# CENTRO DE ESTATÍSTICA APLICADA - CEA - USP RELATÓRIO DE CONSULTA

**TÍTULO DO PROJETO:** "Expressão de TGFβ e de seus receptores e sua ação sobre ciclinas G1 no epitélio gástrico de ratos com proliferação celular estimulada ou inibida".

PESQUISADORA: Luciana R. Jordão

**ORIENTADORAS:** Eliana P. Alvares

Patrícia Gama

INSTITUIÇÃO: Instituto de Ciências Biomédicas - USP

**FINALIDADE:** Mestrado

PARTICIPANTES DA ENTREVISTA: Carlos Alberto de Bragança Pereira

Julio da Motta Singer

Luciana R. Jordão

Eliana P. Alvares

Patrícia Gama

Frederico Zanqueta Poleto

Simone Curti

**DATA:** 20/08/2002

FINALIDADE DA CONSULTA: Assessoria na análise do experimento.

RELATÓRIO ELABORADO POR: Frederico Zanqueta Poleto

Simone Curti

#### 1. Introdução

A proliferação celular do epitélio é estimulada nos ratos lactentes e inibida nos adultos. Essa proliferação pode ser influenciada por fatores de crescimento (como as proteínas do grupo TGFβ), que são essenciais durante todo o desenvolvimento embrionário e participam da manutenção da integridade da mucosa no adulto.

O objetivo do estudo é avaliar a expressão das proteínas TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2 e TGF $\beta$ 3, e seus receptores T $\beta$ RI, T $\beta$ RII e T $\beta$ RIII no epitélio gástrico de ratos alimentados ou em jejum, lactentes ou adultos.

## 2. Descrição do experimento e das variáveis

Três ratos Wistar formaram cada um dos 4 grupos experimentais (alimentado lactente, jejum lactente, alimentado adulto e jejum adulto), sendo que os lactentes são ratos com 14 dias de vida, os adultos com 60, os em jejum ficaram sem alimentação em suas 16 últimas horas de vida, para os lactentes, e 30 para os adultos.

Os ratos foram anestesiados. Fragmentos do estômago foram lavados em solução fisiológica 0,9%, fixados em paraformaldeído 4,0% por 6 a 8 horas, incluídos em parafina e em seguida submetidos a 2 a 3 cortes de 5  $\mu$ m. Os cortes foram desparafinizados e hidratados.

Dez glândulas foram retiradas para cada proteína e três observadores, independentemente, contaram o número de células com expressão da proteína fraca ou forte da mucosa superficial, parietal do colo, parietal da base e principal (ziruogênica).

O experimento foi realizado de forma que os observadores não sabiam se os ratos estavam sendo alimentados ou em jejum.

#### 3. Situação do projeto

A proteína TGFβ1 já foi avaliada e as outras estão em fase de coleta de dados.

# 4. Sugestões do CEA

Para cada tipo de célula (mucosa superficial, parietal do colo, parietal da base e principal), recomendamos armazenar no Excel os dados obtidos da proteína TGFβ1 com a estrutura ilustrada na Tabela 1.

Tabela 1: Número de células da mucosa superficial (dados fictícios)

