



**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO EM GENÉTICA**

Valéria Bernadete Leite Quixabeira

**Análise cienciométrica em estudos genéticos com o uso da citometria de
fluxo: importância e tendências nos últimos 16 anos**

GOIÂNIA, GO - BRASIL

2009

Valéria Bernadete Leite Quixabeira

**Análise cienciométrica em estudos genéticos com o uso da citometria de
fluxo: importância e tendências nos últimos 16 anos**

Dissertação apresentada ao Mestrado de
Genética da Universidade Católica de Goiás,
como requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Genética.

Orientadora: Dra. Flávia Melo Rodrigues

Co-orientador: Msc. João Carlos Nabout

GOIÂNIA, GO - BRASIL

2009

Dedico este trabalho a Deus e a minha família, em especial para minha querida mãe Nilda, avó Helena, meu esposo Wilson e meus filhos Caroline e Marcelo, pelo apoio de todas as horas.

Agradecimentos

A Deus (Pai, Filho e Espírito Santo), pela oportunidade a mim concedida para realizar este projeto, que sempre foi um sonho.

À minha família pela torcida, orações, paciência e apoio incondicional.

À Prof^a. Flávia pela sua orientação e constante empenho ao me auxiliar em todas as etapas.

Ao Prof. João Carlos Nabout por sua colaboração indispensável em todas as etapas deste trabalho.

Ao laboratório Atalaia, em especial ao Dr. Nelcivone Soares de Melo, pela confiança depositada em mim, por proporcionar condições de conhecer a citometria de fluxo e apoio aos meus estudos.

Aos colegas e amigos, Dra. Neusa Batista de Melo e Ítalo Magalhães pelos ensinamentos iniciais em citometria, colaborando para o meu aprendizado técnico diário, sem o qual o objetivo deste trabalho não seria tão bem compreendido. Este período, marcante em minha vida, proporcionou a consolidação da minha formação profissional na área da citometria.

À aluna de graduação em Biologia, Renata Alves pelo auxílio na coleta de dados e organização das planilhas.

Às colegas e amigas Patrícia dos Santos e Izabella Ribeiro pelo apoio de todas as horas.

A Caroline Cabral pela colaboração na formatação das figuras deste trabalho.

Ao meu sobrinho Pedro Henrique, por me mostrar o verdadeiro sentido da palavra esperança.

Ao meu pai que mesmo em gotas terapêuticas de sua presença me ensinou que o tempo supera os obstáculos da vida.

“Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo propósito debaixo do céu”:

Há tempo de nascer e de morrer; tempo de plantar e colher o que se plantou;

Tempo de matar, de curar, de derrubar e de edificar;

Tempo de chorar, de rir e de dançar;

Tempo de espalhar pedras e ajuntar pedras;

Tempo de abraçar e tempo de afastar;

Tempo de buscar e tempo de perder;

Tempo de rasgar e tempo de coser;

Tempo de calar e tempo de falar;

Tempo de amar e tempo de odiar;

Tempo de guerra e tempo de PAZ.”

Eclesiastes

Resumo

A citometria de fluxo avalia as propriedades celulares, na medida em que as células se movem em uma solução isoeletrolítica, através de um conjunto de canais/filtros fotomultiplicadores (PMTs) de fluorescência. Devido as suas amplas aplicações, tanto em laboratórios de pesquisa quanto nos laboratórios clínicos, tornou-se importante avaliar, por meio de análise quantitativa, o desenvolvimento das aplicações e inovações desta técnica, bem como avaliar sua contribuição nas diversas áreas da genética. Desde a década de 90 foram introduzidas metodologias que permitem avaliar a produção científica em uma determinada área, como as análises cienciométricas. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar as tendências e perspectivas do desenvolvimento no campo da genética com o uso da citometria de fluxo nos anos de 1991 a 2007 por meio de análise cienciométrica. Foi realizado um levantamento bibliográfico no sítio *Thomson ISI*, utilizando as palavras-chave *flow* cytometr* and genetic* or genotyp**, (o uso do asterisco permite que a base busque tanto palavras no singular, quanto no plural) nos anos referidos acima, por conterem o resumo dos artigos. Foram realizadas diferentes abordagens de avaliação sobre os artigos: tipo de pesquisa (experimental ou revisão), países que publicaram sobre o tema, diversidade e fator de impacto das revistas, número de autores por artigos, tipos de organismos estudados e a tendência temporal, material de estudo escolhido para as pesquisas por trabalhos e por organismos. Como resultado, constatou-se um aumento no número de publicações em genética com o uso da citometria de fluxo, muitos dos quais desenvolvidos nos EUA, publicados em periódicos de circulação internacional e apresentando elevado índice de citação, diversidade de revistas e aumento de parcerias entre autores e instituições de pesquisa. Observou-se relevante interesse no estudo com humanos, seguido por aumento no número de trabalhos com plantas, bactérias e vírus. A maioria das pesquisas foi realizada com estudo de proteínas, seguidas por ácido desoxiribonucleico. Em humanos, a maioria dos artigos publicados foi na área de onco-hematologia, evidenciando o interesse de pesquisadores e instituições de pesquisa no desenvolvimento de novas armas contra o câncer e outras doenças que assolam a sociedade.

Palavras-chave: Citometria de Fluxo, Cienciométrica, Genética.

Abstract

Flow cytometry evaluates cell properties, in so far as cells move in an isoelectrolitic solution, through a group of photomultiplying canals/philters (PMT's) of fluorescence. The applications of flow cytometry are wide, in both research laboratories and clinical laboratories. Therefore, it is important to approach, by means of quantitative analysis, the development of the applications and innovations of this technique, as well as evaluating its contribution in several fields of genetics. For this proposal, there are methodologies which permit to evaluate the scientific production in a particular field, as scientometric analyses. The objective of this work was to evaluate the trends and prospects of development in the field of genetics with the use of flow cytometry from 1991 to 2007, by means of scientometric analysis. For this proposal, a bibliographical survey was conducted in the site "Thomson ISI", using the key-words "flow* cytometr* and genetics* or" genotype*", (the use of the asterisk permits the basis to search for words in the singular as well as in the plural) in the aforementioned years, due to the fact that they contain the summary of the articles. Different approaches of evaluation were conducted about the articles: type of research (experimental or review), countries which published about the issue, diversity and impact factor of journals, number of authors per articles, types of studied organisms and the temporal trend, study material chosen for the research through works and through organisms. As a result, it was noticed the growth in the number of publications in genetics with the use of flow cytometry, many of which developed in the USA, published in periodicals of international circulation and showing high rate of citation, diversity of journals and increase of partnerships between authors and research institutions. It was observed prominent interest in the study with humans, followed by rise in the number of works with plants, bacteria and viruses. Most of the research was conducted with the study of proteins, followed by desoxiribonucleic acid. However, in the articles published about humans, the majority was in the oncologic field, clearly showing the interest of researchers and research institutions in the development of new weapons against cancer and other diseases which devastate society.

