diseases. Formalin fixed sections of 4µm each were placed in Superfrost® Plus slides and washed in xylene. Subsequently the slices were hydrated and digested with Proteinase K (15ug/uL) at 37°C. After digestion the slides were dehydrated and incubated with LNA digoxigenin labeled probe. As negative control a scrambled probe was used. This step was followed by a series of prewarmed washes of SSC (sodium chloride sodium citrate buffer). These washes were followed by five PBST (PBS/0.1% Tween-20) washes at room temperature. This step was followed by blocking solution. Following blocking of anti-Digoxigenin antibody the slides were incubated in staining solution containing alkaline phosphatase substrate, NBT (nitro blue tetrazolium Boehringer/Roche) and BCIP (5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate EMD, Omnipur®). The staining was continued overnight, and was stopped by immersing the tissue in KTBT solution. Then the tissues were washed in distilled water, co-stained with Fast Red (Sigma-Aldrich) followed by dehydration in an alcohol series and, finally were mounted in a xylene-based medium.

**Results and Conclusions:** In our preliminary study, it was possible to adapt de technique to our lab and identify the expression of several mRNA and microRNAs in our cohort. No hybridization signal was detected using a scrambled probe (negative control). Fixations of these tissue and proteinase K digestion steps are crucial to obtain a good signal in the ISH. Fixation time is a step that differs considerably when treating with patients samples that are included in a diagnosis lab routine and autopsy samples. The fixation influences directly the proteinase K digestion time. We observed that patient's samples require a lower time of digestion when compared to autopsy. This step is important because excessive exposure to proteinase k leads to tissue damage resulting in bad histological morphology. The next challenge is to understand the impact of these expressions under the context of the disease and identify the neuronal cell types that express these RNAs. Until this moment we have observed that hsa-miR-124, a microRNA highly expressed in the brain, binds exclusively in gray matter in cerebral cortex. Another approach we have noticed that the PTPRM, a possible candidate gene for hippocampus alterations, is expressed in specifics neurons of dentatus gyrus and Cornu Ammonis Formation (CA). With the ISH we can localize the precise location of the gene expression and direct the efforts of characterization in a small area, or even individual cells with laser capture microdissection (LCM).

**Financial support:** CEPID-BRAINN

**Palavras chave:** in situ hybridization; FFPE; mRNA; microRNA; Epilepsy;

**(14.94) DEPRESSÃO E QUALIDADE DE VIDA EM DOENTES FALCIFORMES: INFLUÊNCIAS DAS CONDIÇÕES SOCIOECONÔMICAS E DAS COMPLICAÇÕES BIOLÓGICAS DA DOENÇA.**

*de Mendonça, Guilherme Rossi Assis; Fernandes, Carolina Puzzi; Saad, Sara Terezinha Olalla; Fattori, André ;*

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma das doenças hereditárias monogênicas mais comuns no Brasil, fazendo dela um importante tópico para cuidados nos planejamentos de Saúde Pública. As alterações morfológicas das hemácias (secundárias à polimerização da hemoglobina intracelular) promovem a interrupção do fluxo sanguíneo em diversos tecidos, o que progressivamente acarreta disfunção orgânica. Esse evento, aliado ao processo inflamatório crônico, é responsável por complicações clínicas que impactam na funcionalidade e qualidade de vida (QV), como crises algicas, priapismo e acidentes vasculares encefálicos. Muitos estudos abordam os aspectos psicológicos da AF, particularmente entre crianças e adolescentes. Entretanto, poucos se dedicam à análise psicológica e de QV em doentes de idades mais avançadas e, portanto, com maior número de debilidades somadas. Objetivo: Este trabalho objetivou analisar o impacto da AF, de suas complicações biológicas e de variáveis socioeconômicas na qualidade de vida e nos aspectos psicológicos dos portadores adultos dessa enfermidade. Sujeitos e Métodos: O trabalho foi desenvolvido com uma amostra de conveniência constituída por 66 pacientes portadores de AF (homozigotos para a hemoglobina S) em seguimento regular no ambulatório de Hematologia do Hemocentro da UNICAMP. Todos os pacientes possuíam mais de 18 anos e funções cognitivas preservadas. Um grupo controle de 125 indivíduos foi selecionado aleatoriamente em uma escola de educação para adultos (para fins comparativos de aspectos psicológicos), com os critérios de não serem portadores de AF ou outra doença crônica e terem idade igual ou superior a 18 anos. Para cada um dos sujeitos, foram aplicados: questionário socioeconômico; questionário WHOQOL-Bref, utilizado pela Organização Mundial da Saúde para avaliação da QV nos domínios físico, psicológico e ambiental; e Escala de Depressão de Becker (BDI) para mensuração de sintomas depressivos (sendo uma pontuação acima de 15 mais fortemente associada à depressão). As complicações clínicas dos pacientes com AF foram obtidas por consulta aos prontuários médicos. Foi utilizada a estatística descritiva para representação dos dados socioeconômicos dos doentes; as comparações de variáveis contínuas e categóricas aos dados sociodemográficos foram realizadas pelos testes de Mann-Whitney e do Chi-Quadrado, respectivamente. Os escores BDI e WHOQOL-Bref foram comparados pelo teste de Pearson. Resultados: A maior parte dos pacientes com AF possuía idade entre 30 e 39 anos e pertencia ao sexo masculino (porcentagens de 38,0% e 56,7%, respectivamente). As raças parda (43,2%) e negra (41,0%) foram as predominantes entre os pacientes. Praticamente metade dos doentes possuía nível educacional até o Ensino Fundamental (49,2%) e pertencia às classes sociais D ou E (47,7%). Houve uma correlação negativa e significativa entre o BDI e todos os domínios do WHOQOL-Bref, principalmente nos domínios Físico e Psicológico ( $p < 0.05$ ). Ainda, a maior pontuação no Critério Brasil de caracterização econômica mostrou correlação direta com os domínios Físico, Psicológico e Ambiental da QV, e correlação negativa com o BDI e número de comorbidades. Conclusão: Os pacientes falciformes mostraram forte associação com o declínio nos indicadores de QV e a presença de sintomas depressivos. A correlação significativa entre a pontuação econômica e os piores desempenhos no WHOQOL-Bref, BDI e número de comorbidades sugere a influência da variável socioeconômica desfavorável em piores condições de vida como um todo. Os portadores de AF pertencem a um segmento populacional vulnerável, em grande parte determinado pela característica racial negra. O suporte social precário é um agravante para o baixo desempenho em qualidade de vida nesta população e é um alvo ainda negligenciado de intervenções para promoção de saúde.

Palavras chave: Anemia Falciforme, Depressão, Qualidade de Vida

**(14.95) PERCEPÇÕES DE EVENTUAIS MUDANÇAS NAS RELAÇÕES INTERPESSOAIS RELATADAS POR FAMILIARES DE PACIENTES COM ESQUIZOFRENIA COM MELHORA CLÍNICA APÓS USO DE CLOZAPINA: UM ESTUDO CLÍNICO-QUALITATIVO.**

*Bortoti, Milena Lima ; Turato, Egberto Ribeiro;*

Introdução: a esquizofrenia é uma doença crônica, multifatorial e afeta cerca de 1% da população. Dentre as ferramentas de tratamento estão os antipsicóticos de nova geração, os atípicos, como a clozapina – eficaz na melhora dos sintomas negativos, com menos efeitos extrapiramidais, mas podendo causar efeitos colaterais como agranulocitose. O surgimento da doença mental no paciente provoca grandes mudanças na vida dos que convivem com ele – em geral os cuidadores passam a dedicar grande parte de sua rotina. Este projeto insere-se no grupo “Laboratório de Pesquisa Clínico-Qualitativa”, e justificamos a importância de se compreender os sentidos das vivências de eventuais mudanças nas inter-relações após melhora clínica do paciente com o uso da clozapina. Havendo tantos ensaios clínicos com medicamentos, buscamos estudar significados psicológicos do uso da medicação. Objetivo: discutir significados das vivências relatadas por cuidadores de pacientes esquizofrênicos em seguimento ambulatorial no HC Unicamp, depois de melhora clínica após uso da clozapina, segundo registro médico. Sujeitos e método: o grupo de sujeitos foi delimitado por amostragem por saturação teórica – realizamos dezessete entrevistas e utilizamos quatorze delas, seguindo critérios de inclusão/exclusão e assinatura do TCLE. As entrevistas foram realizadas com cuidadores de pacientes do serviço ambulatorial psiquiátrico geral de adultos. O desenho é clínico-qualitativo, com entrevistas semidirigidas de questões abertas, gravadas e transcritas. Foram feitas leituras flutuantes e categorização do material, discutido à luz de conceitos da Psicologia Médica. Resultados e discussão: Para esta apresentação, selecionamos dois tópicos: (1) Projeto terapêutico versus Projeto de vida: antagonismo ou sinergismo? Apesar da percepção de melhora clínica observada por médicos, e do reconhecimento dos cuidadores de que o convívio com o paciente foi facilitado com a medicação eficaz, as entrevistas confirmam que o planejamento de vida de uma pessoa está muito além do que a ciência, e a medicina, podem oferecer. Saúde e felicidade não se equivalem. Fala de uma esposa: “às vezes, eu brinco com ele que eu vou querer casar de branco” [Entrevista 2] - transmite a ideia de um companheiro que não exerce papel pleno na união conjugal. No relato da mãe: “...logicamente, a gente que é mãe fica sempre com um pé atrás. Porque não era isso que a gente queria, né? (...) Você pegar o remédio, e ver que tem uma tarja preta, só de ver que é tarja preta a gente fica com aquele medo...” [Entr 1] - expressa melhora na qualidade de vida, porém mostra que ter um filho tomando remédio indefinidamente fere a autoestima, desvelando o sentimento de onipotência ferido por gerar filhos imperfeitos, distante do idealizado. Levantamos a questão se os planos pessoais são antagônicos “ou” sinérgicos. As vivências relatadas indicam que são “e”. (2) Retomada de vivências antigas da temporalidade e pragmatismo: os resultados sugerem que a medicação eficaz permite certo resgate da temporalidade na execução de tarefas a curto ou médio prazo, e do pragmatismo, ainda que ambos correspondam a um resgate parcial na vida do cuidador. Disse uma mãe: “A gente divide as tarefas. Eu falo assim: ‘S., hoje você vai limpar a casa e tirar a poeira, e eu vou lavar roupa’; e depois eu faço a comida... ‘e depois a senhora vai para onde?’ – pergunta a filha; ‘vou passear, vou visitar’.” [Entr 13]. Considerações finais: embora existam mudanças significativas relatadas sobre o relacionamento e na vida dos cuidadores, consideradas a partir do uso de medicação de maior eficácia, emerge que as expectativas dos cuidadores são muito abrangentes em relação ao doente. Assim o tratamento medicamentoso, e mesmo a soma de todas as abordagens terapêuticas, não respondem ao desejo natural e humano da cura completa.