1	ld	Alimentacao	Idade	Rato	Glandula	Forte-O1	Forte-O2	Forte-O3	Fraca-O1	Fraca-O2	Fraca-O3	PorcForte-O1	PorcForte-O2	PorcForte-O3	PorcMForte
1	1	Jejum	Lactente	1	1	46	55	52	86	94	86	0,348	0,369	0,377	0,365
2 Jejum Lactente 2 1 46 55 51 48 53 45 0.489 0.509 0.501 0.510 2 Jejum Lactente 2 2 78 79 78 78 24 28 24 0.765 0.738 0.765 0.756 2 Jejum Lactente 2 10 41 49 47 89 91 88 0.315 0.350 0.348 0.338 3 Jejum Lactente 3 1 27 37 33 28 32 23 0.491 0.536 0.699 0.539 3 Jejum Lactente 3 2 59 65 63 35 43 39 0.628 0.602 0.618 0.616 2 Jejum Lactente 3 10 99 106 98 61 68 59 0.619 0.609 0.624 0.617 4 Alimentado Lactente 1 1 58 60 50 19 21 17 0.753 0.741 0.746 0.747 4 Alimentado Lactente 1 2 86 89 84 37 44 35 0.699 0.669 0.706 0.691 3 Jejum Lactente 1 10 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.755 5 Alimentado Lactente 2 1 2 72 28 27 69 70 64 0.261 0.266 0.279 0.288 5 Alimentado Lactente 2 1 27 28 27 69 70 64 0.261 0.266 0.279 0.288 5 Alimentado Lactente 2 1 27 28 87 69 70 64 0.261 0.266 0.279 0.288 5 Alimentado Lactente 2 1 0.9 2 10 5 39 41 36 0.049 0.196 0.122 0.122 6 Alimentado Lactente 3 2 77 79 74 87 89 84 0.449 0.470 0.468 0.463 6 Alimentado Lactente 3 2 77 79 74 87 89 84 0.449 0.470 0.468 0.463 6 Alimentado Lactente 3 2 77 79 74 87 89 84 0.449 0.470 0.468 0.463 7 Jejum Adulto 1 2 7 9 0 70 78 70 78 70 0.091 0.091 0.090 0.066 8 Jejum Adulto 1 2 7 10 38 8 40 32 22 26 18 0.0676 0.0571 0.549 0.565 7 Jejum Adulto 1 1 0 38 40 32 22 26 18 0.0676 0.0571 0.549 0.565 8 Jejum Adulto 1 1 0 38 8 40 32 22 26 18 0.0633 0.056 0.060 0.062 8 Jejum Adulto 1 1 0 38 8 40 32 22 26 18 0.0633 0.056 0.060 0.062 8 Jejum Adulto 1 1 0 38 8 40 32 22 26 18 0.0633 0.056 0.060 0.060 0.065 8 Jejum Adulto 1 1 0 38 8 87 66 66 68 67 0.050 0.	1	Jejum	Lactente	1	2	86	92	85	0	8	3	1,000	0,920	0,966	0,962
2 Jejum Lactente 2 1 46 55 51 48 53 45 0.489 0.509 0.503 0.510 0.510 2 Jejum Lactente 2 2 78 79 78 78 24 28 24 0.765 0.738 0.765 0.756 2 Jejum Lactente 2 10 41 49 47 89 91 88 0.315 0.350 0.348 0.338 3 Jejum Lactente 3 1 27 37 33 28 32 23 0.491 0.536 0.689 0.539 3 Jejum Lactente 3 2 59 65 63 35 43 39 0.628 0.602 0.618 0.616 1 September 1 1 58 60 50 19 21 17 0.763 0.741 0.746 0.617 4 Alimentado Lactente 1 1 58 60 55 19 21 17 0.763 0.741 0.746 0.747 4 Alimentado Lactente 1 2 86 89 84 37 44 35 0.699 0.669 0.706 0.691 1 Jejum Lactente 2 1 0 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.753 5 Alimentado Lactente 2 1 0 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.753 5 Alimentado Lactente 2 1 0 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.753 5 Alimentado Lactente 2 1 0 98 107 105 34 38 30 0.779 0.722 0.738 0.778 0.753 5 Alimentado Lactente 2 1 0 9 5 0.59 25 35 31 0.779 0.722 0.744 0.748 0.748 0.749 0.74	:			:	:	:	:	:					:		:
2 Jejum Lactente 2 1 46 55 51 48 53 45 0.489 0.509 0.503 0.510 0.510 2 Jejum Lactente 2 2 78 79 78 78 24 28 24 0.765 0.738 0.765 0.756 2 Jejum Lactente 2 10 41 49 47 89 91 88 0.315 0.350 0.348 0.338 3 Jejum Lactente 3 1 27 37 33 28 32 23 0.491 0.536 0.689 0.539 3 Jejum Lactente 3 2 59 65 63 35 43 39 0.628 0.602 0.618 0.616 1 September 1 1 58 60 50 19 21 17 0.763 0.741 0.746 0.617 4 Alimentado Lactente 1 1 58 60 55 19 21 17 0.763 0.741 0.746 0.747 4 Alimentado Lactente 1 2 86 89 84 37 44 35 0.699 0.669 0.706 0.691 1 Jejum Lactente 2 1 0 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.753 5 Alimentado Lactente 2 1 0 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.753 5 Alimentado Lactente 2 1 0 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.753 5 Alimentado Lactente 2 1 0 98 107 105 34 38 30 0.779 0.722 0.738 0.778 0.753 5 Alimentado Lactente 2 1 0 9 5 0.59 25 35 31 0.779 0.722 0.744 0.748 0.748 0.749 0.74	1	Jejum	Lactente	1	10	45	52	47	72	80	80	0,385	0,394	0,370	0,383
2   Jejum   Lactente   2   10   41   49   47   89   91   88   0.315   0.350   0.348   0.338     3   Jejum   Lactente   3   1   27   37   33   28   32   23   0.491   0.536   0.689   0.539     3   Jejum   Lactente   3   2   59   65   63   35   43   39   0.628   0.602   0.618   0.616     3   Jejum   Lactente   3   10   99   106   98   61   68   59   0.619   0.609   0.624   0.617     4   Alimentado   Lactente   1   1   58   60   50   19   21   17   0.753   0.741   0.746   0.747     4   Alimentado   Lactente   1   2   86   89   84   37   44   35   0.699   0.669   0.706   0.691     4   Alimentado   Lactente   1   10   98   107   105   34   38   30   0.742   0.738   0.778   0.753     5   Alimentado   Lactente   2   1   27   28   27   69   70   64   0.281   0.286   0.297   0.288     5   Alimentado   Lactente   2   2   88   91   90   2.5   35   31   0.779   0.722   0.744   0.748     5   Alimentado   Lactente   2   10   2   10   5   39   41   36   0.049   0.196   0.122   0.724     6   Alimentado   Lactente   3   2   71   79   74   87   89   84   0.449   0.470   0.468   0.463     6   Alimentado   Lactente   3   10   68   68   62   50   51   51   0.576   0.571   0.549   0.565     7   Jejum   Adulto   1   10   38   40   32   22   26   18   0.633   0.455   