Key words: Flow Cytometry, Scientometric, Genetic

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	11
2.	OBJETIVOS	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivos específicos	13
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1	Citometria de Fluxo	14
3.2	Cienciometria	20
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	23
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6.	CONCLUSÕES.....	43
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

SIGLA	SIGNIFICADO
CD	<i>Clusters designations</i>
CMF	Citometria de fluxo
C&T	Ciência e tecnologia
DNA	cido desoxiribonucleico
FI	Fator de impacto
FSC	<i>Forward scatter</i>
H'	ndice Shannon
ISI	<i>Institute for Scientific Information</i>
JCR	<i>Journal citation report</i>
<i>LASER</i>	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>
PI	Iodeto de propdeo
PMT(s)	Canais / filtros fotomultiplicadores
RNA	cido ribonucleico
RNAsi	cido ribonucleico de fita dupla
SSC	<i>Side scatter</i>
SCI	<i>Science citation index</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Sistema de focagem hidrodinâmica	15
Figura 2.	Diagrama esquemático de um citômetro de fluxo	16
Figura 3.	Exemplos de gráficos e aplicações da metodologia	17
Figura 4.	Nº de artigos publicados nos 16 anos em genética com CMF	26
Figura 5.	Nº de artigos publicados por países	28
Figura 6.	Revistas com 20 ou mais artigos publicados sobre o tema	29
Figura 7.	Fator de impacto (FI)	31
Figura 8.	Shannon H' – Índice de diversidade das revistas	32
Figura 9.	Nomes de 30 autores principais que possuem a partir de sete publicações	34
Figura 10.	Nº de autores por artigos nos anos pesquisados	35
Figura 11 a.	Tipos de organismos estudados por artigos publicados	37
Figura 11 b.	Tipos de organismos estudados por ano	37
Figura 12.	Tipos de estudos por artigos, quanto a análise do conteúdo genético	38
Figura 13.	Tipos de estudos por organismos por nº de artigos	39
Figura 14.	Tipos de doenças estudadas em humanos por artigos	41
Figura 15.	Tipos de câncer pesquisados por artigos	42

Q8a Quixabeira, Valéria Bernadete Leite.
Análise cienciométrica em estudos genéticos com o uso da
citometria de fluxo : importância e tendências nos últimos 16
anos / Valéria Bernadete Leite Quixabeira. – 2009.

49 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Católica de Goiás,
Departamento de Biologia, 2009.

“Orientadora: Prof^a. Dr^a. Flávia Melo Rodrigues”.

“Co-orientador: Prof. Msc. João Carlos Nabout”.

1. Citometria de fluxo – cienciométrica. 2. Genética –
citometria de fluxo – cienciométrica – periódicos científicos –
citações – 1991-2007. I. Título.

CDU: 576.3:01:311(043.3)

01:311:576.3

575

1 Introdução

Desde seu início, a genética foi um campo fortemente influenciado pelo desenvolvimento de novos métodos experimentais. Nas décadas de 50 e 60, havia procedimentos relativamente simples, mas confiáveis, para separar moléculas complexas por diferentes formas de eletroforeses, de métodos para sintetizar DNA *in vitro*, seguidos pelo desenvolvimento da cultura de células, bem sucedida em bactérias e vírus, que foi também aplicada em organismos superiores [EBERHARD, 2004]. Neste mesmo período, foi descoberta a metodologia da citometria de fluxo, que, como a genética, apresentou relevantes avanços de consideráveis aplicações na área das ciências biológicas.

A citometria de fluxo (CMF) foi originalmente desenvolvida no fim dos anos 50, para a contagem e análise das células sanguíneas. Esta metodologia apresentou um crescimento nos últimos anos, impulsionada pelas áreas da imunologia e da hematologia [CÔRTE-REAL & AL., 2002]. Com o natural aperfeiçoamento dos contadores celulares (citômetros), com a descoberta dos anticorpos monoclonais em 1975 [KÖHLER & MILSTEIN, 1975] e de novos fluorocromos, sua utilização generalizou-se para outras áreas e em diferentes células LOUREIRO & SANTOS, 2004].

As aplicações da citometria de fluxo são amplas, tanto em laboratórios de pesquisa quanto nos laboratórios clínicos. A técnica oferece objetividade, sensibilidade, rapidez e precisão nas análises [NOLAN & MANDY, 2006; QUIXABEIRA & SADDI, 2008]. É utilizada na identificação de linhagens de células, na monitorização imune e tratamento de infecção HIV, monitorização de terapia em hematopatologia (pesquisa de doença residual), determinação do conteúdo de DNA celular (DNA ploidia) e atividade proliferativa (fases do ciclo celular), na biologia molecular, detecção de células fetais, para isolar cromossomas humanos com objetivo de construir bibliotecas genéticas e cariotipagem cromossômica [SHAPIRO, 1995; DWORZAK & AL., 2008; CARTER & MEYER 1990; COSSARIZZA &

AL., 1997; BEDNER & AL, 1999; ENGELHARDT & AL., 2002; DEAN, 2002; GRIGORYAN & AL., 2007; JANOSSY & SHAPIRO, 2008; STEINBRICH-ZOLLER & AL, 2008].

O termo cienciometria surgido na antiga União Soviética, tornou-se conhecido no final da década de 1970, com uma publicação na revista “Sciencometrics”, na Hungria [VANTI, 2002]. De acordo com Nonato, a cienciometria foi definida por Price em 1969 como “as pesquisas quantitativas de todas as coisas que dizem respeito à ciência e, aos quais podem ser atribuídos números” [NONATO, 2003].

Com o desenvolvimento das aplicações e inovações da citometria de fluxo, tornou-se possível avaliar, por meio de análise cienciométrica, a sua contribuição na área da genética. Esta avaliação permitirá verificar o crescimento e tendências de estudos na área da genética, bem como indicar número de artigos em determinado período, países, tipos periódicos, autores e ainda inferir novos campos e organismos biológicos a serem explorados com o uso da metodologia.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Realizar uma abordagem cienciométrica da técnica de citometria de fluxo no período de 1991 a 2007, a fim de avaliar as tendências e perspectivas do desenvolvimento no campo da genética com o uso desta instrumentação.

2.2 Objetivos específicos

- Quantificar os trabalhos na área da genética que utilizaram a técnica citometria de fluxo;
- Verificar quais os principais países que publicaram sobre o assunto;
- Analisar o fator de impacto (FI) dos periódicos;
- Calcular o índice de Shannon (H') dos periódicos;
- Verificar a contribuição entre autores;
- Averiguar a tendência temporal dos estudos genéticos correlacionados com a citometria de fluxo e organismos biológicos estudados;
- Avaliar qual estrutura celular foi escolhida para estudo (proteína, DNA ou RNA), correlacionando-os com os organismos biológicos;
- Em humanos, avaliar as principais áreas estudadas.

3 Revisão Bibliográfica

3.1 Citometria de Fluxo

As consequências estruturais e funcionais da atividade do material genético em todos os níveis de organização, desde a célula até o organismo, são estudadas com uso de várias ferramentas tais como a biologia molecular, a citogenética, a citometria de fluxo dentre outras. A citometria de fluxo é uma técnica que permite a medida de características físicas e/ou químicas de células ou partículas biológicas, que podem ser marcadas com fluorocromos. É um processo no qual as medidas são feitas em um meio líquido, onde as células fluem uma a uma no sistema [SHAPIRO, 1995], a uma velocidade de 10^5 células por segundo [HARRIS & AL., 1999].

A suspensão líquida para análise é introduzida no centro da câmara de fluxo, que se encontra preenchida por um fluido envolvente *sheath fluid*, com uma velocidade muito superior a da suspensão líquida a ser analisada. Por meio de um fenômeno físico, designado por focagem hidrodinâmica, as partículas são forçadas a moverem em fluido laminar, uma a uma, no centro do fluxo. A figura 1 apresenta um esquema demonstrativo do sistema de focagem hidrodinâmica [CARTER & MEYER, 1990; DEAN, 2002; LOUREIRO & SANTOS, 2004].

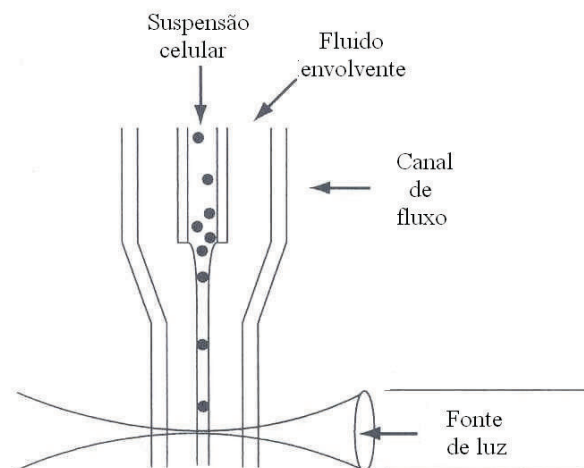


Figura 1. Sistema de focagem hidrodinâmica. A amostra é envolvida por um fluido que confina as células no centro do canal de fluxo, onde o laser incide sobre a suspensão líquida. Modificado de Dean, N.P. (2002).