Palavras chave: pesquisa qualitativa, esquizofrenia, clozapina

**(14.96) INVESTIGAÇÃO DE REARRANJOS SUBTELOMÉRICOS PELA TÉCNICA DE MLPA NA DEFICIÊNCIA INTELECTUAL IDIOPÁTICA: OITO ANOS DE TRIAGEM NO SERVIÇO DE GENÉTICA CLÍNICA DO DGM DA FCM-UNICAMP.**

*Lincoln-de-Carvalho, Carolina Rodrigues ; Henrique, Pamela Pontes; Mello, Maricilda Palandi; Marques-de-Faria , Antonia Paula;*

Rearranjos cromossômicos envolvendo regiões subteloméricas são detectados em percentual significativo de indivíduos com deficiência intelectual (DI) idiopática, justificando sua investigação. Entre as alternativas para estudá-los destaca-se a técnica Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) pela rapidez, sensibilidade e custo baixo. Nesse sentido, desde 2007 o Serviço de Genética Clínica do Departamento de Genética Médica da FCM-UNICAMP oferece o teste a pacientes com DI de origem indeterminada. Até o momento, 221 pacientes foram analisados, utilizando o kit SALSA MLPA P036-E1 (MRC-Holland, Amsterdã, Holanda – <http://www.mlpa.com>), conforme recomendação do fabricante e protocolo segundo Lincoln-de-Carvalho (2009). Para a eletroforese foi utilizado o sequenciador ABI-PRISM® 3500-XL DNA Analyser (4 capilares) (Applied Biosystems-Applera Corporation, Estados Unidos). Após a normalização dos dados em planilha baseada em Excel, as alterações observadas foram confirmadas pela mesma técnica, com o kit P070, e validadas por FISH, a partir de sondas lócus específicas. Quando pertinente, os genitores também foram investigados pela técnica de FISH. Entre 221 pacientes investigados, 19 apresentaram alteração (8,6%), identificadas como del1p (2 casos), del1q, del6p, del18q (2 casos), delXYp, dup7p, dup7q, dup11p, dup15p, dup22q, e ainda os rearranjos del1p/dup4p, del4p/dup8p, del4p/dup12p, del5p/dup9p, del9p/dup19q, dup4p/del13q e dup9p/del18p. Entre as contribuições da triagem de anomalias cromossômicas pela técnica de MLPA, destaca-se especialmente a possibilidade da identificação de rearranjos crípticos, estabelecendo-se como uma alternativa eficiente, rápida e de baixo custo, contribuindo para a ampliação da investigação diagnóstica da DI e aprimorando o aconselhamento genético das famílias envolvidas.

Palavras chave: Deficiência intelectual idiopática, Anomalias cromossômicas crípticas, Rearranjos subteloméricos, MLPA, Genética médica.

**(14.97) O USO DA CAPNOGRAFIA VOLUMÉTRICA COMO FERRAMENTA COMPLEMENTAR NA AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PULMONAR DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES OBESOS.**

*Ferreira, Mariana Simões; Marson, Fernando Augusto de Lima ; Mendes, Roberto Teixeira; Zambon, Mariana Porto; Toro, Adyléia Aparecida Dalbo Contrera; Severino, Silvana Dalge; Ribeiro, Maria Ângela Gonçalves de Oliveira; Paschoal, Ilma Aparecida ; Ribeiro, José Dirceu ;*

Introdução: A literatura sobre o impacto da obesidade na função pulmonar de crianças e jovens obesos, sem doença respiratória associada, ainda é bastante divergente. Objetivos: Analisar a função pulmonar de crianças e adolescentes obesos (GO) por meio da espirometria e da CV e compará-la com a de sujeitos eutróficos da mesma faixa etária. Métodos: Estudo transversal e analítico que incluiu 77 indivíduos (38 obesos e 39 saudáveis) com idade entre 5,56 e 16,34 anos. Os sujeitos realizaram a espirometria de acordo com os padrões da European Respiratory Society e da American Thoracic Society. A CV foi realizada com os indivíduos sentados respirando tranquilamente por cinco minutos. Resultados: Na espirometria, os obesos apresentaram a capacidade vital forçada (CVF) significativamente maior do que os eutróficos ( $p=0,03$ ) e valores significativamente menores no índice de Tiffeneau e no fluxo expiratório forçado entre 25-75% ( $p$

*Palavras chave: Obesidade, função pulmonar, capnografia volumétrica, espirometria*

**(14.98) ESTABLISHMENT OF AN OPTIMAL PROTOCOL FOR ISOLATING GENOMIC DNA FROM FORMALIN-FIXED PARAFFIN-EMBEDDED TISSUE SAMPLES FOR NEXT-GENERATION SEQUENCING.**

*Avansini, Simoni Helena ; Torres, Fábio Rossi ; Ribeiro, Patricia Oliveira; Vieira, André Schwambach; Rogério, Fábio ; Cendes, Iscia Lopes;*

**BACKGROUND:** Formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) archives represent an invaluable repository of retrospective patient clinical data. FFPE tissue is important because is a treasure of DNA for clinical research. Unfortunately, working with FFPE samples has proven to be challenging. The fixation process causes a range of chemical damages to nucleic acids in the sample, including fragmentation, covalent nucleotide cross-linking, oxidation and deamination reactions and the formation of cyclic base derivatives. These chemical modifications have the potential to confound molecular testing through inhibition of enzymatic manipulation of DNA or direct causation of single-base changes and other sequence aberrations. In addition, the methylene crosslinks lead to DNA fragmentation that can make analysis of sequences longer than 100 to 200 bp problematic. In addition, these factors reduce the efficacy of subsequent nucleic acid procedures and analyses. Therefore, to obtain an extraction of high quality genomic DNA is essential for next-generation sequencing (NGS). **OBJECTIVE:** The goal of this study was to compare different commercial kits for DNA isolation from human brain FFPE samples and establish an optimal protocol to be used in our laboratory. **DESIGN/METHODS:** To date, we have tested two different commercial kits/reagents to identify which one is more effective for genomic DNA isolation when applied to FFPE samples. Genomic DNA was obtained using QIAmp DNA FFPE tissue kit (Qiagen) and RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE (Ambion), were used according to the manufacturer's instructions. DNA purity and concentration were evaluated by spectrophotometry and fluorometry, respectively. **RESULTS/CONCLUSIONS:** We observed that QIAmp DNA FFPE tissue kit produced a higher concentration of DNA. Based on this, we further tested a modified protocol with increased time of proteinase k digestion. This relatively simple modification resulted in a significance increase in DNA concentration. Currently, new experiments are been performed in order to assess the level of fragmentation of the genomic DNA extracted. **FINANCIAL SUPPORT:** CEPID-FAPESP  
*Palavras chave: next-generation sequencing, ffpe, dna, extraction*

**(14.99) DO WE NEGLECT THE ADDICTIVE DIMENSION OF EATING DISORDERS? CLINICAL QUALITATIVE STUDY OF SUBJECTS THAT DROPPED OUT FROM OUTPATIENT TREATMENT.**

*Seidinger, Flavia Machado; Garcia Jr., Celso ; Vieira, Carla Maria; Turato, Egberto Ribeiro;*

**Introduction:** According to literature dropout predicts insufficient results for inpatient treatment for anorexia and poor prognosis for adolescents or adults, with proven increased tendency to subsequent admissions. There are few qualitative studies on dropout, and its high rates for EDs remain a concern for clinicians and researchers alike. Moreover, in the national context are rarely discussed similarities and differences between Eating and Addictive Disorders. **Objective:** The present study aims to analyze the addictive dimension of Eating Disorders highlighted in qualitative studies results about the meanings of outpatients' treatment dropout. **Methods:** This is the clipping of analysis categories revealed by research conducted at a public University Hospital in Brazil, interviewing adults who dropped specializing treatment outpatient in ED by a semi-structured in depth interviews. The sample was set according to data saturation criteria consisted of eight in depth interviews. **Results and Discussion:** The category "Enslavement to addiction (compulsively)"- found as central among other secondary, related: "Anorexia is for life" and "I do not like if things get out of my control" points clinical elements from the experience of the disorders in psychological meanings assigned to dropout by patients. Findings discussed under the theoretical framework of psychodynamic approach from anorexia and bulimia described as addictions, as well as under the scope of the current literature review about eating issues and addictive disorders. **Conclusion:** The symbolic and psychodynamic elements from addictive experienced by patients can contribute to refine the treatment approach of ED and also to understand them in their addictive dimension in order to compliance and retention in treatment. The qualitative findings may also contribute to support the discussion of Eating Disorders as "Addictive Disorders" due to the convergent psychodynamic beyond the 'addiction model of eating disorders' as a physiological model of 'addictive' or 'toxic' food dependence.