0.450   0.453     7   Jejum   Adulto   1   10   38   40   32   22   26   18   0.633   0.455   0.450   0.453     8   Jejum   Adulto   1   10   38   40   32   22   26   18   0.633   0.546   0.561   0.556   0.551     9   Jejum   Adulto   2   1   37   45   44   43   49   49   51   46   0.269   0.292   0.292   0.294     9   Jejum   Adulto   1   10   38   40   32   22   26   18   0.633   0.455   0.450   0.453     9   Jejum   Adulto   1   10   38   40   32   22   26   18   0.633   0.456   0.450   0.453     10   Alimentado   Adulto   3   1   83   88   79   69   69   63   0.546   0.561   0.556   0.551     10   Alimentado   Adulto   1   1   13   19   16   3   12   8   0.813   0.613   0.667   0.697     10   Alimentado   Adulto   1   1   13   19   16   3   12   8   0.813   0.613   0	2	Jejum	Lactente	2		46				53	45		0,509	0,531	
3 Jejum Lactente 3 1 27 37 33 28 32 23 0.491 0.536 0.589 0.539   3 Jejum Lactente 3 1 0 99 65 63 35 43 39 0.628 0.602 0.618 0.616   3 Jejum Lactente 3 10 99 106 98 61 68 59 0.619 0.609 0.602 0.618 0.616   4 Alimentado Lactente 1 1 58 60 50 19 21 17 0.753 0.741 0.746 0.747   4 Alimentado Lactente 1 2 86 89 84 37 44 35 0.699 0.669 0.706 0.691   4 Alimentado Lactente 1 1 0 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.755   5 Alimentado Lactente 2 1 27 28 27 69 70 64 0.281 0.286 0.297 0.288   5 Alimentado Lactente 2 2 88 91 90 25 35 31 0.779 0.722 0.744 0.748   1	2	Jejum	Lactente	2	2	78	79	78	24	28	24	0,765	0,738	0,765	0,756
3 Jejum Lactente 3 1 27 37 33 28 32 23 0.491 0.536 0.589 0.539   3 Jejum Lactente 3 1 0 99 65 63 35 43 39 0.628 0.602 0.618 0.616   3 Jejum Lactente 3 10 99 106 98 61 68 59 0.619 0.609 0.602 0.618 0.616   4 Alimentado Lactente 1 1 58 60 50 19 21 17 0.753 0.741 0.746 0.747   4 Alimentado Lactente 1 2 86 89 84 37 44 35 0.699 0.669 0.706 0.691   4 Alimentado Lactente 1 1 0 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.755   5 Alimentado Lactente 2 1 27 28 27 69 70 64 0.281 0.286 0.297 0.288   5 Alimentado Lactente 2 2 88 91 90 25 35 31 0.779 0.722 0.744 0.748   1	:	:		:	:	:	:	:					:		i
3 Jejum Lactente 3 1 27 37 33 28 32 23 0.491 0.536 0.589 0.539   3 Jejum Lactente 3 1 0 99 65 63 35 43 39 0.628 0.602 0.618 0.616   3 Jejum Lactente 3 10 99 106 98 61 68 59 0.619 0.609 0.602 0.618 0.616   4 Alimentado Lactente 1 1 58 60 50 19 21 17 0.753 0.741 0.746 0.747   4 Alimentado Lactente 1 2 86 89 84 37 44 35 0.699 0.669 0.706 0.691   4 Alimentado Lactente 1 1 0 98 107 105 34 38 30 0.742 0.738 0.778 0.755   5 Alimentado Lactente 2 1 27 28 27 69 70 64 0.281 0.286 0.297 0.288   5 Alimentado Lactente 2 2 88 91 90 25 35 31 0.779 0.722 0.744 0.748   1	2	Jeium	Lactente	2	10	41	49	47	89	91	88	0.315	0.350	0.348	0.338
3   Jejum   Lactente   3   2   59   65   63   35   43   39   0,628   0,602   0,618   0,616     3   Jejum   Lactente   3   10   99   106   98   61   68   59   0,619   0,609   0,624   0,617     4   Alimentado   Lactente   1   1   58   60   50   19   21   17   0,753   0,741   0,746   0,747     4   Alimentado   Lactente   1   2   86   89   84   37   44   35   0,699   0,699   0,690   0,706   0,691     5   Lactente   1   10   98   107   105   34   38   30   0,742   0,738   0,778   0,753     5   Alimentado   Lactente   2   1   27   28   27   69   70   64   0,281   0,286   0,297   0,288     5   Alimentado   Lactente   2   2   88   91   90   25   35   31   0,779   0,722   0,744   0,748     5   Alimentado   Lactente   2   10   2   10   5   39   41   36   0,049   0,196   0,122   0,122     6   Alimentado   Lactente   3   1   25   25   22   41   47   40   0,379   0,347   0,355   0,360     6   Alimentado   Lactente   3   2   71   79   74   87   89   84   0,449   0,470   0,468   0,463     6   Alimentado   Lactente   3   2   71   79   74   87   89   84   0,449   0,470   0,468   0,463     7   Jejum   Adulto   1   1   67   70   68   81   84   83   0,453   0,455   0,450   0,453     7   Jejum   Adulto   1   10   38   40   32   22   26   18   84   83   0,453   0,455   0,450   0,453     8   Jejum   Adulto   1   10   38   40   32   22   26   18   84   83   0,330   0,101   0,102   0,079     9   Jejum   Adulto   1   10   38   40   32   22   26   18   84   81   0,487   0,484   0,518   0,496     9   Jejum   Adulto   1   10   3   11   10   96   98   88   0,303   0,101   0,102   0,079     9   Jejum   Adulto   1   1   13   19   16   3   12   8   0,813   0,813   0,813   0,667   0,697     10   Alimentado   Adulto   1   1   13   19   16   3   12   8   0,813   0,813   0,813   0,667   0,697     10   Alimentado   Adulto   1   10   98   104   95   94   95   87   0,510   0,523   0,522   0,518     11   Alimentado   Adulto   2   2   59   68   64   79   79   69   0,428   0,463   0,481   0,455   0,479     11   Alimentado   Adulto   2   2   59   68	3				1										