Quando as células da suspensão líquida, marcadas ou não com fluorocromos, são interceptadas pelo feixe de luz constante (*laser*), ocorre um processo de dispersão fotônica e emissão de fluorescência [CÔRTE-REAL & AL., 2002; DEAN, 2002; LOUREIRO & SANTOS, 2004].

As lentes colocadas próximas desta zona de interceptação (*célula-laser*) coletam a luz dispersa e enviam-na para os filtros fotomultiplicadores (PMTs), que amplificam e convertem os sinais luminosos em pulsos elétricos, passando-os para forma digital (transformação analógico-digital) em escala linear ou logarítmica. Estes sinais são enviados para o computador, que elabora os gráficos (citogramas em dot plot ou histogramas), com o uso de programas computacionais específicos [CARTER 1990; ORMEROD, 1990; ORFAO & AL., 1995; DEAN, 2002].

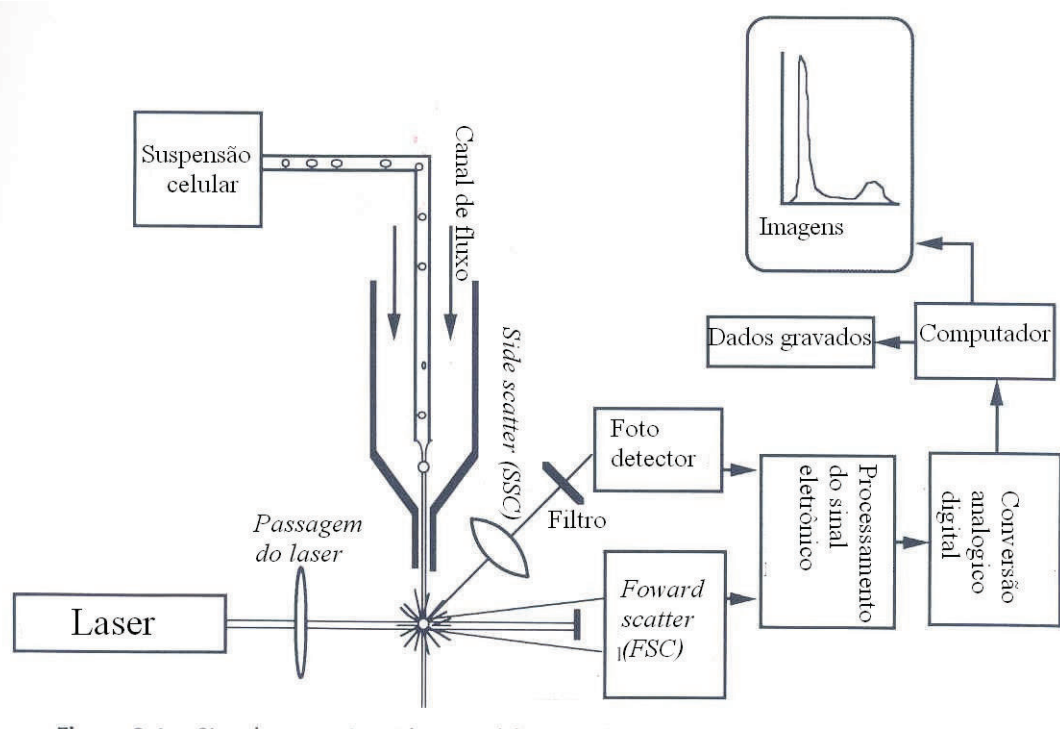
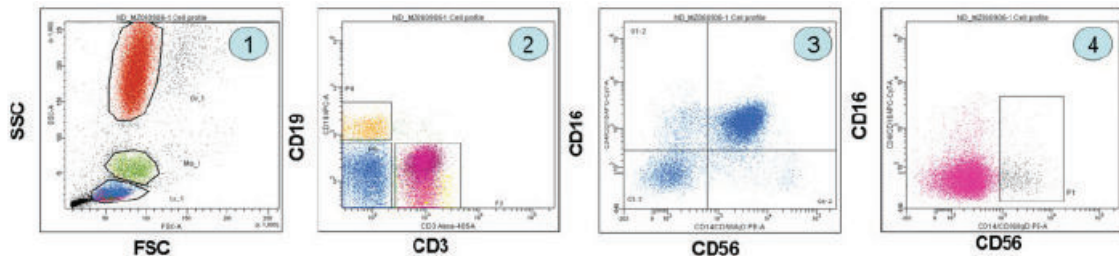


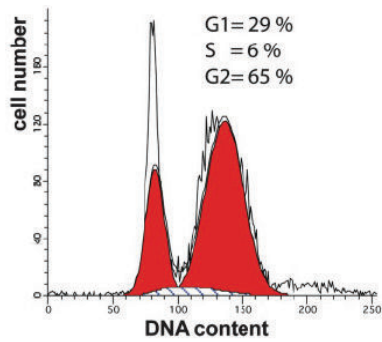
Figura 2. Diagrama esquemático do citômetro de fluxo. Modificado de Coon & Weinstein (1991).

Os parâmetros celulares avaliados pelo método podem ser divididos em dois principais grupos: i) intrínsecos, FSC-*Forward Scatter* que reflete o tamanho celular e SSC- *Side Scatter* a complexidade interna e ii) extrínsecos associados à presença de um ou mais fluorocromos fixados na membrana ou dentro das células. A figura 03 exemplifica diferentes tipos de gráficos e aplicações da citometria de fluxo.

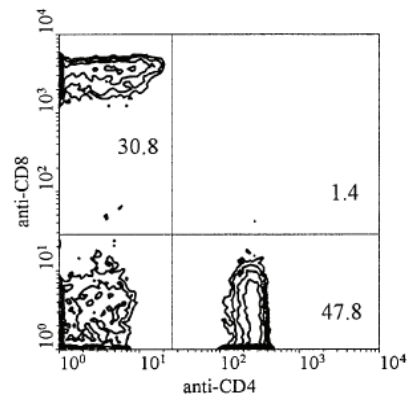
A.



B.



C.



D.

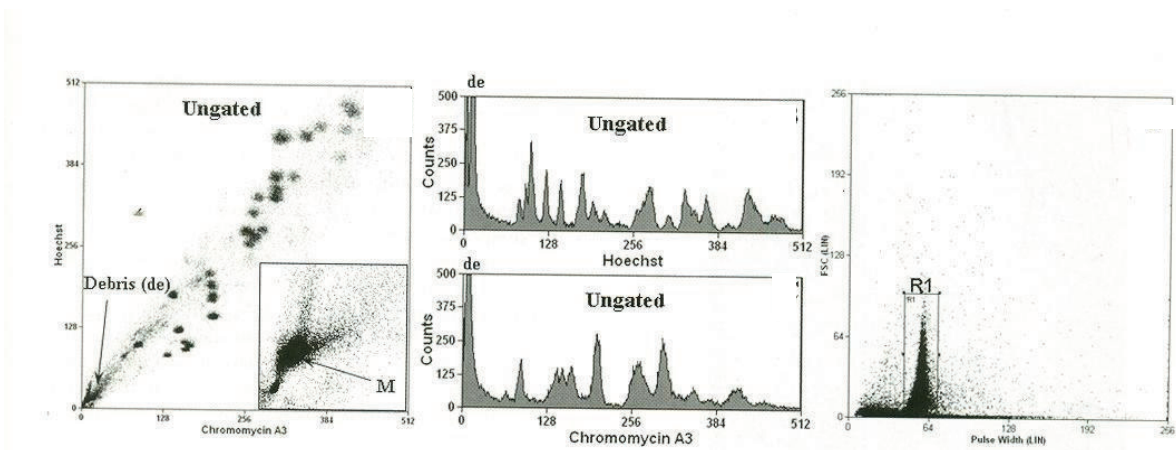


Figura 3. A. CD3, células Natural killer CD16,CD56 [STEINBRICH-ZÖLLNER & AL., 2008]. B. N° de células e conteúdo de DNA em diferentes etapas do ciclo celular [MARTIN & AL., 2005]. C. Populações de linfócitos CD4/CD8 [COSSARIZZA, 1997]. D. Flow análise e *sorting* de microcromossomos em fibroblastos humanos [BEE & AL., 2007].