\* The study was developed at LPCQ; the subjects interviewed used to be patients of GETA. Resulting from a Master's Degree, research funded by scholarship to the first author from the CAPES. The first and last author also received auxiliary research Grant Research from São Paulo São Paulo Research Foundation (FAPESP; No.2011/20469-8) providing subsidies for the field phase of the original study following.

*Palavras chave: Eating Disorders; Anorexia Nervosa; Bulimia Nervosa; Qualitative Research; Patient Dropouts; Behaviour, Addictive.*

**(14.100) TUBERCULOSE E INFECÇÃO POR MICOBACTÉRIAS ATÍPICAS EM PACIENTES COM HIV/AIDS - ASPECTOS RELACIONADOS AOS EXAMES DIAGNÓSTICOS.**

Lopes, Gabriel Ayub; Aoki, Francisco Hideo;

**Introdução:** O HIV/Aids, pandemia que acometendo todos os países, tem ceifado vidas, especialmente, pela realização de diagnósticos muito tardios, permitindo aos indivíduos infectados a possibilidade de desenvolverem intensa imunossupressão. A imunossupressão decorrente deste processo infeccioso predispõe os indivíduos contaminados a terem neoplasias e as chamadas infecções oportunistas, que podem produzir manifestações muito graves, como as infecções bacterianas, fúngicas, virais, entre outros agentes infecciosos. A infecção por micobactérias, tanto o *M. tuberculosis* quanto as micobactérias atípicas, aparecem frequentemente em pacientes com HIV/Aids, imunossuprimidos ou não pela doença. Neste estudo, analisando resultados de exames de 6.184 pacientes com HIV/Aids diagnosticados de 1994 a 2011, armazenados em banco de dados do Hospital das Clínicas da UNICAMP, foram analisados pacientes com a co-infecção entre as micobactérias e o HIV/Aids. **Objetivos:** Análise da incidência de diagnósticos de infecção por micobactérias tanto o *M. tuberculosis*, quanto as micobactérias atípicas; análise de alguns aspectos relacionados a localização dos materiais utilizados para pesquisa e cultura desta micobactérias; averiguação de espécies de micobactérias constantes nesta co-infecção entre micobactérias e HIV/Aids. **Material e Métodos:** Um banco de dados, armazenado na Divisão de Informática do HC UNICAMP, com resultados de exames feitos pelo Laboratório de Patologia Clínica do HC UNICAMP, que dá suporte a todos os serviços deste hospital, foi analisado, pós feitura de planilha em Excel®, de todos os resultados de pesquisa direta e cultura de micobactérias de pacientes com suspeita da co-infecção entre o HIV/AIDS e as micobactérias tuberculosas e não-tuberculosas, internados e/ou atendidos ambulatorialmente pelo Hospital de Clínicas da Unicamp, no período de 1994 a 2011. **Resultados:** De 6184 pacientes testados positivos para o HIV, no período englobado por esta pesquisa, 536 indivíduos acometidos foram acometidos por ambas os processos infecciosos, o HIV e as micobactérias. A maioria era do sexo masculino, brancos, com idade entre 30 e 39 anos. Destes 6184 pacientes HIV positivos, foram identificados 608 com resultados positivos para as micobactérias, por cultura e/ou pesquisa direta. Da intersecção entre esses dois grupos, foram identificados 536 pacientes positivos para ambos os processos infecciosos. A diferença de 72 pacientes, descartados deste estudo, deu-se devido a inconclusão do diagnóstico de HIV, como carga viral indetectável e/ou negatividade para a busca de anticorpos anti-HIV, e a identificação do agente na cultura e/ou pesquisa ser diferente de uma micobactéria.) devido a inconsistência e incompatibilidade com critérios de inclusão no estudo. As micobactérias, neste estudo podem colonizar os mais diversos meios e materiais, com predominância de secreções pulmonares e tecido linfoide. O *M. tuberculosis* foi a micobactéria mais frequente e importante na co-infecção, representando 51,1% das espécies identificadas nos pacientes com HIV/Aids. Por outro lado, micobactérias menos comuns, do grupo das micobactérias não-tuberculosas, representaram 24,87% dos agentes identificados, sendo distribuídas em outras 14 espécies, podendo-se citar as mais prevalentes no estudo, tais como *M. avium intracellulare* (3,21%), *M. kansasii* (0,37%) e *M. fortuitum* (0,37%). De acordo com o banco de dados analisado, para o restante de micobactérias envolvidas (24,03%), no diagnóstico, não constava a identificação da espécie, aparecendo apenas como *Micobacterium sp*, pelo fato de que a identificação por cultura não constava na tabela, ou não havia sido solicitada a identificação, procedimento que é realizado pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo, da SES-SP. Houve uma tendência de aumento de novos casos desde o diagnóstico do primeiro caso de co-infecção, em 1994, de acordo com este banco de dados, limitado aos anos descritos, estabilizando-se por volta de 50 novos casos anuais e/ou reincidências em 2005, iniciando-se uma tendência de decréscimo em 2008. Uma das possibilidades de queda da incidência de infecção por micobactérias em pacientes com HIV/Aids, poderia estar relacionada a implementação de programa federal de distribuição de antirretrovirais, de maneira universal, desde final de 1996, nacionalmente. Com conseqüente melhora da reconstituição imunológica dos pacientes, com potencial de redução da imunossupressão, há maiores possibilidades de redução de infecção por micobacterias em geral. **Considerações finais** A epidemia do



HIV/Aids, a despeito das melhorias de atendimento, de sistemas de fornecimento de insumos para realização de exames laboratoriais para monitorização de tratamento com HAART, o próprio TARV, contribuem para redução da co-infecção HIV/Aids e Micobactérias, mas deve-se ressaltar ainda que pelo menos cerca de metade a 1/3 dos pacientes contaminados pelo HIV não o sabem, e podem estar sujeitos ao comportamento da era pré Aids, com surgimento de intensa imunossupressão, o que os torna muito mais susceptíveis a infecção pelas micobactérias.

*Palavras chave: HIV, AIDS, M. tuberculosis, M. avium, Mycobacterium sp.*

**(14.101) INFLUÊNCIA DA CARGA VIRAL NAS CÉLULAS DENDRÍTICAS DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES VERTICALMENTE INFECTADOS PELO HIV.**

*Bernachi, Jéssica Santana; Mazzola, Taís Nitsch; Longhini, Ana Leda Figueiredo; dos Anjos, Emanuel Borges Vital; Oshiro, Telma ; Fernandes, Luiz G. R.; Lemos, Renata Muller Banzato Pinto de; Silva, Marcos Tadeu Nolasco da ; Vilela, Maria Marluce dos Santos;*

No momento da transmissão vertical do HIV, o sistema imunológico ainda está em desenvolvimento e maturação. As células dendríticas (DC) têm um papel importante na integração das respostas inata e adaptativa e defeitos no número e função das subpopulações plasmocitóide (pDC) e mielóide (mDC) podem ocorrer na infecção pelo HIV. Estudos têm mostrado que a vacina terapêutica com células dendríticas derivadas de monócitos (MDDC) pulsadas com o vírus inativado pode ser uma estratégia promissora para o tratamento de indivíduos com infecção crônica pelo HIV-1. Neste estudo transversal foram recrutados 38 pacientes com carga viral (CV) <50 cópias de RNA viral/mL (CV indetectável) com mediana de idade: 13,58 anos, 22 pacientes com CV  $\geq$  1000 cópias de RNA viral/mL no dia da coleta (CV  $\geq$  1000) com mediana de idade de 12,00 anos, sendo que todos os pacientes estavam sob terapia antiretroviral (TARV). Para o grupo controle foram recrutados 30 indivíduos saudáveis, com mediana de idade de 15,93 anos. As subpopulações de células dendríticas foram caracterizadas após o isolamento das células mononucleares do sangue periférico por citometria de fluxo com os anticorpos monoclonais Anti-CD14 PE, Anti-CD11c FITC, Anti-BDCA-2 APC e Anti-HLA-DR PerCP. Monócitos foram isolados com esferas magnéticas contendo Anti-CD14, diferenciados em MDDC com GM-CSF e IL-4 durante seis dias, as quais foram pulsadas com HIV-1 heterólogo inativado por aldritol por duas horas e incubadas com GM-CSF, IL-4, IL-1 $\beta$ , TNF e IL-6 durante 48 horas. As MDDC foram avaliadas por citometria de fluxo quanto à expressão de CD80, CD83, CD86, CD209, CD40 e HLA-DR antes e após o estímulo por HIV. Foi avaliada a produção de IL-12 nos sobrenadantes das culturas por ELISA. A resposta linfoproliferativa específica para o HIV foi analisada por citometria de fluxo em coculturas de MDDC e linfócitos. A análise estatística foi realizada com testes não paramétricos adequados à distribuição dos dados obtidos (nível de significância  $p < 0,05$ ). A porcentagem de mDC não foi diferente entre os grupos (medianas: 1,9% para CV indetectável, 2,45% para CV  $\geq$  1000 e 1,95% para os controles, teste Kruskal-Wallis,  $p=0,075$ ). Houve uma diferença significativa para a porcentagem de pDC (medianas: 0,3% para CV indetectável, 0,1% para CV  $\geq$  1000 e 0,3% para os controles; teste Kruskal-Wallis,  $p=0,038$ ). Antes do pulso com HIV, a expressão de CD83 nos pacientes com CV  $\geq$  1000 cópias/mL foi maior que os controles saudáveis (teste de comparações múltiplas não paramétricas,  $p < 0,05$ ). Também houve diferença para a expressão de CD86 e de CD209, porém esta diferença não foi identificada no teste de comparações múltiplas não paramétricas entre os grupos. Após o pulso com HIV, todos os grupos tiveram maior expressão de HLA-DR, CD40, CD80, CD83 e CD86 e menor expressão de CD209. Não houve diferença significativa na concentração de IL-12 entre os grupos (medianas: 2053,8pg/mL para CV indetectável, 2458,4pg/mL para CV  $\geq$  1000 e 1626,2pg/mL para os controles; teste Kruskal-Wallis,  $p=0,539$ ). Foi observada uma maior linfoproliferação específica para o HIV nos pacientes com CV indetectável em relação aos pacientes com CV  $\geq$  1000 cópias/mL (medianas: 12,4% para CV indetectável e 0,69% para CV  $\geq$  1000; teste Mann-Whitney,  $p=0,006$ ). Portanto, em crianças sob TART, a viremia foi associada com uma menor porcentagem de pDC, fenótipo alterado de MDDC e redução na linfoproliferação específica para o HIV, mostrando uma redução na atividade funcional nos pacientes com carga viral persistente. *Palavras chave: células dendríticas, HIV, crianças, adolescentes*