4         Alimentado         Lactente         1         1         58         60         50         19         21         17         0.753         0,741         0,746         0,747           4         Alimentado         Lactente         1         2         86         89         84         37         44         35         0,699         0,669         0,768         0,778         0,753           4         Alimentado         Lactente         1         10         98         107         105         34         38         30         0,742         0,738         0,778         0,753           5         Alimentado         Lactente         2         1         27         28         27         69         70         64         0.281         0.286         0.297         0.288           5         Alimentado         Lactente         2         2         88         91         90         25         35         31         0.779         0,722         0,744         0,748           1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1<		•	Lactente	3	2	59	65	63	35	43	39				
4         Alimentado         Lactente         1         1         58         60         50         19         21         17         0.753         0,741         0,746         0,747           4         Alimentado         Lactente         1         2         86         89         84         37         44         35         0,699         0,669         0,768         0,778         0,753           4         Alimentado         Lactente         1         10         98         107         105         34         38         30         0,742         0,738         0,778         0,753           5         Alimentado         Lactente         2         1         27         28         27         69         70         64         0.281         0.286         0.297         0.288           5         Alimentado         Lactente         2         2         88         91         90         25         35         31         0.779         0,722         0,744         0,748           1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1<	:	1		:	:	:		:		:			:		:
4         Alimentado         Lactente         1         1         58         60         50         19         21         17         0.753         0,741         0,746         0,747           4         Alimentado         Lactente         1         2         86         89         84         37         44         35         0,699         0,669         0,768         0,778         0,753           4         Alimentado         Lactente         1         10         98         107         105         34         38         30         0,742         0,738         0,778         0,753           5         Alimentado         Lactente         2         1         27         28         27         69         70         64         0.281         0.286         0.297         0.288           5         Alimentado         Lactente         2         2         88         91         90         25         35         31         0.779         0,722         0,744         0,748           1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1         1<	3	Jeium	Lactente	3	10	99	106	98	61	68	59	0.619	0.609	0.624	0.617
4 Alimentado Lactente 1 2 86 89 84 37 44 35 0,699 0,669 0,706 0,691  4 Alimentado Lactente 1 10 98 107 105 34 38 30 0,742 0,738 0,778 0,753  5 Alimentado Lactente 2 1 27 28 27 69 70 64 0,281 0,286 0,297 0,288  5 Alimentado Lactente 2 2 88 91 90 25 35 31 0,779 0,722 0,744 0,748  5 Alimentado Lactente 2 1 10 2 10 5 39 41 36 0,049 0,196 0,122 0,122  6 Alimentado Lactente 3 1 25 25 22 41 47 40 0,379 0,347 0,355 0,360  6 Alimentado Lactente 3 1 25 25 22 41 47 40 0,379 0,347 0,355 0,360  6 Alimentado Lactente 3 2 71 79 74 87 89 84 0,449 0,470 0,468 0,463  1							60							<i>– . – . – . –</i>	
4 Alimentado Lactente	4			1								,	,	,	
5         Alimentado         Lactente         2         1         27         28         27         69         70         64         0,281         0,226         0,297         0,288           5         Alimentado         Lactente         2         2         88         91         90         25         35         31         0,779         0,722         0,744         0,748           5         Alimentado         Lactente         2         10         2         10         5         39         41         36         0,049         0,196         0,122         0,122           6         Alimentado         Lactente         3         1         25         25         22         41         47         40         0,379         0,347         0,355         0,360           6         Alimentado         Lactente         3         10         68         8         62         50         51         51         0,576         0,571         0,549         0,565           7         Jejum         Adulto         1         2         7         9         0         70         78         70         0,091         0,103         0,000         0,665	•		:	:	:	:	:	:		:				· •	:
5         Alimentado         Lactente         2         1         27         28         27         69         70         64         0,281         0,226         0,297         0,288           5         Alimentado         Lactente         2         2         88         91         90         25         35         31         0,779         0,722         0,744         0,748           5         Alimentado         Lactente         2         10         2         10         5         39         41         36         0,049         0,196         0,122         0,122           6         Alimentado         Lactente         3         1         25         25         22         41         47         40         0,379         0,347         0,355         0,360           6         Alimentado         Lactente         3         10         68         8         62         50         51         51         0,576         0,571         0,549         0,565           7         Jejum         Adulto         1         2         7         9         0         70         78         70         0,091         0,103         0,000         0,665	4	Alimentado	Lactente	1	10	98	107	105	34	38	30	0.742	0.738	0.778	0.753
5         Alimentado         Lactente         2         2         88         91         90         25         35         31         0,779         0,722         0,744         0,748           5         Alimentado         Lactente         2         10         2         10         5         39         41         36         0,049         0,196         0,122         0,122           6         Alimentado         Lactente         3         1         25         25         22         41         47         40         0,379         0,347         0,355         0,360           6         Alimentado         Lactente         3         1         25         25         22         41         47         40         0,379         0,347         0,355         0,360           6         Alimentado         Lactente         3         10         68         68         62         50         51         51         0,576         0,571         0,549         0,665           7         Jejum         Adulto         1         1         67         70         68         81         84         83         0,453         0,455         0,450         0,626         <				<u>:</u>	<u>-</u>	27									
5. Alimentado Laclente         2         10         2         10         5         39         41         36         0,049         0,196         0,122         0,123         0,048         0,347         0,347         0,355         0,360         0         6         Alimentado Lactente         3         1         25         25         22         41         47         40         0,379         0,347         0,345         0,463           6 Alimentado Lactente         3         10         68         68         62         50         51         51         0,576         0,571         0,549         0,565           7 Jejum Adulto         1         1         67         70         68         81         84         83         0,453         0,455         0,450         0,453           7 Jejum Adulto         1         10         38         40         32															
6 Alimentado Lactente 3 1 25 25 22 41 47 47 40 0,379 0,347 0,355 0,360 6 Alimentado Lactente 3 2 71 79 74 87 89 84 0,449 0,470 0,468 0,463	÷	:	:	:	:	:	:	:		:	:	:	•,:	•,	:
6 Alimentado Lactente 3 1 25 25 22 41 47 47 40 0,379 0,347 0,355 0,360 6 Alimentado Lactente 3 2 71 79 74 87 89 84 0,449 0,470 0,468 0,463	5	Alimentado	Lactente	•	10	•	10	5	30	//1	36	0.040	0.106	0.122	0.122
6 Alimentado Lactente 3 2 71 79 74 87 89 84 0,449 0,470 0,468 0,463					1	25	25	22	Δ1	47	40				
Second Column   Second Colum															
7 Jejum Adulto 1 1 67 70 68 81 84 83 0,453 0,455 0,450 0,453 7 Jejum Adulto 1 2 7 9 0 70 78 70 0,091 0,103 0,000 0,065 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	:	:	:	:	:	':'	:	' <del>.</del> "	:	:	:	0,443	0,470	0,400	0,400
7 Jejum Adulto 1 1 67 70 68 81 84 83 0,453 0,455 0,450 0,453 7 Jejum Adulto 1 2 7 9 0 70 78 70 0,091 0,103 0,000 0,065 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1		Alimantada	Lastanta	•						E1		0.576	0.571	0.540	0.565
7 Jejum Adulto 1 2 7 9 0 70 78 70 0,091 0,103 0,000 0,065															
Typer         Jejum         Adulto         1         10         38         40         32         22         26         18         0,633         0,606         0,640         0,626           8         Jejum         Adulto         2         1         37         45         44         39         48         41         0,487         0,484         0,518         0,496           8         Jejum         Adulto         2         13         22         18         51         59         55         0,203         0,272         0,247         0,240           8         Jejum         Adulto         2         10         3         11         10         96         98         88         0,030         0,101         0,102         0,078           9         Jejum         Adulto         3         1         83         88         79         69         69         63         0,546         0,561         0,556         0,554           9         Jejum         Adulto         3         2         18         21         19         49         51         46         0,269         0,292         0,292         0,292         0,284           10 </td <td>7</td> <td>•</td> <td></td> <td>1</td> <td></td>	7	•		1											