Os fluorocromos usados na marcação celular possuem, de forma distinta, um padrão espectral específico de absorção e de emissão de luz. Podem ser utilizados de duas formas: (1) ligação covalente e não covalente do fluorocromo às moléculas que se unem especificamente a componentes celulares, e (2) fluorocromos que variam suas características em função do microambiente que os cerca. Os covalentes são usados para marcar proteínas, lipídeos ou outras moléculas biológicas. São empregados cromóforos como grupos fluoresceína-isotiocianato, clorotrizinil, ésteres de succinimida, rodamina, cianinas, ficoeritrina, etc. Avanços recentes é o uso de sondas de DNA unidas a fluoresceína e os anticorpos anti-bromodeoxiuridina para o estudo do ciclo celular [BERTHO & AL, 2000].

Os fluorocromos que se ligam não covalentemente possuem composições moleculares especiais, unindo-se a determinados componentes celulares, tais como: 1- marcadores de DNA e RNA, sendo o de uso mais comum o iodeto de propídeo (PI), 2- marcadores do potencial de membrana como as cianinas e a rodamina. Esses fluorocromos também marcam mitocôndrias devido à alta diferença de potencial entre suas membranas [BERTHO & AL, 2000].

Marcadores fluorescentes sensíveis ao microambiente são aqueles empregados para estimar as propriedades do ambiente em que se encontram, posto que variam seu espectro de excitação ou emissão em função das características do microambiente que os cerca. São usados para a determinação de diversos estados funcionais celulares: Ph, nível de cálcio, potencial redox, atividade enzimática (substratos que por ação da enzima variam sua fluorescência ou espectro), polaridade, viscosidade/fluidez [REILLY & BARNETT, 2001]. A disponibilidade de fluorocromos específicos e suas propriedades são essenciais para o desenvolvimento das aplicações em citometria de fluxo [BERTHO & AL, 2000; REILLY & BARNETT, 2001].

A análise dos ácidos nucléicos é, depois da identificação de linhagens celulares, a aplicação mais comum da citometria de fluxo. A análise citométrica do conteúdo de DNA estabelece condições para a regulação da apoptose [BAUER & AL., 1993; ARDEN & AL., 2007], medir a ploidia e atividade proliferativa em tumores, contribuindo para avaliações de estadiamento, prognóstico e orientação terapêutica em vários tipos de câncer, como de mama, tireóide, estômago [PRAUSOVA & AL., 2007; BANITO & AL., 2007] e neoplasias hematológicas [DWORZAK & AL., 2008]. A citometria de fluxo também pode possibilitar estudos da variabilidade inter e intra-espécies nos vegetais e de vários outros organismos, onde a detecção dos níveis de ploidia é essencial para estudos taxonômicos e produção de indivíduos geneticamente modificados [LOUREIRO & SANTOS, 2004; HOLLMAN & AL., 2005; TIEBRE & AL., 2007; LEWISON, 2007]. O conteúdo de RNA caracteriza o fenótipo associado com a diferenciação, quiescência e proliferação celular. Os ácidos nucléicos podem ser usados em estudos de várias áreas onde envolve as células e a biologia molecular [DARZYNKIEWICZ & JUAN, 2002; ORFAO, 2002; DEAN, 2002].

Diante de inúmeras aplicações da citometria de fluxo em estudos genéticos, torna-se relevante o estudo cienciométrico do tema. Os estudos cienciométricos com esse tema permitem compreender o estado atual do conhecimento científico, bem como sugerir áreas que necessitam de maior aprofundamento. Além disso, até o presente momento, não é conhecido nenhum trabalho cienciométrico que tenha explorado o uso da citometria de fluxo em estudos genéticos, reforçando assim a necessidade e importância desse estudo.

3.2 Cienciometria

A cienciometria tem por objeto estudar aspectos quantitativos da criação, difusão e utilização da informação científica e a compreensão dos mecanismos de pesquisa como atividade social [NONATO, 2003]

Um dos primeiros artigos sobre cienciometria foi desenvolvido por Alfred James Lotka (um ecólogo Austríaco) em 1926. Entretanto, foi a partir de 1955 com a criação do “*Institute for Scientific Information*” (ISI), por Eugene Garfield, que a análise cienciométrica passou a ser tema de estudo de muitos pesquisadores [CARVALHO & AL., 2005].

A criação do “Science Citation Index” (SCI), em 1963, como fonte de dados usados para análise de citações e estimativa do fator de impacto de periódicos científicos, também impulsionou estudos cienciométricos para identificar áreas emergentes, novas metodologias ou mesmo a estrutura de centros de pesquisa [CARVALHO & AL., 2005].

Com a criação na década de 1980, de um banco de dados fornecido para as universidades pelo *Institute for Scientific Information* (ISI, hoje Thomsom ISI), facilitou e promoveu o aumento pelo interesse em estudar cienciometria. Esse banco de dados dispõe informações sobre as publicações de diversos periódicos, em diferentes abordagens e áreas de conhecimento [STREHL & SANTOS, 2002].

A cienciometria é um dispositivo de medida, baseado em técnicas estatísticas, que tem por objetivo identificar e tratar as informações contidas nas publicações científicas e técnicas disponíveis nos sistemas de informação, essencialmente, referências bibliográficas de artigos, livros, patentes. Razão pela qual se torna importante analisar o papel destas diferentes publicações; considerada por Price como a “Ciência da Ciência”, apresentando uma vasta aplicação nas diferentes áreas que envolvem a produção científica [NONATO, 2003].

Considera-se que os métodos quantitativos e principalmente a análise de dados constituem um elemento indispensável para fazer avançar a nossa compreensão sobre os estudos da ciência como um meio de produção e troca de conhecimentos [NONATO, 2003].

As abordagens cienciométricas, pelas quais a ciência pode ser retratada, através dos resultados que alcançam, têm por base a noção de que a essência da pesquisa científica é a produção de conhecimento e que a literatura científica é um componente desse conhecimento [LIMA-RIBEIRO & AL., 2007].

Com ciencimetria, pode-se avaliar a importância de determinado assunto, autor e/ou trabalho, além de evidenciar as tendências e contribuições de uma determinada disciplina, pesquisador ou grupo de pesquisadores, instituição ou país em relação ao avanço científico e tecnológico mundial [LIMA-RIBEIRO & AL., 2007]. Estima-se que circulem pelo mundo, cerca de um milhão de periódicos científicos. Encontram-se indexado no banco de dados ISI, os periódicos que passam por rigorosa seleção, o que qualifica essa fonte de dados como uma das mais conceituadas do mundo [CARVALHO & AL., 2005].

A versão *on-line* do *Institute for Scientific Information* ISI contém mecanismos de busca, disponibilizando integralmente os *abstracts* dos artigos a partir de 1991, além de vários outros dados como: título, ano de publicação, autores, autor principal, nacionalidade do autor principal, nome do periódico, volume, páginas. Como exemplo das disciplinas incluídas na base, tem-se trabalhos nas áreas: da agricultura, astronomia, bioquímica, biologia, biotecnologia, ciência da computação, física, genética, química, matemática e neurociência [NONATO, 2003].