**(14.102) CARACTERIZAÇÃO DA S-NITROSAÇÃO DOS FATORES DE TRANSCRIÇÃO FOXO1/FOXO3A EM MÚSCULO ESQUELÉTICO EM DIFERENTES MODELOS EXPERIMENTAIS DE ATROFIA.**

KATASHIMA, CARLOS KIYOSH; SILVA, VAGNER RAMOM; LENHARE, LUCIENE ; MICHELETTI, THAYANA OLIVEIRA; TOBAR, NATÁLIA ; BUENO, CARLA GRAZIELI; PIMENTEL, GUSTAVO DUARTE; ROCHA, GUILHERME ZWEIG; ABDALA SAAD, MÁRIO JOSÉ; CARVALHEIRA, JOSÉ BARRETO CAMPELLO; CINTRA, DENNYS ÉSPER; PAULI, JOSÉ RODRIGO; ROPELLE, EDUARDO ROCHETTE;

A atrofia é um fenômeno clínico e complexo que ocorre no músculo esquelético como resultado de uma multiplicidade de causas, tais como danos às conexões neurais, inflamação, estresse oxidativo, sepse, câncer dentre outros. Recentes estudos sublinham o papel central dos fatores de transcrição da família Forkhead Box subgroup O (FoxO) na regulação da massa muscular. Neste cenário, a S-nitrosação de proteínas vem sendo valorizada como um importante mecanismo pós-transcricional de modificação proteica induzida pelo Óxido Nítrico (NO). Postula-se que o aumento da expressão da iNOS esteja relacionada com a S-Nitrosação das proteínas FOXO1 e FOXO3A responsável por modular a transcrição de moléculas relacionadas à proteólise muscular como a *muscle-specific RING finger protein 1* (MuRF-1) e *atrogin-1/muscle atrophy F-box protein* (atrogin-1/MAFbx). No entanto, o papel da iNOS e S-nitrosação no desenvolvimento da atrofia muscular é completamente desconhecido. **Objetivo:** Assim o objetivo atual do estudo será avaliar o papel da molécula iNOS na indução da S-nitrosação das proteínas FOXO1 e FOXO3A que compõe a cascata de ativação desses fatores de transcrição durante a atrofia muscular em modelo experimental de caquexia induzida por tumor e sepse. **Métodos:** A análise corporal foi realizada pelo aparelho DEXA modelo: Discovery Wi (S/N 83901). Para modelos experimentais de caquexia foram utilizados camundongos C57 e nocaute iNOS inoculados tumor na região do posterior do flanco (2 x 10<sup>6</sup> em 0,1ml) de células tumorais B16. Na Sepse foi realizada cirurgia de perfuração do ceco uma única vez, entre a ligação e a ponta do ceco numa direção mesentérica para antimesentérica fechado o peritônio e a musculatura abdominal através de sutura. Western blot, microscopia confocal e método da biotilação foram combinados para avaliar os efeitos da molécula iNOS e da Nitrosação, em modelos experimentais de caquexia induzidos por sepse e tumor. **Resultados:** a avaliação corporal demonstrou de maneira interessante que animais nocaute para iNOS (iNOS<sup>-/-</sup>) induzidos por sepse e tumor, tiveram preservação do peso corporal e da massa magra. Estudo de microscopia confocal revelaram menor diâmetro de fibra muscular em animais induzidos sepse e tumor. Por outro lado, animais nocaute para iNOS sepse e tumor tiveram preservação do diâmetro da fibra muscular. Em modelos experimentais de caquexia é possível observar que a proteína iNOS sofreu modulação positiva e aumento da S-nitrosação dos fatores de transcrição FOXO1 e 3A e redução da fosforilação da FOXO1 e 3A no músculo esquelético. Adicionalmente a proteína Atrogin-1/MAFbx e MuRF1 apresentaram aumento da expressão proteica em camundongos C57 sepse e tumor quando comparado aos controles. Observamos um importante aumento da fosforilação da Smad2 e Smad3 em camundongos C57 sepse, ao passo que, houve uma redução da atividade da Smad2 e 3 em animais iNOS<sup>-/-</sup>. Contudo, camundongo iNOS<sup>-/-</sup> tiveram uma redução na expressão de MuRF-1 e Atrogin-1, além da redução nitrosação dos fatores de transcrição FOXO1 e FOXO3A no tecido muscular de modelos experimentais de caquexia. **Conclusão:** Nossos achados apontam que a S-Nitrosação é um fenômeno intracelular importante e sugere a participação da iNOS como molécula chave na indução da S-Nitrosação e gênese da atrofia muscular. Dessa maneira, o entendimento de como as vias de sinalização que regulam a massa muscular é fundamental para o desenvolvimento de intervenções terapêuticas com o objetivo de atenuar a perda de massa muscular e consequentemente reduzir a mortalidade em condições distintas. *Palavras chave:* S-Nitrosação, Caquexia, Tumor e Sepse.

**(14.103) EFEITO DO BDNF HIPOTALÂMICO SOBRE O CONTROLE DO GASTO ENERGÉTICO EM CAMUNDONGOS EXERCITADOS.**

RIBEIRO, GUSTAVO ALVES; KATASHIMA, CARLOS KIYOSHI; SILVA, VAGNER RAMOM; LENHARE, LUCIENE ; MICHELETTI, THAYANA OLIVEIRA; ABDALA SAAD, MÁRIO JOSÉ; CARVALHEIRA, JOSÉ BARRETO CAMPELLO; CINTRA, DENNYS ÉSPER; PAULI, JOSÉ RODRIGO; ROPELLE, EDUARDO ROCHETTE;

**Introdução:** O BDNF (Brain-derived-neurotrophic-factor) é a mais abundante das neurotrofinas cerebrais e exerce papel central na neurogênese e plasticidade neuronal. O BDNF medeia seus efeitos biológicos através de um receptor de membrana com atividade de tirosina quinase conhecido como TrkB (Tyrosin-related-kinase B). Recentemente, a ativação do receptor do BDNF, o TrkB, em núcleos hipotalâmicos específicos, vêm sendo relacionada com a redução da ingestão alimentar e aumento do gasto energético em mamíferos. Por outro lado, sabe-se que o exercício físico é capaz de aumentar os níveis circulantes de BDNF no sistema nervoso central bem como o gasto energético. Contudo, a participação do BDNF no controle do gasto energético e ingestão alimentar em resposta ao exercício físico ainda não é compreendida. **Objetivo:** Neste sentido, o objetivo principal do estudo será avaliar a via de sinalização do BDNF, através da fosforilação em tirosina do receptor TrkB em hipotálamo de camundongos após sessão aguda de exercício físico e relacionar esse fenômeno com o gasto energético e ingestão alimentar em resposta ao exercício. **Métodos:** Administração farmacológica via intracerebroventricular (ICV) do ANA12 no 3º ventrículo hipotalâmico, e o exercício físico agudo foram combinados para avaliação do gasto energético realizado sistema controlado por computador calorímetro, em circuito aberto LE405 analisador de gases (Panlab – Harvard Apparatus, Holliston, MA, USA). Western blot para análise de proteínas. **Resultados:** O exercício físico promoveu aumento da expressão do BDNF e a fosforilação em tirosina de seu receptor TrkB, ao passo que animais tratados com o inibidor farmacológico ANA12 tiveram redução da fosforilação do receptor TrkB e diminuição da expressão BDNF. Paralelamente, verificou-se através da análise dos dados advindos do computador calorímetro que tanto o consumo de oxigênio quanto a produção de gás carbônico estão aumentadas em camundongos exercitados salina, por outro lado, animais tratados via intracerebroventricular com o inibidor ANA12 tiveram redução do gasto energético e aumento da ingestão alimentar comparado com os exercitados salina. **Conclusão:** Nossos achados apontam que o exercício físico pode ser considerado um fator chave nos níveis circulantes hipotalâmicos de BDNF através da fosforilação em tirosina do receptor TrkB e no controle do gasto energético. Coletivamente, o papel regulador da via TrkB/BDNF mediados pelo exercício produz sinais de saciedade em roedores exercitados.