8         Jejum         Adulto         2         2         13         22         18         51         59         55         0,203         0,272         0,247         0,240           :         <	:	Jejuin :	Addito	:	:	:	:	:	, o		, o	0,091	0,103	0,000	0,065
8         Jejum         Adulto         2         2         13         22         18         51         59         55         0,203         0,272         0,247         0,240           :         <	:	i .	A -lla -	:		:	:	:	:		:	0.000	0.000	0.040	
8         Jejum         Adulto         2         2         13         22         18         51         59         55         0,203         0,272         0,247         0,240           :         <	/				10	38	40	32	22	26	18				
8 Jejum Adulto 2 10 3 11 10 96 98 88 0,030 0,101 0,102 0,078 9 Jejum Adulto 3 1 83 88 79 69 69 63 0,546 0,561 0,556 0,554 9 Jejum Adulto 3 2 18 21 19 49 51 46 0,269 0,292 0,292 0,292 0,284 : : : : : : : : : : : : : : : : : : :															,
9 Jejum Adulto 3 2 18 21 19 49 51 46 0,269 0,292 0,292 0,292 0,284 : : : : : : : : : : : : : : : : : : :	•	Jejum	Addito	:	:	:		10	51	59	55	0,203	0,272	0,247	0,240
9 Jejum Adulto 3 2 18 21 19 49 51 46 0,269 0,292 0,292 0,292 0,284 : : : : : : : : : : : : : : : : : : :	:	. :		•		:									. :
9 Jejum Adulto 3 2 18 21 19 49 51 46 0,269 0,292 0,292 0,292 0,284 : : : : : : : : : : : : : : : : : : :	8			2			11	10	96						
9         Jejum         Adulto         3         10         37         43         42         61         69         63         0,378         0,384         0,400         0,387           10         Alimentado         Adulto         1         1         13         19         16         3         12         8         0,813         0,613         0,667         0,697           10         Alimentado         Adulto         1         2         63         67         65         94         99         95         0,401         0,404         0,406         0,404           10         Alimentado         Adulto         1         10         98         104         95         94         95         87         0,510         0,523         0,522         0,518           11         Alimentado         Adulto         2         1         53         54         45         55         56         54         0,491         0,491         0,455         0,479           11         Alimentado         Adulto         2         2         59         68         64         79         79         69         0,428         0,463         0,481         0,457		•													
10         Alimentado         Adulto         1         13         19         16         3         12         8         0,813         0,613         0,667         0,697           10         Alimentado         Adulto         1         2         63         67         65         94         99         95         0,401         0,404         0,406         0,404           :	9	Jejum	Adulto	3	2	18	21	19	49	51	46	0,269	0,292	0,292	0,284
10         Alimentado         Adulto         1         13         19         16         3         12         8         0,813         0,613         0,667         0,697           10         Alimentado         Adulto         1         2         63         67         65         94         99         95         0,401         0,404         0,406         0,404           :	:	. :	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
10 Alimentado Adulto 1 2 63 67 65 94 99 95 0,401 0,404 0,406 0,404 : : : : : : : : : : : : : : : : : : :														<i></i> .	
i.     <				1								,	,	,	,
11 Alimentado       Adulto       2       2       59       68       64       79       79       69       0,428       0,463       0,481       0,457	10	Alimentado	Adulto	1	2	63	67	65	94	99	95	0,401	0,404	0,406	0,404
11 Alimentado       Adulto       2       2       59       68       64       79       79       69       0,428       0,463       0,481       0,457	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:
11 Alimentado       Adulto       2       2       59       68       64       79       79       69       0,428       0,463       0,481       0,457						98		95	94						
:     : <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>-</td> <td></td>					-										
: : : : : : : : : : : : : : : : : : :	11	Alimentado	Adulto	2	2	59	68	64	79	79	69	0,428	0,463	0,481	0,457
11 Alimentado Adulto 2 10 23 29 24 32 35 32 0.418 0.453 0.429 0.433	:	•	:	:	:	:	:	:	•	•	•	•	:	•	:
	11	Alimentado	Adulto	2	10	23	29	24	32	35	32	0,418	0,453	0,429	0,433
12 Alimentado Adulto 3 1 65 73 72 94 98 89 0,409 0,427 0,447 0,428	12	Alimentado		3			73	72	94	98	89				
12 Alimentado Adulto 3 2 40 47 45 85 91 81 0,320 0,341 0,357 0,339	12	Alimentado	Adulto	3	2	40	47	45	85	91	81	0,320	0,341	0,357	0,339
	:	i	:	:	:	:	:	:		•		•	:	•	:
12 Alimentado Adulto 3 10 23 24 22 91 101 99 0,202 0,192 0,182 0,192	12	Alimentado	Adulto	3	10	23	24	22	91	101	99	0,202	0,192	0,182	0,192

