**Sobrevida**

**Materiais e métodos**

A sobrevivência dos camundongos SOD1 submetidos aos tratamentos veículo, MSCs e Pericitos foi inicialmente avaliada considerando-se o estimador Kaplan-Meier1. Comparações das funções de sobrevivência para os grupos de interesse foram realizadas através do 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, procedendo-se, inicialmente, a uma avaliação de interação (verificação se o comportamento dos tratamentos era diferente para machos e fêmeas). Com base nessa modelagem multivariada, novos grupos foram formados e utilizados para o ajuste de um modelo final que foi utilizado para o cálculo de riscos relativos de interesse, acompanhados de intervalos 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 e as conclusões foram tomadas 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, evidenciou que as curvas de sobrevivência dos três 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 10A) e machos (Figura 10B). 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). Vale ressaltar que a diferença na progressão da doença em camundongos SOD1 segundo sexo já foi relatada em outros trabalhos, tanto em parâmetros eletrofisiológicos e motores bem como na sobrevida, sendo que machos morrem em média mais cedo do que fêmeas 3,4.

survFemeasxtrat.wmfsurvMachosxtrat.wmf

**Figura 10:** Estimativas Kaplan-Meier da função de sobrevivência e teste log-rank. (A) Influência do tratamento na sobrevida das fêmeas. (B) Influência do tratamento na sobrevida dos 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. Observou-se que o efeito de interação é estatisticamente significativo (valor-p=0,02); portanto, 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 sob qualquer tratamento, ao passo que machos recebendo veículo e MSCs apresentam mesma sobrevida, inferior à de fêmeas sob qualquer tratamento e 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 e machos recebendo 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).