*Palavras chave: BDNF, TrkB, Hipotálamo, Exercício Físico, Gasto Energético.*

**(14.104) LARGE SCALE GENE EXPRESSION ANALYSIS IN GENETIC ANIMAL MODELS OF EPILEPSY.**

*Matos, Alexandre Hilario Berenguer; Vieira, André ; Pascoal, Vinicius D'Avila Bitencourt ; Rocha, Cristiane ; Moraes, Marcio ; Maurer-Morelli, Claudia ; Martins, Almir Sousa; Valle, Angela ; Godard, Ana Lúcia Brunialti ; Lopes-Cendes, Iscia ;*

**Background:** Wistar audiogenic rat (WAR) is a genetic epilepsy model susceptible to audiogenic seizures, after high-intensity sound stimulation. Another genetic model we have recently identified is the generalized epilepsy with absence seizures (GEAS) rat. The aim of this study was to determine the molecular pathways involved in the susceptibility to seizures of these two strains using gene expression analysis. **Methods:** We obtained total RNA from five susceptible WAR (hippocampus and corpora quadrigemina), and five control Wistar, as well as from hippocampus of three GEAS rats and three control Wistar. Gene expression analysis was performed using the microarray technology, and analyzed in R environment using the Affy and RankProd packages from Bioconductor, as well as the MetaCore® platform to identify molecular networks, gene ontology categories and gene interactions. Genes with differential expression and a possible biological role in epileptogenesis were validated by qRT-PCR. **Results:** The genetic profile obtained from the microarray analysis showed a total of 1624 differentially expressed transcripts in the corpora quadrigemina of WARs and 1351 genes differentially expressed in the hippocampus compared with controls, with 616 upregulated and 1008 downregulated in corpora quadrigemina and 660 upregulated and 691 downregulated in the hippocampus of WARs. Enriched gene ontology categories identified in WAR were involved in oxidative phosphorylation, neurophysiological process GABA-A receptor life cycle. The genes validated by qRT-PCR were *Grin1*, *Nedd8*, *Il18* and *Slc1a3*.

In GEAS rats the genetic profile obtained from the microarray analysis showed a total of 2307 differentially expressed transcripts in the hippocampus and 2282 genes differentially expressed in the somatosensory cortex compared with controls, with 1039 upregulated and 1268 downregulated in hippocampus and 991 upregulated and 1291 downregulated in the somatosensory cortex. The top enriched gene ontology categories included: oxidative phosphorylation, LRRK2 in neurons in Parkinson's disease. The genes validated by qRT-PCR were *Grin1*, *Gabbr1* and *Slc6a1*. **Conclusion:** This study may help to clarify the underlying molecular mechanism that leads to the predisposition to seizures in these animals. Our results indicate the possibility that an abnormal energy metabolism exist in the central nervous system of both models. **Supported** by FAPESP

*Palavras chave: WAR, GEAS, microarray*

**(14.105) ALUNOS DE ENSINO MÉDIO DE ESCOLA COMUM E INCLUSÃO EDUCACIONAL: ANÁLISE COMPARATIVA.**

*Regina, M.Cristina de Oliveira;*

Resumo: Inclusão educacional é uma forma de responder e abordar a diversidade, em contextos educacionais, fazendo com que as práticas educativas sejam acessíveis a todas as pessoas, independentemente de etnia, raça, gênero, e principalmente, tipo(s) de deficiência(s). Visa potencializar a aprendizagem e o desenvolvimento de alunos com necessidades especiais. A convivência com colegas contribui para a formação dos indivíduos, os quais compartilharão uma realidade em comum no dia à dia, que entretanto, não está suficientemente calibrada para que ocorra com adequada mediação dos adultos no ambiente escolar. Método: pesquisa-ação; amostra: 38 alunos do 3o. Ano do Ensino Médio de escola comum, 19 do gênero masculino e 18 do feminino: 17 da série A e 20 da série B; idade: 16- 19 anos. A sofreu intervenção e B não. A Intervenção consistiu na apresentação de conteúdo sobre inclusão educacional, libras e artista plástica com deficiência auditiva. Após 1 mês foi aplicado questionário fechado sobre itens de Inclusão Educacional. Resultados: Para classe A a pessoa deficiente é alguém com limitação mas capaz de autonomia (59%) e para B alguém com limites e capaz de independência parcial. Quanto ao que pessoa deficiente pode fazer a intervenção gerou diferença quanto a capacidade de deambulação (representa a possibilidade de autonomia e independência) destacada pela classe A; porém a classe B tendeu a destacar a convivência social e afetiva. Quanto a outros itens não houve diferenças expressivas. Relativamente a aspectos da inclusão educacional a classe A tendeu a considerar que envolve a convivência na mesma sala de aula, em classe comum e com as mesmas tarefas (53%), visão compartilhada por apenas 15% da classe B destacando-se porém o gênero masculino, que optou mais significativamente por tal item. Considerando-se o que o aluno comum, sem deficiências, pode fazer pelo aluno com algum tipo de deficiência não houve diferenças entre as duas classes: respeitar o deficiente e tratá-lo normalmente (a-88% e b-90%), convidar para atividades em grupo em sala de aula (a-65%; b-75%); incluir no grupo de amigos (a-53% e b-55%); protegê-lo dentro de fora da escola contra agressão social ou bullying (a-41% e b-40%); o único diferencial foi o item relativo a apresentar a escola para os alunos deficientes (41%), cuja opção foi indicada apenas por A. Outro diferencial: tratar igualmente dentro de fora da escola (a-65%; b-80%). A classe A aderiu menos significativamente ao item que a classe B, o que sugere que o tratamento igual é compreendido na esfera ideal, porém pode-se observar alguma dificuldade para aplicação do princípio na vida real, após contato com deficiente auditivo, cuja comunicação depende de libras. Note-se que a classe A já tinha mais contato com pessoas deficientes (41%) que a classe B (10%), o que pode explicar tal diferença. Tal contato certamente influenciou as respostas quanto a deficiência que consideravam mais fácil de lidar, tanto que para a classe A que tinha mais experiência com pessoas deficientes e sofreu intervenção optou por: 47% deficiência motora e 41% deficiência auditiva; enquanto a classe B 40% deficiência motora, 20% deficiência auditiva e 20% deficiência visual. As mais difíceis de lidar foram a mental (a-35% e b-50%) e a deficiência visual (a-23% e b-25%). Quanto a possibilidade de um deficiente sofrer agressão social em sua escola houve um diferencial: respeito sempre (a-36% e b-70%); respeito na maioria das vezes (a-41% e b-25%) e pouco respeitado (a-23%). Na classe A 47% dos alunos já havia sofrido agressão social algumas vezes, o que praticamente não ocorria na B (75%- nunca; 20% algumas vezes). Conclusão: A classe A foi modificada pela intervenção acrescentando mais itens relativos a autonomia ou independência, e ampliando a visão sobre inclusão educacional.

*Palavras chave: inclusão educacional, ensino médio, pessoas com deficiências, classe comum, relacionamento entre colegas, agressão social.*

**(14.106) ESTUDO VOLUMÉTRICO DA SUBSTÂNCIA CINZENTA EM PACIENTES COM EPILEPSIA DE LOBO TEMPORAL EM REMISSÃO DE CRISE COM TRATAMENTO MEDICAMENTOSO.**

*Alvim, Marina K. M.; Coan, Ana Carolina ; Yasuda, Clarissa L.; Campos, Brunno M.; Cendes, Fernando ;*

**Introdução:** A epilepsia de lobo temporal (ELT) é a epilepsia mais comum em adultos e tem como principal substrato a esclerose hipocampal (EH). Cerca de um terço dos pacientes são refratários ao tratamento medicamentoso. Estudos já evidenciaram áreas de perda volumétrica cerebral difusas em pacientes refratários ao tratamento. As causas não estão bem estabelecidas, acreditando-se que a frequência de crises possa ser responsável pela perda neuronal . **Objetivo:** Investigar a redução volumétrica da substância cinzenta em pacientes com ELT com bom controle de crises em tratamento medicamentoso. **Métodos:** Foram estudados 37 pacientes com ELT, há pelo menos dois anos sem crises. Estes foram divididos em dois grupos: 16 deles com evidência, na ressonância magnética de 3T, de atrofia hipocampal e 21 sem tal alteração. Estes últimos foram caracterizados, em relação ao lado da epilepsia, de acordo com a evidência eletroencefalográfica. Os pacientes com foco epileptiforme definido à direita tiveram suas imagens invertidas no sentido direita-esquerda. A análise foi realizada com estudo de *Voxel-based morphometry* (VBM) e comparadas a um grupo de 74 pacientes controles. A estatística foi feita com Teste-T de duas amostras e regressão múltipla com limiar estatístico de  $p < 0,001$ , mínimo de 30 voxels agrupados. **Resultados:** O estudo demonstrou que em comparação aos controles, os pacientes com ELT com EH apresentam atrofia difusa da substância cinzenta, com atrofia máxima em hipocampo ipsilateral à zona epileptogênica, mas também em córtex pré-central, giro parahipocampal, giros frontais medial e superior, giro occipital médio ipsilaterais, além do tálamo medial bilateralmente. Já os pacientes sem evidência e EH apresentaram sinais discretos de atrofia em córtex orbitofrontal. A análise com regressão múltipla evidenciou que apenas os pacientes com sinais de EH apresentaram correlação positiva com o tempo de duração da epilepsia. *Palavras chave: Benign temporal lobe epilepsy, Magnetic resonance imaging (MRI); Voxel-based morphometry (VBM); Gray matter atrophy.*