Obs.: **O1**, **O2** e **O3** referem-se às três observadoras. As variáveis que tem seus nomes iniciados por **Forte** ou **Fraca** indicam o número de células com a expressão respectiva da proteína TGFβ1, avaliada pelas observadoras. As variáveis iniciadas por **PorcForte** resumem as contagens citadas acima de cada observadora, calculando a porcentagem

de células com expressão forte. A variável **PorcMForte** é a média aritimética das porcentagens de células com expressão forte das três observadoras.

Primeiramente, sugerimos que seja feita uma análise descritiva como a obtida na Figura 1. Essa análise pode ser realizada no programa Minitab através dos comandos<sup>1</sup>:

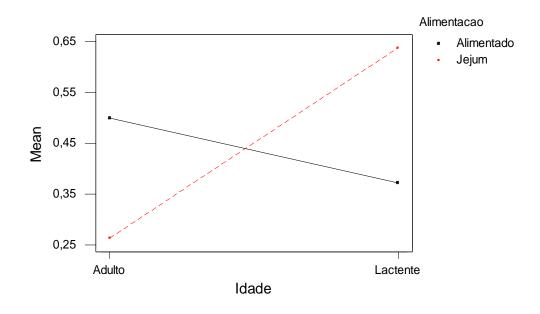
```
MTB > %Interact 'Alimentacao' 'Idade';

SUBC> Response 'PorcMForte';

SUBC> Title "Porcentagem média de células com expressão forte".
```