Vanti (2002) em termos genéricos, listou algumas possibilidades de aplicação das técnicas cienciométricas:

- identificar as tendências e o crescimento do conhecimento em uma área;
- identificar as revistas do núcleo de uma disciplina;
- mensurar a cobertura das revistas secundárias;
- identificar os usuários de uma disciplina;
- prever as tendências de publicação;
- estudar a dispersão e a obsolescência da literatura científica;
- prever a produtividade de autores individuais, organizações e países;
- medir o grau e padrões de colaboração entre autores;
- analisar processos de citação e co-citação;
- determinar o desempenho dos sistemas de recuperação da informação;
- avaliar os aspectos estatísticos da linguagem, das palavras e das frases;
- avaliar a circulação e uso de documentos em um centro de documentação;
- medir o crescimento de determinadas áreas e o surgimento de novos temas.

Enfim, a análise cienciométrica permite avaliar a produção científica em uma área da ciência e extrair diversas informações a fim de conhecer o desenvolvimento científico e as tendências dentro do tema pesquisado.

4 Materiais e Métodos

Para a análise quantitativa da importância da CMF nos estudos genéticos, foi utilizada a produção bibliográfica como indicador dos resultados obtidos nos últimos 16 anos. O levantamento dos estudos foi realizado por meio do banco de dados publicado no sítio do *Thompson ISI (ISI Web of Knowledge, 2006)* utilizando as palavras-chaves “*flow* cytometr* AND genetic* or genotyp**”, o uso do asterisco indica que qualquer terminação da palavra pode ser aceita, garantindo a busca de palavras no singular e no plural; delimitando o período de 1991 a 2007 por conterem o resumo dos artigos somente à partir de 1991. Foi utilizado o *Thompson ISI* devido a sua abrangência quanto ao número de publicações e qualidade das revistas indexadas.

Utilizou-se somente sua forma composta porque ambos os termos “*flow cytometry*” e “*genetic or genotyp*”, quando separados, podem indicar uma variedade enorme de trabalhos não relacionados aos assuntos interligados, portanto não se enquadrarem nos objetivos deste estudo.

Foram selecionadas as publicações que apresentaram as seguintes informações: (i) ano de publicação do artigo; (ii) periódico em que o artigo foi publicado; (iii) tipo de documento publicado (experimental, revisão); (iv) nacionalidade do primeiro autor; (v) conteúdo celular estudado; (vi) tipo de organismo estudado nos seguintes grupos (mamíferos, humanos, fungos, algas, plantas, protistas, vírus e bactérias, insetos, peixes, moluscos, répteis, aves) e (vii) em cada organismo principais interesses de estudo.

Dois são os critérios principais para escolher as revistas que compõem o banco de dados ISI, a periodicidade e o impacto da revista, que é medido pelo número de citações de seus artigos em outras revistas [PINTO & ANDRADE, 1999]. Devido a estes fatores, além dos critérios citados no parágrafo anterior, também foram avaliados o fator de impacto (FI)

das revistas, que tem sido utilizado para avaliar as revistas e classificar a qualidade e a importância dos trabalhos publicados; e o índice de diversidade das revistas, que nesse estudo foi estimado com base no índice de diversidade de Shannon (H') que demonstra a variedade de revistas que publicaram sobre o tema deste trabalho.

O fator de impacto (FI) dos artigos utilizados nas análises foi obtido a partir do *Journal Citation Reports* (JCR) publicado em 2007; O FI de um periódico é definido como a razão entre o número de citações feitas no corrente ano, a artigos publicados neste periódico nos últimos dois anos (Journal Citation Reports, 1998) [CARVALHO, 2005; STREHL, 2005].

Para visualizar o crescimento quantitativo dos trabalhos em genética com CMF, o número de artigos publicados em cada ano foi padronizado, dividindo-se o número de total de artigos obtidos em um ano pelo número total de artigos da base de dados do ISI e multiplicando esse valor por 100 (para obter o valor em percentual), dessa forma, foi possível avaliar a tendência temporal removendo-se o efeito da tendência de aumento no número de publicações científicas [PETERS, 1991].

A análise de dados consistiu em análise de regressão simples e correlações, com nível de significância (p) de 0.05, além disso, interpretações foram feitas também por análise de frequência simples. Por fim, as figuras foram construídas utilizando o programa *Statística* versão 7.1 [STATSOFT, 2005].

5 Resultados e Discussão

De acordo com o levantamento realizado, foram encontrados 2.642 trabalhos publicados no período de 1991 a 2007 utilizando as palavra-chaves “*flow* cytometr* AND genetic* OR genotyp**”.

Em um total de 2.642 artigos, 139 foram teóricos e 2.488 foram experimentais, perfazendo um total de 94,2% de trabalhos práticos, demonstrando que houve interesse prático em utilizar a citometria de fluxo para estudos genéticos. De fato, inúmeros trabalhos em diferentes áreas relatam que estudos teóricos têm menor frequência que estudos experimentais ou descritivos [LIMA-RIBEIRO & AL, 2007; CARNEIRO & AL, 2008]. Além disso, nos números dos periódicos poucos são os artigos tidos como “revisão” ou teóricos (frequentemente um ou dois). Entretanto, apesar da baixa frequência de artigos teóricos esses são frequentemente os artigos com maior número de citação [LEIMU & KORICHERA, 2005].

Ano a ano, com a eliminação da tendência “natural” do número de publicações, observou-se um aumento expressivo no número de trabalhos em genética com o uso da CMF. Entretanto, houve um pequeno decréscimo no ano de 2000 para 2001, e um relevante aumento no ano de 2001 para 2002, sendo o coeficiente de correlação altamente significativo (Figura 4). Esse aumento de publicações na área da genética com o uso da citometria de fluxo é um indicativo do aumento de pesquisadores interessados nesse ramo da biologia. Considerando que o número de publicações é uma das medidas mais utilizadas para quantificar o progresso e a evolução da ciência, esse aumento de publicações, se deve a natural evolução da técnica com o aperfeiçoamento dos citômetros, descoberta de novos anticorpos monoclonais e maior produção de fluorocromos [BERTHO & AL, 2000].

