**Sobrevida**

**Materiais e métodos**

A sobrevivência dos camundongos SOD1 submetidos aos tratamentos veículo, MSCs e Pericitosfoi inicialmente avaliada considerando-se o estimador Kaplan-Meier1. Comparações das funções de sobrevivência para os grupos de interesse foram realizadas com base no teste log-rank1. Com a finalidade de avaliar o comportamento conjunto de sexo e tratamento na sobrevivência, considerou-se o modelo de regressão de riscos proporcionais de Cox2. A interpretação resultante do modelo ajustado foi feita com base no risco relativo, acompanhado do correspondente intervalo de confiança com 95% de coeficiente de confiança. Todos os testes baseados no modelo de Cox foram realizados através da estatística da razão de verossimilhanças1,considerando-se um nível de significância igual a 5%.

**Resultados e Discussão**

A análise preliminar da sobrevivência dos camundongos SOD1, baseada nas estimativas de Kaplan-Meier é apresentada na figura 10. Nota-se que camundongos machos apresentam menor sobrevivência quando comparados às fêmeas (figura 10A). Este achado está em consonância com outros trabalhos3,4 que apresentam diferenças na progressão da doença em camundongos SOD1 de acordo com o sexo, tanto em relação a parâmetros eletrofisiológicos e motores como para a sobrevida. Considerando-se apenas os três tratamentos, sem levar em conta o sexo dos animais, não são evidenciadas diferenças importantes entre as curvas (figura 10B). Entretanto, existem indícios que as curvas de sobrevivência dos tratamentos apresentam comportamentos distintos para machos e para fêmeas. A figura 10 apresenta as estimativas de Kaplan-Meier para cada tratamento considerando-se camundongos fêmeas (figura 10C) e machos (figura 10D). O teste log-rank para fêmeas sugere que não há efeito de tratamento para esse grupo (valor-p=0,76) enquanto que, para machos, a diferença entre as curvas de sobrevivência é estatisticamente significante (valor-p=0,04).

|  |  |
| --- | --- |
| survsexo.wmf | survtrat.wmf |
| (A) | (B) |
| survFemeasxtrat.wmf | survMachosxtrat.wmf |
| (C) | (D) |

**Figura 10:**Estimativas Kaplan-Meier da função de sobrevivência e teste log-rank. (A) Sobrevivência estimada para cada sexo. (B) Sobrevivência estimada para cada tratamento. (C) Influência do tratamento na sobrevida de fêmeas. (B) Influência do tratamento na sobrevida de machos.

A fim de avaliar a influência e magnitude das diferenças observadas na análise inicial, realizou-se uma análise estatística baseada no modelo de riscos proporcionais de Cox, considerando como fatores prognósticos sexo, tratamento e a interessão entre os dois. O efeito de interação pode ser decomposto em dois, sendo o primeiro relacionado a um possível efeito do tratamento MSCs com relação ao veículo para machos, que se mostrou estatisticamente não significant (valor-p=0,48) e outro, associado ao efeito do tratamento Pericitos em relação a veículo, que se mostrou estatisticamente significante (valor-p=0,02). Para melhor entender como se dá essa interação, um novo modelo foi ajustado considerando-se seis grupos formados pela combinação dos níveis de sexo (macho e fêmea) e tratamento (veículo, MSCs e Pericitos). O grupo de referência foi definido como sendo o de camundongos fêmeas submetidas ao tratamento veículo. Através dessa modelagem, pode-se observar que não existem diferenças de tratamento para fêmeas (valor-p=0,82). Para machos, observou-se que não há diferenças entre os tratamentos veículo e MSCs (valor-p=0,36), porém quando o tratamento Pericitos é comparado com veículo, obteve-se que existe diferença estatisticamente significativa (valor-p=0,01). Notou-se ainda que, ao se considerar o grupo de fêmeas (combinado-se os três tratamentos), ocorre diferença significativa com o grupo de machos recebendo o veículo (valor-p<0,01) e machos recebendo MSCs (valor-p=0,01); entretanto, machos recebendo Pericitos mostraram risco de morte semelhante às fêmeas (valor-p=0,50).

Portanto, conclui-se que machos recebendo Pericitos têm sobrevida comparável a fêmeas (cuja sobrevivência não difere para os três tratamentos), ao passo que machos recebendo veículo e MSCs apresentam mesma sobrevida, inferior à de fêmeas conjuntamente com o grupo de machos sob Pericitos. Um modelo de regressão de Cox final foi então ajustado, considerando dois grupos: um formado por fêmeas (independente do tratamento recebido) e machos recebendo Pericitos, e outro grupo formado por machos recebendo veículo ou MSCs. Esses dois grupos têm risco de morte diferentes (valor-p < 0,01). A ordem de magnitude dessa diferença foi dimensionada através do risco relativo, comparando o grupo de machos (sob tratamentos veículo e MSCs) com o grupo formado pela combinação de fêmeas (qualquer tratamento) e machos recebendo Pericitos, cujo valor estimado é igual a 3,28 [IC(95%)=(1,81; 5,92)]; isto é, conclui-se que o risco de morte para camundongos SOD1 machos sob tratamento HBSS ou veículo é aproximadamente 3 vezes o risco de morte para fêmeas (qualquer tratamento) ou machos recebendo Pericitos. Estimativas das curvas de sobrevivência para esses dois grupos, estimadas através do modelo de regressão de Cox, são apresentadas na Figura 11.

SurvCox.wmf

**Figura 11:**Estimativas das funções de sobrevivência a partir do modelo de regressão de Cox final ajustado

**Referências**

1. Cox, D. R. Regression Models and Life Tables. *J. R. Stat. Soc. Ser. B***34,** 187–220 (1972).

2. Collett, D. *Modelling Survival Data in Medical Research*. (2003).

3. Alves, C. J. *et al.* Early motor and electrophysiological changes in transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis and gender differences on clinical outcome. *Brain Res.***1394,** 90–104 (2011).

4. Heiman-Patterson, T. D. *et al.* Background and gender effects on survival in the TgN(SOD1-G93A)1Gur mouse model of ALS. *J. Neurol. Sci.***236,** 1–7 (2005).