Figura 1: Gráfico de Médias

Porcentagem média de células com expressão forte



Se for obtido um gráfico como o da Figura 1, podemos dizer que a porcentagem média de células com expressão forte dos ratos alimentados é maior do que os em jejum, para os adultos, enquanto que para os lactentes, é menor. Quando a diferença na resposta dos ratos alimentados para os em jejum não é a mesma para os ratos adultos e os lactentes, diz-se que há interação entre os fatores alimentação e idade.

Um modelo adequado para a análise inferencial é o modelo de efeitos aleatórios (Crowder e Hand, 1990, Diggle et al., 1994 e Verbeke e Molenberghs, 2000), com um

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> No Minitab, para poder usar comandos é necessário que essa função esteja habilitada. Para verificar isso, basta ver se na janela *Session* está escrito "MTB > ". Se não estiver, siga o procedimento: clique na janela *Session*, no menu *Editor* e na opção *Enable Commands*.

fator aleatório inter indivíduo referente às glândulas e dois fatores fixos entre indivíduos: alimentação (jejum ou alimentado) e idade (lactente ou adulto). Essa análise pode ser realizada usando a função PROC MIXED do programa SAS com o programa<sup>2</sup>:

```
PROC MIXED DATA= TGFB1.mucosa;
    CLASS Id Alimentacao Idade;
    MODEL PorcMForte = Alimentacao Idade Alimentacao*Idade;
    ID Id;
    RANDOM int / TYPE= VC SUBJECT= Id;
RUN;
```

A parte final do resultado da execução desse programa será da seguinte forma:

```
        Type 3 Tests of Fixed Effects

        Num
        Den

        Effect
        DF
        DF
        F Value
        Pr > F

        Alimentacao
        1
        108
        0.89
        0.3476

        Idade
        1
        108
        59.97
        <.0001</td>

        Alimentacao*Idade
        1
        108
        247.43
        0.0002
```

Primeiramente, deve-se verificar se a interação (Alimentacao\*Idade) é significativa. No exemplo, não há evidências de que sejam iguais (p=0,0002), pois o nível descritivo é menor que o nível de significância 0,05. Se a interação não for significativa, deve-se reajustar o modelo sem ela e então avalia-se os efeitos principais (Alimentacao e Idade), de maneira análoga.

Se a interação for significativa, deve-se rodar novamente o programa, adicionando a linha "LSMEANS Alimentacao\*Idade / ADJUST= SCHEFFE;" antes da última linha do programa ilustrado anteriormente. Esse comando adicional, realizará comparações múltiplas pelo método de Scheffé (ver Neter et al., 1996).

O armazenamento e as análises descritiva e inferencial das outras variáveis podem ser realizadas da mesma maneira descrita.

## Referências bibliográficas:

2 .

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Esse programa supõe que os dados tenham sidos importados do Excel para o SAS e estejam alocados na planilha

CROWDER, M. J. e HAND, H. (1990). **Analysis of Repeated Measures**. London: Chapman & Hall. 257p.

DIGGLE, P., LIANG, K. e ZEGER, S. L. (1994). **Analysis of Longitudinal Data**. New York: Oxford. 253p.

NETER, J., KUTNER, M. H., NACHTSHEIN, C. J. e WASSERMAN, W. (1996). **Applied Linear Statistical Models**. Chicago: Irwin. 1408p.

Verbeke, G. e Molenberghs, G. (2000). **Linear Mixed Models for Longitudinal Data**. New York: Springer. 568p.