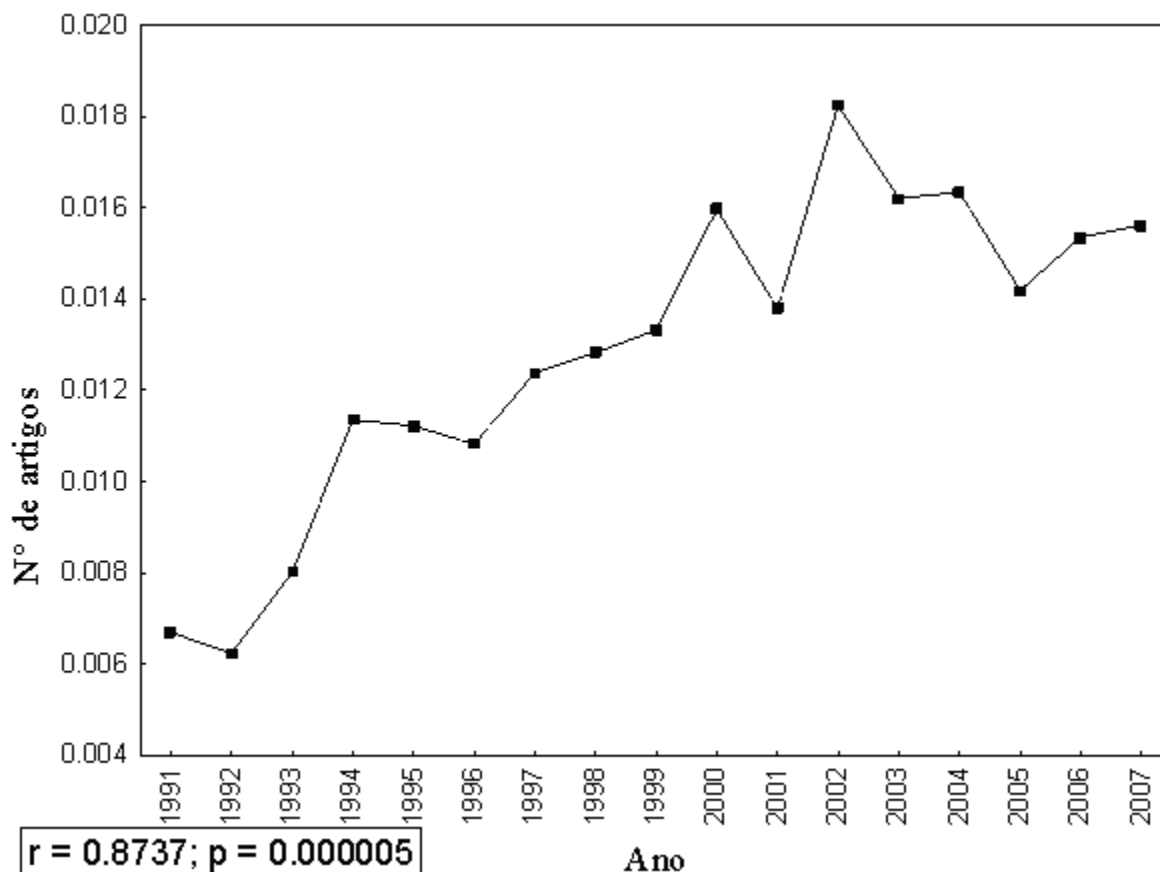


Figura 4. Número de artigos publicados em porcentagem, ao longo dos 16 anos, na área da genética, utilizando citometria de fluxo, indexados no ISI.

Considerando o número total de artigos e os países que publicaram, observou-se que do total de 2.642 trabalhos, 878 (i.e. 33%) foram desenvolvidos por autor de origem dos E.U.A., 205 (7,7%) Japão, 196 (7,4%) Alemanha e 157 (5,9%) Inglaterra. Nesse “rank” o Brasil ocupou a posição 26º, com total de 18 trabalhos representando somente 0,68% do total de artigos Brasil (ver Figura 5 com a colocação dos 26 países que mais publicaram trabalhos genéticos com o uso de CMF).

O grande número de publicações de autores dos E.U.A, refletem a infra-estrutura e o investimento deste país em pesquisa. Atualmente, a atividade científica é altamente concentrada em países industrializados [CARNEIRO & AL., 2008]. Os resultados evidenciados na figura 4 demonstram que grande parte da produção científica de estudos com CMF está sendo realizada por países desenvolvidos. A situação financeira das instituições de

pesquisas, muito mais crítica do que a americana em outras partes do mundo dá uma dimensão da dificuldade dos países em desenvolvimento em promover as atividades científicas [PINTO & ANDRADE, 1999]. Ocorre uma mobilidade e transferência de cientistas, que recebem algumas vantagens em relação ao seu país de origem, além da infraestrutura, há melhores salários para os pesquisadores [CURRÁS & BARREIRO, 2008].

Considerando que o investimento em ciência está diretamente relacionado com a formação e qualificação de pesquisadores, mestres e doutores titulados; apesar dos E.U.A. deterem grande parte das publicações, o Japão é o país com maior número de publicações científica em relação ao número de doutores [KING, 2004]. Contudo a produção científica dos países latinos americanos tem crescido nos últimos vinte anos, principalmente no Brasil, México, Canadá [HILL, 2004]. Entretanto, países em desenvolvimento encontram dificuldades em desenvolver trabalhos em áreas que necessitam de instrumentos com alta tecnologia, como as encontradas em áreas de genética.

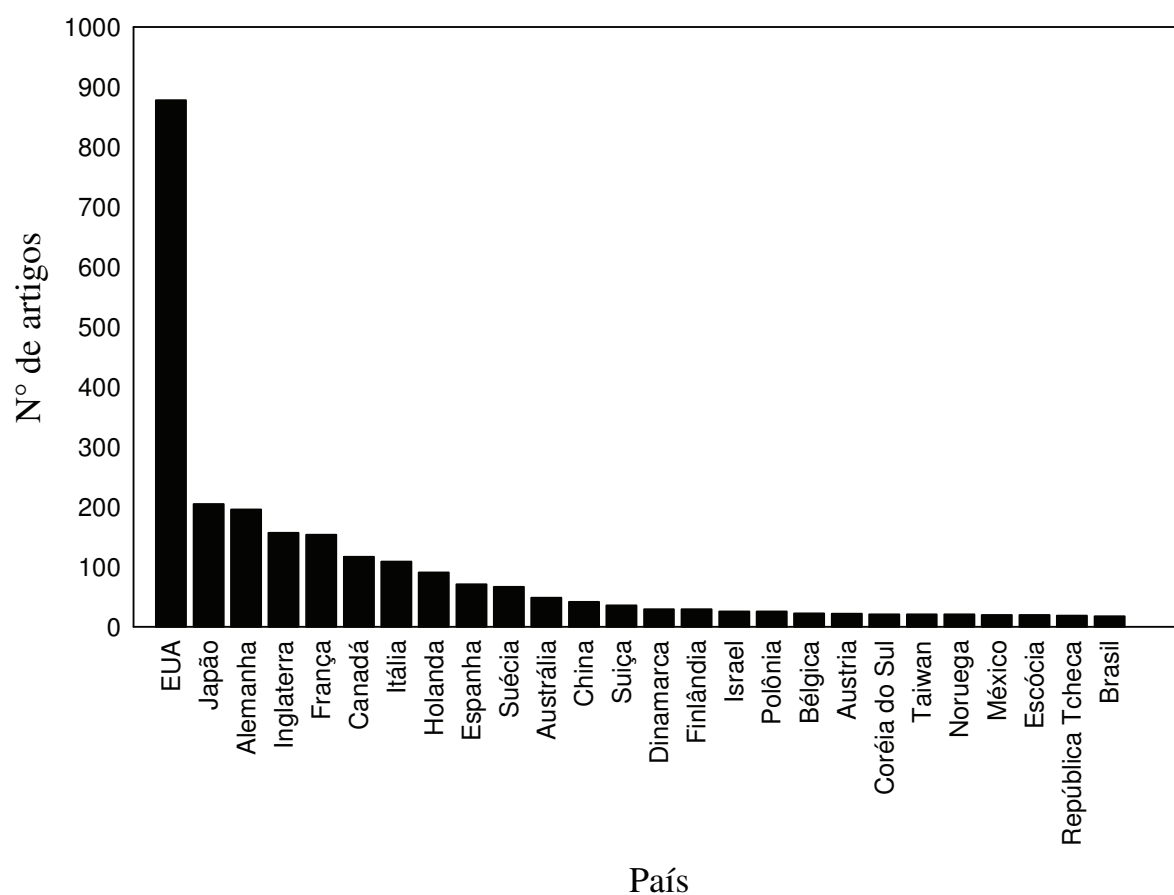


Figura 5. Número de artigos publicados em genética com o uso da CMF por países.