**(14.107) REFERRED AND REAL DATA: OBESE PATIENTS WITH SM AND T2DM.**

*Regina, M.Cristina de Oliveira; Tambascia, Marcos ;*

The growth of Obesity, Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes Mellitus has been observed around the world and Brazil too. It is relevant the study of the comprehension of the elements which the patients are more inclined to pay attention regarding their healthy condition in order to recognized those they considered part of their disease and as important item to deal with. The importance they attribute to those elements probably conduct them to take off one or another aspects of their treatments. Method: transversal study with 201 subjects (30 excluded due to other confounding diseases or uncompleted responses of one or more instruments applied), male and female, aged 20-65; closed questionnaire, BAI, BDI and TAS-26 were applied after concordance by Term of Explained and Free Agreement. Results: Ordinal Logistic Regression: there was association between level of real obesity and hypertension (p value= 0,012) and level of Alexithymia (p value= 0,099); as expected, according Logistic Regression, there was association between level of real obesity and hypertension (p= 0,004) and real T2DM (p= 0,010); Kappa Test: there was discordance between referred obesity and real obesity (0,240223), discordance between referred T2DM and real T2DM (0,0089650), discordance between referred Cholesterol and real Dyslipidemia (0,198052); Pearson Chi- Square: referred hypertension and real obesity (p= 0,020), referred T2DM and real obesity (p=0,026), referred overweight as adult and real obesity(p=0,002), real obesity and anxiety measured by BAI (p= 0,075) but not with referred anxiety; referred hypertension and real hypertension (p= 0,0001), referred T2DM in their family and real T2DM (p=0,001), referred obesity in their families and real T2DM (p=0,081),referred depression and real dyslipidemia(p=0,067), referred anxiety and real dyslipidemia (p=0,047), referred high cholesterol and dyslipidemia (p=0,004), referred hypertension in family and dyslipidemia (p=0,039), referred obesity in their families and dyslipidemia(p=0,072). Conclusion: It was observed a good association among real obesity and hypertension, T2DM; and with referred High Cholesterol and Dyslipidemia in spite there was discordance between them according Kappa Test; event though there was discordance between referred T2DM and real T2DM, there was correlation among referred T2DM and referred obesity in their families and real T2DM. Real dyslipidemia was correlated with referred depression, anxiety, but only real obesity presented good association with Alexithymia and correlation with real anxiety.

*Palavras chave: obesity, meatbolic syndrome, type 2 diabetes mellitus ,alexithymia, anxiety, depression*

**(14.108) EXTRUSION PROCESS OF POLYCAPROLACTONE/HYDROXYAPATITE 3D SCAFFOLD: IN VITRO EVALUATION.**

*Perea, Geraldine Nancy Rodrigues; Rodrigues, Ana Amélia; Batista, Nilza Alzira; Dias, Juliana; Bártolo, Paulo; Belangero, William Dias; D'Ávila, Marcos Akira;*

Os scaffolds ideais aplicados na engenharia de tecidos devem ser caracterizados pela biocompatibilidade, biodegradabilidade, propriedades mecânicas apropriadas, interconectividade dos poros das células entre outras. No campo da engenharia de tecidos as tecnologias de manufatura aditiva têm sido utilizadas para produzir scaffolds com maior precisão na estrutura e morfologia interna, permitindo assim, o controle do tamanho e distribuição dos poros simulando uma matriz extracelular (ECM) de modo a facilitar a adesão, diferenciação e proliferação celular. O polímero utilizado neste trabalho é Policaprolactona (PCL) que é semicristalino e alifático além de apresentar taxa de degradação entre 12 e 24 meses e, associado a este, utilizou-se a Hidroxiapatita (HA) com partículas de tamanho estimado de 5  $\mu\text{m}$ . Por processo de extrusão, sintetizou-se scaffolds de policaprolactona/hidroxiapatita (PCL/HA) no formato 3D, os quais foram avaliados *in vitro* na presença de células tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo humano (MSC/TA). As amostras foram esterilizadas em autoclave a 121°C por 15 minutos e avaliadas pelo teste de citotoxicidade direta utilizando-se o método do MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium) na presença de células tronco mesenquimais derivadas de tecido adiposo humano (MSC/TA).

As células foram inoculadas nos poços e cultivadas por 24 horas e, após este período, as amostras (n=4) foram inoculadas sobre as mesmas em contato direto por 24 horas a 37°C. Como controle positivo de toxicidade (CPT) utilizou-se meio Ham F12 o qual foi adicionado 10% soro fetal bovino e 10% de Fenol e como controle negativo toxicidade (CNT), o extrato de poliestireno conforme normas (ISO-10993-5, 1992; ISO-10993, 1997, NBR-ISO10993, 1999; SJOGREN, 2000). Após incubação retirou-se o meio de cultura e os poços foram lavados com 200  $\mu\text{l}$  de solução tampão fosfato salino (PBS). Adicionou-se 200  $\mu\text{l}$  meio Ham F12, 10mM de tampão HEPES e 50  $\mu\text{l}$  MTT. A placa foi incubada no escuro por 4 horas a 37°C foi substituído por 200  $\mu\text{l}$  de Dimethyl Sulphoxide (DMSO) e agitada por 30 minutos. Realizou-se a leitura da absorbância em comprimento de onda de 595 nm e em seguida as amostras foram fixadas, cobertas com ouro e observadas em microscopia eletrônica de varredura. Observou-se nos resultados de absorbância obtidos, que o scaffold de PCL/HA sintetizado via processo de extrusão, apresentou ausência de toxicidade quando comparadas com o CNT. No resultado da MEV, após três dias de cultivo, pequena quantidade de células aderidas foram observadas. Os resultados preliminares de toxicidade e MEV foram satisfatórios. Novos testes serão realizados por períodos mais longos a fim de confirmar o comportamento de adesão, diferenciação e proliferação celular bem como sobre o scaffold a fim de comprovar seu potencial como biomaterial para a utilização *in vivo*.

*Palavras chave: Scaffold, polycaprolactone, hydroxyapatite, extrusion, cytotoxicity*

**(14.109) ESTRESSE OXIDATIVO E NITROSATIVO INDUZIDO POR CISPLATINA EM PACIENTES COM CÂNCER DE CABEÇA E PESCOÇO.**

*Tuan, Bruna Taliani; Baldini, Daniele ; Amaral, Laís Sampaio; Costa, Anna Paula Lourenço; Visacri, Marília Berlofa; Carvalho, Eder Pincinato de; Lima, Camem Silva Passos; Mazzola, Priscila Gava; Moriel, Patrícia ;*

A cisplatina é um agente antitumoral potente e citotóxico, indicado para o tratamento de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (CCECP), concomitante a radioterapia. Seu uso está limitado devido ao surgimento de intensos efeitos adversos, como exemplo a náusea, vômito, ototoxicidade, mielotoxicidade e nefrotoxicidade. Esses efeitos podem ocorrer por diversos mecanismos, um deles podem ser o desequilíbrio entre os compostos oxidantes (EROs, espécies reativas de oxigênio; e ERNs, espécies reativas de nitrogênio) e os mecanismos fisiológicos de defesa antioxidante (enzimas superóxido dismutase, glutathione peroxidase e catalase) no local onde a cisplatina age. Quando esses radicais livres estão em maior concentração do que as enzimas antioxidantes, eles agem nas células provocando danos, sendo denominado de estresse oxidativo (EROs) ou nitrosativo (ERNs). O objetivo deste trabalho foi comparar marcadores de estresse oxidativo/nitrosativo antes e após a quimioterapia com cisplatina. Trata-se de um estudo clínico com amostragem consecutiva, conduzido em um Hospital Universitário e aprovado pelo Comitê de Ética. Para a inclusão, os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram incluídos pacientes de ambos os sexos, entre 18 e 80 anos, com diagnóstico de CCECP, em seu primeiro dia (caso novo) no Ambulatório de Oncologia Clínica, que receberam como conduta terapêutica 3 ciclos de quimioterapia com cisplatina (> 60 mg/m<sup>2</sup>) e radioterapia concomitante. Foi recolhido dos pacientes amostras de urina basal (antes da quimioterapia) e após a quimioterapia (em 3 períodos, 0-12h, 12-24h e 24-48h), para os 3 ciclos de tratamento. Todas as amostras foram recolhidas pelas farmacêuticas e armazenadas em freezer -80°C para posterior análises. O estresse oxidativo foi determinado avaliando a concentração de peróxidos (método de FOX) e peroxidação lipídica (método de TBARS), e o nitrosativo através da determinação de nitrito (método de Griess). Para análise estatística dos dados, devido ao pequeno tamanho amostral, foi realizado o teste da Soma de Postos Sinalizados de Wilcoxon ( $p < 0,05$ ). Foram estudados 33 pacientes (96,3% homem,  $55,5 \pm 10,1$  anos, 81,5% brancos, 88,9% tabagistas acentuados, 70,4% etilistas mais que acentuados, 55,5% com câncer de faringe, 66,6% estadiados como IV). Foram relacionados os resultados de estresse oxidativo/nitrosativo entre os períodos (basal, 0-12h, 12-24h e 24-48h) e entre os ciclos (primeiro, segundo e terceiro). Para TBARS não houve diferença significativa entre os resultados de estresse. Em relação ao nitrito foi possível observar diferença significativa na correlação entre basal e cada um dos três períodos (nos três ciclos). O teste de FOX no primeiro ciclo foi significativo para basal x 0-12h; 0-12 x 12-24h; e 12-24 x 24-48h, e entre os ciclos apenas 24-48h (1º ciclo) x 24-48h (2º ciclo). O teste de TBARS é um teste não-específico e apresenta varias limitações, fato que pode ter prejudicado a determinação da peroxidação lipídica. Os resultados de nitrito basal, para três ciclos, foram significativamente menores que os valores de nitrito após a quimioterapia, demonstrando que a cisplatina provoca aumento de espécies reativas ao nitrogênio (ERNs), porém esse efeito é passageiro, visto que as concentrações de nitrito no período basal do segundo e terceiro ciclo são semelhantes ao basal do primeiro ciclo. O teste de FOX também comprova que existe um aumento de espécies reativas ao oxigênio (EROs) conforme o uso de cisplatina. Este estudo mostra o aumento de estresse nitrosativo e oxidativo após a administração de cisplatina em pacientes com câncer de cabeça e pescoço.