Na avaliação do número de revistas e o total de artigos, observou-se que 875 diferentes revistas publicaram sobre o assunto estudado. Porém, somente 15 revistas obtiveram um número de publicações igual ou superior a 20 trabalhos, perfazendo um total de 476 artigos, que corresponde a 18% das publicações. Por número total de artigos tem-se: *Blood* (59 artigos), *Cytometry* (56 artigos), *Cancer Res* (38 artigos), *Appl. Environ. Microbiol* (36 artigos), *J. Immunol.*(33 artigos), *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* (32 artigos), *Cancer* (32 artigos), *Theor. Appl. Genet.*(31 artigos), *Clin. Cancer Res.*(28 artigos), *Am. J. Clin. Pathol.*(23 artigos), *Br. J. Haematol.*(23 artigos), *Cancer Genet. Cytogenet.*(23 artigos), *J. Immunol. Methods*(21 artigos), *Plant Sci.*(21 artigos), *Infect. Immun.*(20 artigos) (Figura 6).

Segundo Macias-Chapula (1998) e Vanti (2002), a revista na qual o trabalho foi publicado é um dos critérios, dentre outros, para a avaliação do contexto em que se insere o campo do conhecimento em avaliação. Em estudos genéticos correlacionados com a citometria de fluxo, as revistas com alta taxa de publicação, como observado na figura 8, editam apenas trabalhos específicos da área relacionada à genética e são todas de circulação internacional. A maior parte das 15 revistas, 11 delas publicam temas relacionados principalmente a genética humana, em particular no estudo do câncer [CURRÁS & BARREIRO, 2008].

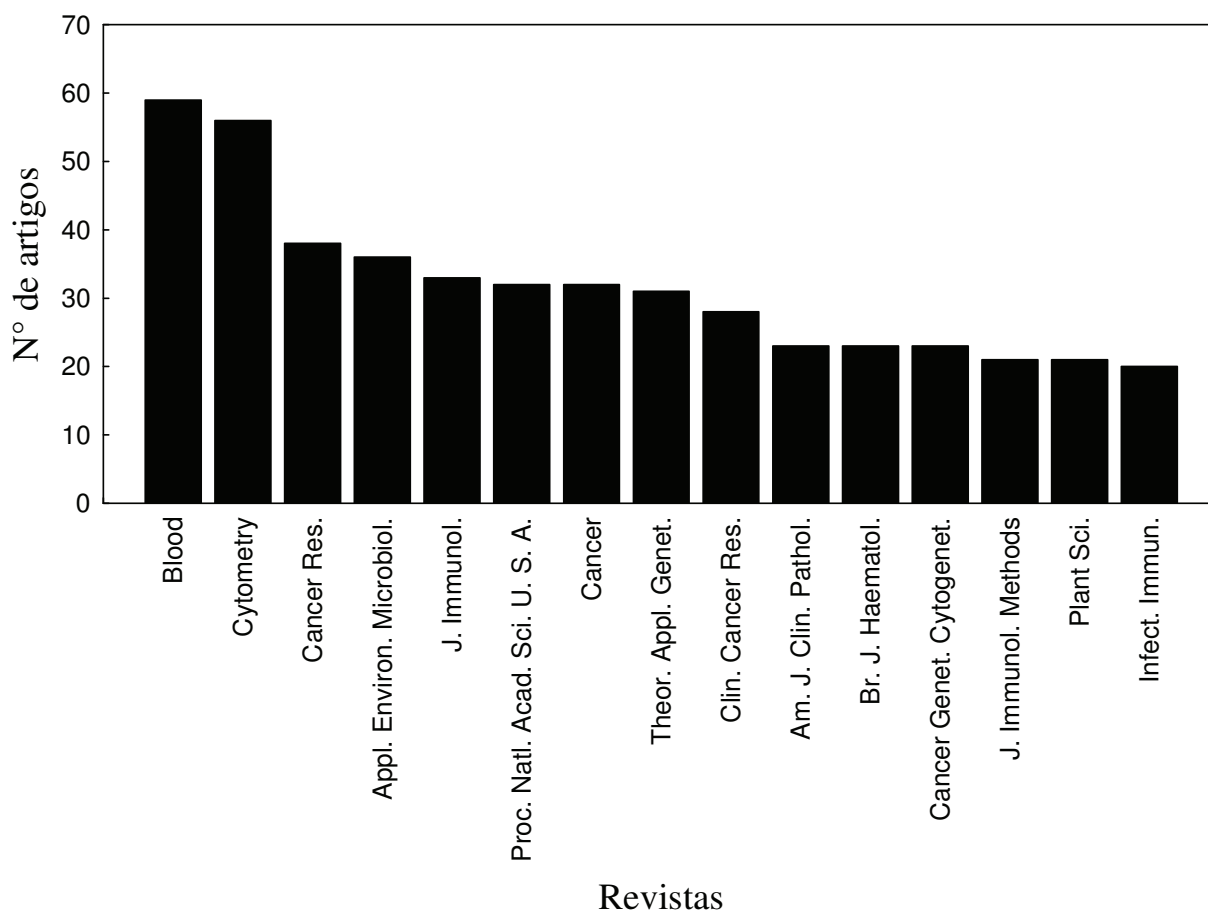


Figura 6. Revistas com frequência de publicação maior ou igual a vinte artigos.

Em relação aos métodos cienciométricos, há uma grande variedade de aplicações, tais como o uso do número de publicações e citações para auxiliar na avaliação do desempenho científico de pesquisadores, grupos e centros de pesquisa; na tomada de decisões quanto à distribuição de recursos financeiros por parte de organizações governamentais e internacionais, fundações e instituições de fomento e também no estudo de desempenho comparativo entre as nações [VANTI, 2002].

Dois são os critérios principais para escolher as revistas que compõem o banco de dados do ISI, a periodicidade e o fator de impacto das revistas, que corresponde a qualidade da revista. Diante disso, há um grupo de pesquisadores que os colocam como os únicos critérios de avaliação de um projeto científico e estabelecem que um artigo científico só tenha valor se for publicado em uma revista com alto fator de impacto. Por outro lado, há aqueles que acham que a adoção da hierarquização de revistas científicas e do número de citações de publicações científicas no julgamento de projetos, bolsas de produtividade de pesquisa e avaliação de cursos de pós-graduação é mais uma das muitas formas de colonialismo cultural [PINTO & ANDRADE, 1999].

Além dos resultados do número de citações de artigos serem usados como indicadores do fator de impacto, são também usados para aplicar e descrever associações técnicas entre a pesquisa científica e o desenvolvimento da tecnologia [CHIA LO, 2008].

Todavia, essa proporção de citações a referências recentes depende da área em que os trabalhos são publicados. Em outras palavras pode-se dizer que o tempo de pertinência dos conhecimentos produzidos, varia de acordo com o ritmo de atualização de cada área da ciência. Por exemplo, trabalhos em ciências sociais e ciências aplicadas, como as engenharias e a computação, apresentam altíssimas proporções de trabalhos que não são citados nos primeiros cinco anos após sua publicação; enquanto os trabalhos em ciências biológicas, a qual se insere a genética são citados assim que publicados [STREHL, 2005].

Neste trabalho, foi avaliado o fator de impacto das revistas com base no ano de 2007, sendo encontrado artigos publicados em revista com elevadíssimo fator de impacto (FI igual a 52,589). Entretanto, ano a ano a maioria das revistas apresentou um fator de impacto (FI) médio em torno de quatro, não demonstrando grande variação ao longo do tempo, o que é interessante, pois com o tempo a tendência é que novas revistas comecem a se interessar sobre o assunto em questão, ocasionando uma redução média do fator de impacto (simplesmente devido ao aumento do número de revistas de menor prestígio). No entanto, nota-se que parece o seguinte: por mais que existem novas revistas que se interessam sobre esse assunto, essas tendem a ter um elevado FI, ou seja, são revistas de elevado prestígio (Figura 7) [PINTO & ANDRADE, 1999].