*Palavras chave: estresse oxidativo, estresse nitrosativo, câncer de cabeça e pescoço, cisplatina, quimioterapia*

**(14.110) A EXPERIÊNCIA DIDÁTICA COMO CONTRIBUIÇÃO PARA A FORMAÇÃO DE DOUTORES EM SAÚDE COLETIVA .**

*Friestino, Jane Kelly Oliveira; Fialho, Paula Mayara Matos; Ferraz, Rosemeire de Olanda; Corrêia, Carlos Roberto Silveira; Moreira Filho, Djalma de Carvalho;*

**INTRODUÇÃO:** A formação de mestres e doutores no Brasil atualmente é adquirida através do cumprimento de programas de pós-graduação reconhecidos pelo MEC. Muitos destes profissionais após sua formação irão atuar na educação, seja na formação tecnológica, graduação e pós-graduação. Sabe-se que, mesmo sendo considerado um eixo importante de atuação nem todos os programas de pós-graduação contam com incentivo ou direcionamento didático aos futuros mestres e doutores. Em 1999, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por meio da Resolução 065/99 institui a obrigatoriedade do estágio docente aos alunos bolsistas dos programas de pós-graduação (mestrado e doutorado). As instituições que oferecem os cursos de pós-graduação na modalidade stricto sensu criaram normas para a operacionalização desses estágios. Na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), o Programa de Estágio Docente (PED) foi instituído em 2007 e regulamentado em 2010, “cujo objetivo é o de aperfeiçoar para o exercício da docência os estudantes de pós-graduação”. Com isso, alunos da pós-graduação tem oportunidade de vivenciar experiências didáticas em áreas correlatas à sua atuação.

**OBJETIVO:** Descrever a experiência vivenciada no estágio de docência junto à disciplina Prática de Ciências III. **MÉTODOS:** Trata-se de um estudo documental com base em relatórios livres de doutorandas do Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva - área Epidemiologia da Faculdade de Ciências Médicas-UNICAMP que participaram do PED, no ano de 2012, na disciplina Prática de Ciências III, a qual tem caráter teórico-prático e é obrigatória no currículo de graduação em Medicina, oferecida no segundo ano. A turma foi dividida em 05 grupos com cerca de 20 alunos cada, com a participação de 05 docentes da universidade e 03 alunas do PED. A participação no PED ocorreu sob a supervisão do coordenador da disciplina em todas as fases de seu desenvolvimento, englobando o planejamento, a execução e a avaliação. As doutorandas participaram em: revisão do plano de ensino, elaboração de material didático, aplicação e correção dos exercícios, atuação no ensino em aulas teóricas e práticas e atendimento aos alunos. Foi realizada análise documental dos relatórios finais de cada estagiária que tinha por objetivo ser de escrita livre, apontando a descrição de sua experiência e contribuição para sua formação, enfatizando os pontos mais relevantes. Na análise foram feitas leituras e releituras exaustivas dos textos, identificando estruturas de relevância, ideias centrais e momentos-chaves sobre o tema. **RESULTADOS:** Na análise documental foram identificadas como estruturas relevantes: práticas didáticas, a necessidade de metodologia de ensino bem definidas, e inserção do estágio docente como um elo entre o aluno e o professor. Como ideias centrais foram encontradas a satisfação com a prática didática, motivação por adquirir habilidades de docência. Como momentos-chaves foram observados: perda da timidez, adquirir uma visão de docente, e aprender a lidar com os alunos em relação às suas expectativas. **CONCLUSÕES:** Observa-se, na atualidade, que os mestres e doutores são mais capacitados para o desenvolvimento de pesquisas, porém, estão sendo também preparadas para as exigências da própria educação em nível superior. Com base nos resultados encontrados, ocorreu uma mudança de paradigma, visto que os alunos de pós-graduação tiveram experiência didática e isto contribuiu para a formação enquanto doutores, pois permitiu um avanço das práticas docentes

*Palavras chave: Aprendizagem, saúde coletiva, ensino*

**(14.111) INTERAÇÃO ENTRE CÉLULAS DENDRÍTICAS E AS CÉLULAS NK NA RESPOSTA IMUNOLÓGICA CONTRA O FUNGO DIMÓRFICO PARACOCCIDIOIDES BRASILIENSIS.**

*Longhi, Larissa Nara Alegrini; Ferreira, Maria Carolina; Blotta, Maria Heloisa Sousa Lima; Mamoni, Ronei Luciano;*

**Resumo:** Em um estudo anterior, demonstramos que as células NK podem participar da resposta imunológica na Paracoccidiodomicose humana (PCM). Recentemente, foi demonstrado que as células dendríticas (DCs) e as células NK podem interagir aumentando suas atividades. O objetivo deste estudo foi avaliar se DCs estimuladas por células leveduriformes de *Paracoccidioides brasiliensis* (Pb) são capazes de interagir com as células NK, e como essa interação influencia na ativação, produção de citocinas e na atividade citotóxica das células NK contra o Pb. **Resultados:** Nossos resultados mostraram que DCs, derivadas de monócitos humanos, quando estimuladas por células leveduriformes de Pb produzem citocinas (IL-12, IL-18, IL-23 e IL-15 associada à membrana), que são importantes para a ativação das células NK. Também observamos que células NK estimuladas por estas citocinas ou cocultivadas com DCs (previamente estimuladas por células leveduriformes de Pb) apresentaram um aumento da expressão de marcadores de ativação (CD25 e CD69), na capacidade fungicida direta e na produção aumentada de citocinas, tais como IFN-gama e TNF-alfa. Além disso, as interações entre DCs e NK promoveram a proliferação de células NK (particularmente a subpopulação que expressa níveis elevados de CD56 - CD56bright). Estes efeitos são dependentes da produção de IL-15 e IL-12 por DCs, uma vez que o bloqueio destas citocinas aboliram essas respostas. **Conclusão:** Os resultados demonstram que a interação entre as células NK e DCs pode influenciar a atividade das células NK, aumentando a sua atividade citotóxica e a produção de citocinas e, portanto, são capazes de modular a resposta imunológica adquirida subsequente observada na PCM.

*Palavras chave: Células NK, Células Dendríticas, Paracoccidioides brasiliensis, citotoxicidade, citocinas*

**(14.112) DISCREPÂNCIA ENTRE IMC REAL E REFERIDO CONSIDERANDO-SE IDADE, GÊNERO, ESTADO CIVIL ALEXITIMIA PURA E PROVÁVEL ALEXITIMIA.**

*Regina, M.Cristina de Oliveira; Tambascia, Marcos Antonio; Lyra, Brayam Lima; Lisboa, Paloma ;*

Considerando-se a importância da adequada avaliação do próprio peso para as providências corretas em relação à saúde, a crescente epidemia de obesidade no mundo e no Brasil, e os aspectos emocionais que podem influenciar tais cuidados, quer sejam resultantes do perfil emocional ou do estado da função perceptiva dos pacientes com sobrepeso e obesidade, decidiu-se verificar a ocorrência de Alexitimia sem ansiedade e depressão associadas, e de provável Alexitimia, também sem ansiedade e depressão associadas, as quais poderiam ser fatores que secundariamente conduziram a tal estado. Note-se que Alexitimia refere-se a dificuldade de perceber emoções em si e em outrem ou literalmente ausência de palavras para emoções. O índice de Massa Corporal, considerando peso e altura, define o nível de sobrepeso e obesidade dos pacientes. Método: de 201 pacientes ambulatorio de síndrome metabólica que concordaram em participar da pesquisa via termo de consentimento livre e esclarecido, dos quais 30 foram excluídos por fatores de confusão oriundos de outras patologias, constitui-se amostra com 41 alexitímicos (AP) sem ansiedade e depressão e 29 prováveis alexitímicos (PAP) sem ansiedade ou depressão associados. Resultados: idade média dos pacientes com AP era de 50,4 e dos PAP 44,54 anos; verificou-se discrepâncias entre o IMC real (IMCR) e o IMC referido (IMCD) em vários aspectos: estado civil (EC) com AP sem discrepância 54% eram casados, com discrepância menor (IMCR < IMCD) 54,5% casados e com discrepância maior (IMCR > IMCD) 69% eram solteiros; idade: de 20-40 anos 50% IMCR > IMCD, 36% IMCR = IMCD, de 41-60 anos 37% IMCR > IMCD, 33% IMCR < IMCD, 30% IMCR = IMCD; 41-50 50% IMCR > IMCD; 20-40 50% IMCR > IMCD; EC com PAP: 50% eram solteiros com IMCD = IMCR, 50% solteiros com IMCR < IMCD e 64% solteiros com IMCR > IMCD; considerando-se idade e AP: 27% tinha idade entre 41-50 e IMCR > IMCD e 20% entre 30-40 sendo IMCR > IMCD; IMCR < IMCD: 40% 41-50 e IMCR > IMCD e 30% 51-60 IMCR > IMCD; 36% IMCR = IMCD entre 51 e 60 e IMCR > IMCD; 86% do gênero feminino (GF) e AP tinham IMCR > IMCD, 77% GF e AP tinha IMCR = IMCD e 82% GF e AP tinha IMCR < IMCD. No gênero masculino (21%) e AP 30% tinha IMCR > IMCD e entre os GM (28%) e PAP 50% tinha IMCR < IMCD. Conclusão: Verificou-se que entre pacientes com AP e IMCR > IMCD, os solteiros eram prevalentes, bem como entre os PAP, mas em relação à idade e nível de IMCR, a prevalência da faixa etária foi entre 41-50 anos e IMCR > IMCD entre os Alexitímicos puros. Entre os prováveis alexitímicos 50% do gênero masculino e apresentou IMCR < IMCD.

*Palavras chave: obesity, BMI, alexithymia, probable alexithymia, metabolic syndrome, type 2 diabetes*

**(14.113) ESTUDO DAS INTERAÇÕES ENTRE PLASMA ATMOSFÉRICO NÃO TÉRMICO E FIBROBLASTOS DÉRMICOS HUMANOS EX-VIVOS.**

*Lopes, Bruno Bellotti ; Kraft, Maria Beatriz de Paula Leite ; Rehder, Jussara ; Batista, Fabiana Regina Xavier; Puzzi, Maria Beatriz ;*

O plasma atmosférico não térmico é um gás ionizado, produzido quando é fornecida energia para o mesmo. Ele é obtido sob temperatura e pressão ambientes, dispondo de componentes químicos (moléculas ionizadas, radicais livres e elétrons) e físicos (radiação ultravioleta e campo elétrico). O plasma foi largamente usado na indústria de processamento de materiais e a recente descoberta de suas propriedades esterilizantes desencadeou um grande número de pesquisas sobre sua aplicabilidade na área biomédica. Descobriu-se, então, que de acordo com a dosagem e com o tipo de tratamento realizado, ele possui a capacidade de alterar a expressão gênica de células humanas. Para que essa tecnologia possa ser incorporada ao meio médico, é necessário entender ao certo quais as interações entre o plasma e as células humanas. A fim de esclarecer se após o tratamento com plasma mantem-se a viabilidade celular, fibroblastos dérmicos humanos ex-vivos foram tratados diretamente e indiretamente, por 30 e 60 segundos. Enquanto o tratamento direto envolve fornecimento de íons, elétrons e radiação ultravioleta, o indireto envolve radicais livres, espécies reativas de oxigênio e radiação ultravioleta. As células foram então coradas com Trypan Blue e contadas logo após o experimento, 3 e 5 dias depois, sendo comparadas ao grupo controle, que não recebeu nenhum tipo de tratamento. Os experimentos mostram que o plasma atmosférico não térmico de gás Argônio pode ser aplicado em fibroblastos dérmicos humanos sem alterar sua viabilidade celular. O tratamento não causa apoptose em todas as células e não exacerba sua proliferação. Novos estudos estão em processo para analisar se há alteração da funcionalidade celular.

*Palavras chave: Plasma atmosférico não térmico, fibroblastos, viabilidade celular*

**(14.114) IMUNOFENOTIPAGEM DE LINFÓCITOS NA DIFERENCIAÇÃO DOS FENÓTIPOS CLÍNICOS DAS IMUNODEFICIÊNCIAS PRIMÁRIAS.**

*da Silva, Raquel Gomes ; Marega, Lia Furlaneto ; Dias, Ana Luisa Abrahão; Cunha, Fernanda Gonçalves Pereira; Mazzola, Taís Nistch; Abramczuk, Beatriz Mariana; Ramalho, Vanessa Domingues; Centerville, Maráisa ; Riccetto, Adriana Gut Lopes; da Silva, Marcos Tadeu Nolasco; Lorand-Metze, Irene Gyongyver Heidemarie ; Vilela, Maria Marluce dos Santos;*

As Imunodeficiências Primárias representam um desafio em seu diagnóstico e tratamento, devido à sobreposição de sintomas e similaridades entre as doenças, tais como infecções recorrentes, hipogamaglobulinemia, neutropenia, entre outras. O objetivo deste estudo transversal foi comparar a imunofenotipagem de pacientes pediátricos com três perfis de imunodeficiências primárias a controles saudáveis. Foram recrutados pacientes com Imunodeficiência Comum Variável (ICV), Agamaglobulinemia ligada ao X (XLA) e sob investigação de Síndrome Linfoproliferativa Autoimune (ALPS) em acompanhamento no ambulatório de Imunodeficiência Primária do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Em amostras de sangue periférico foi realizado o exame de imunofenotipagem de linfócitos T (CD3+), T CD4+, T CD8+, B (CD19+), T TCR $\alpha\beta$ +CD4-CD8-, NKT (CD3+ CD16/56+), NK (CD3- CD16/56+) no Laboratório de Marcadores Celulares do Centro de Hematologia e Hemoterapia da UNICAMP. Houve diferença significativa entre o número absoluto de linfócitos B dos pacientes com XLA (mediana: Md=4 Cel/mm<sup>3</sup>), tanto com o grupo controle (Md=353 Cel/mm<sup>3</sup>; p=0,003), quanto com o grupo de pacientes com provável ALPS (Md=221 Cel/mm<sup>3</sup>; p=0,025). O número de linfócitos T (CD3+) dos pacientes com XLA (Md=2308 Cel/mm<sup>3</sup>) estava aumentado em relação aos pacientes com provável ALPS (Md=1366 Cel/mm<sup>3</sup>; p=0,025) e ao grupo controle (Md=1426 Cel/mm<sup>3</sup>; p=0,002). O mesmo se deu para o número de linfócitos T CD4+ (Md=1469 Cel/mm<sup>3</sup> para XLA; 738 Cel/mm<sup>3</sup>; p=0,018 para provável ALPS; 807 Cel/mm<sup>3</sup>; p<0,001 para controles). Pacientes com XLA apresentam bloqueio na diferenciação de linfócitos B na medula óssea devido à mutação no gene codificador de Btk, levando a um baixíssimo número absoluto encontrado no exame. É possível que o elevado número de linfócitos T relatado acima se de pela deficiente interação T-B. A imunofenotipagem se mostra uma ferramenta essencial para auxílio no diagnóstico e diferenciação de imunodeficiências primárias com características clínicas semelhantes. *Palavras chave: imunofenotipagem, XLA, ICV, ALPS*

**(14.115) CINÉTICA DE PRODUÇÃO DE CITOCINAS FRENTE AO HIV EM CULTURA DE CÉLULAS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS COM INFECÇÃO VERTICAL POR HIV.**

*Araújo, Caroline Natânia; Mazzola, Tais Nistch; Bernachi, Jéssica Santana; Lemos, Renata ; dos Anjos, Emanuel Borges Vitor; da Silva, Marcos Tadeu Nolasco; Vilela, Maria Marluce dos Santos;*

A infecção causada pelo Human Immunodeficiency Virus (HIV) promove disfunção crônica e grave do sistema imunológico, causando alterações no número e função das várias células, inclusive na produção de citocinas. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil cinético de citocinas frente ao estímulo de HIV. Trinta e oito pacientes pediátricos com infecção vertical pelo HIV foram recrutados no Ambulatório de Imunodeficiência Secundária do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas. Todos os pacientes estavam sob terapia antiretroviral combinada (TARVc). Células mononucleares do sangue periférico (PBMC) foram cultivadas com HIV inativado por aldritol-2. Seu sobrenadante foi coletado em cinco momentos diferentes (12, 24, 36, 48 e 72 horas). O método utilizado para quantificação das citocinas IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  e IL-17 foi *Cytometric Bead Array* (CBA). O programa computacional SPSS 17.0 foi usado nas análises estatísticas não paramétricas, sendo considerado  $P < 0,05$ . A citocina IL-17 não foi estimulada pelo HIV, permanecendo indetectável ao longo da incubação. Já a concentração das citocinas IL-2 (medianas: 12h: 9,1pg/mL; 24h: 16,6pg/mL; 36h: 21,5pg/mL; 48h: 28,8pg/mL; 72h: 35,4pg/mL) e IFN- $\gamma$  (medianas: 12h: 51,3pg/mL; 24h: 158,1pg/mL; 36h: 164,3pg/mL; 48h: 233,8pg/mL; 72h: 467,8pg/mL) aumentou significativamente ao longo do tempo, enquanto o nível de TNF- $\alpha$  (medianas: 12h: 30,5pg/mL; 24h: 28,0pg/mL; 36h: 15,9pg/mL; 48h: 14,3pg/mL; 72h: 8,4pg/mL) diminuiu. Conclui-se que o HIV estimulou principalmente uma resposta do tipo Th1 tempo-dependente nas culturas de células dos pacientes pediátricos.

*Palavras chave: HIV, citocinas, IFN-gama, TNF-alfa, IL-17, IL-2*



**(14.116) TÉCNICA DE MLPA NA DEFICIÊNCIA INTELECTUAL IDIOPÁTICA: OITO ANOS DE TRIAGEM NO SERVIÇO DE GENÉTICA CLÍNICA DO DGM DA FCM-UNICAMP.**

*Lincoln-de-Carvalho, Carolina Rodrigues ; Henrique, Pamela Pontes; Mello, Maricilda Palandi; Marques-de-Faria , Antonia Paula;*

Rearranjos cromossômicos envolvendo regiões subteloméricas são detectados em percentual significativo de indivíduos com deficiência intelectual (DI) idiopática, justificando sua investigação. Entre as alternativas para estudá-los destaca-se a técnica *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA) pela rapidez, sensibilidade e custo baixo. Nesse sentido, desde 2007 o Serviço de Genética Clínica do Departamento de Genética Médica da FCM-UNICAMP oferece o teste a pacientes com DI de origem