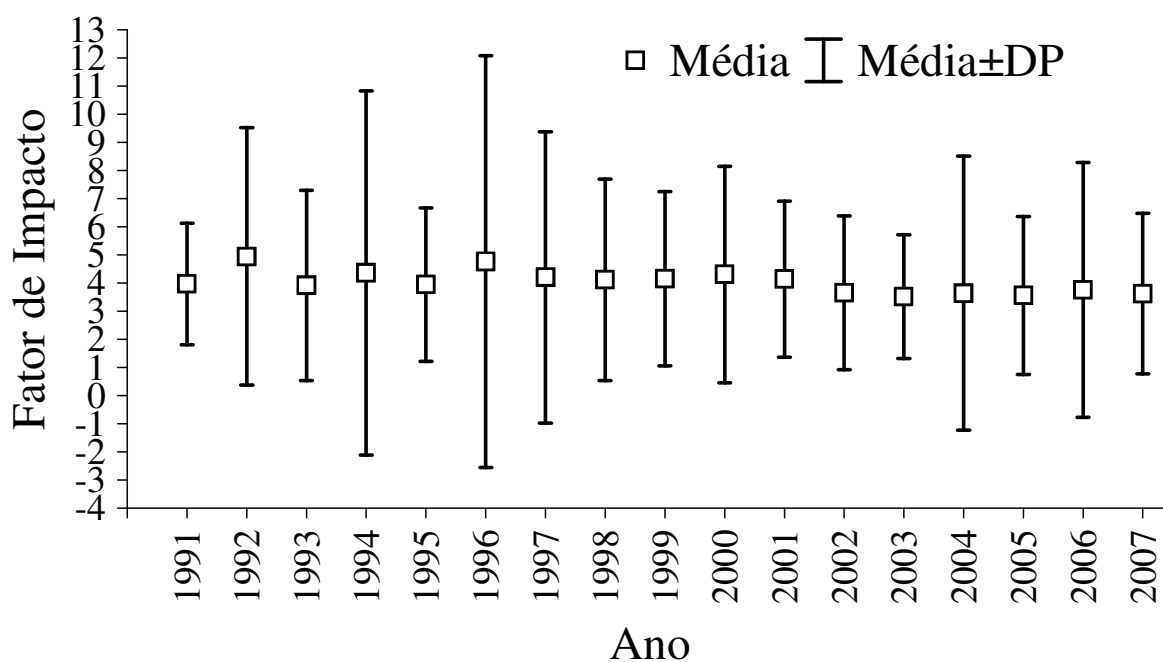


Figura 7. Fator de impacto (FI) das revistas analisadas.

O aumento do número de revistas ao longo do tempo que publicam sobre determinado assunto pode ser mensurado pelo índice de diversidade de Shannon. O Índice de Shannon é muito utilizado em ecologia e define que a diversidade de espécies está associada a uma relação entre o número de espécies (riqueza de espécies) e a distribuição do número de indivíduos entre as espécies (equitabilidade) [MOÇO & AL., 2005]. O índice de Shannon demonstrou que a diversidade de revistas aumentou ao longo dos anos, indicando que o tema passou a despertar interesse em diversas áreas da ciência (figura 8). Foram 875 revistas diferentes que publicaram sobre o assunto, são periódicos que publicam sobre genética humana, animal, vegetal e outros organismos.

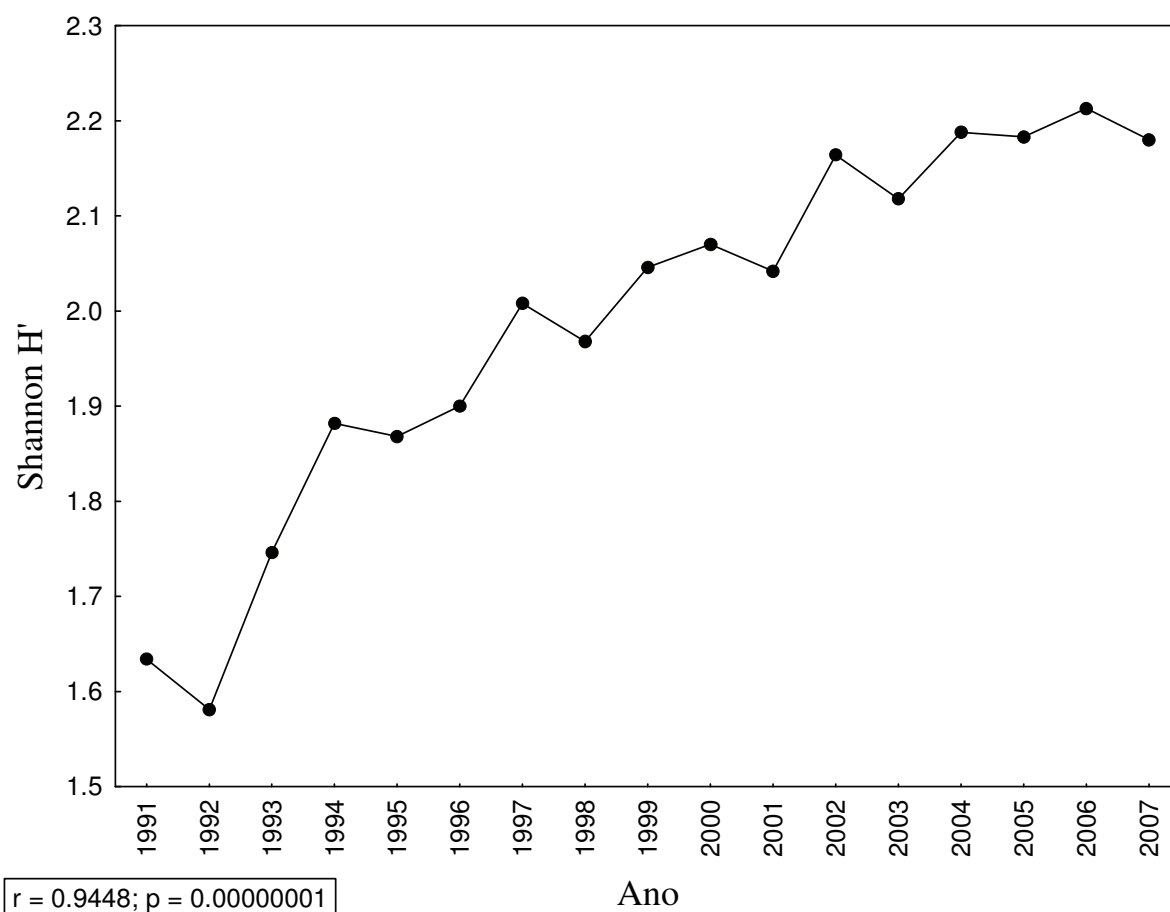


Figura 8. Shannon H' - Índice de diversidade das revistas.

A figura 9 evidencia a colocação dos 30 autores que mais publicaram sobre estudos de genética com o uso de CMF, sendo que os Cornellisse C.J. e Reid B.J. foram os autores que mais publicaram, com respectivamente 16 e 14 artigos. Além disso, o número de autores por artigo tem aumentado ao longo do tempo (figura 10), sendo que no início da década de 90, em média os artigos tinham quatro autores, e atualmente apresentam em média mais de seis autores. Quando interpretada a relação positiva entre o número de autores e também citações por artigo, concluiu-se que o benefício de colaboração entre os autores ocorre por simples troca e complementação de experiências científicas ou por terem contatos pessoais com algum pesquisador envolvido no trabalho que será publicado, recebendo assim convite para participar do mesmo [LEIMU & KORICHEVA, 2005].

O potencial benefício da colaboração científica das instituições depende do tipo de colaboração, da disciplina, do país ou países envolvidos. Por exemplo, a colaboração internacional além de aumentar o número de citações também é benéfica para as pequenas universidades e países em desenvolvimento. Colaborações multi- institucionais têm sido comum no meio científico, pois além de promoverem interdisciplinaridade também aumentam o crescimento científico [GOLDFINCH & AL, 2003].

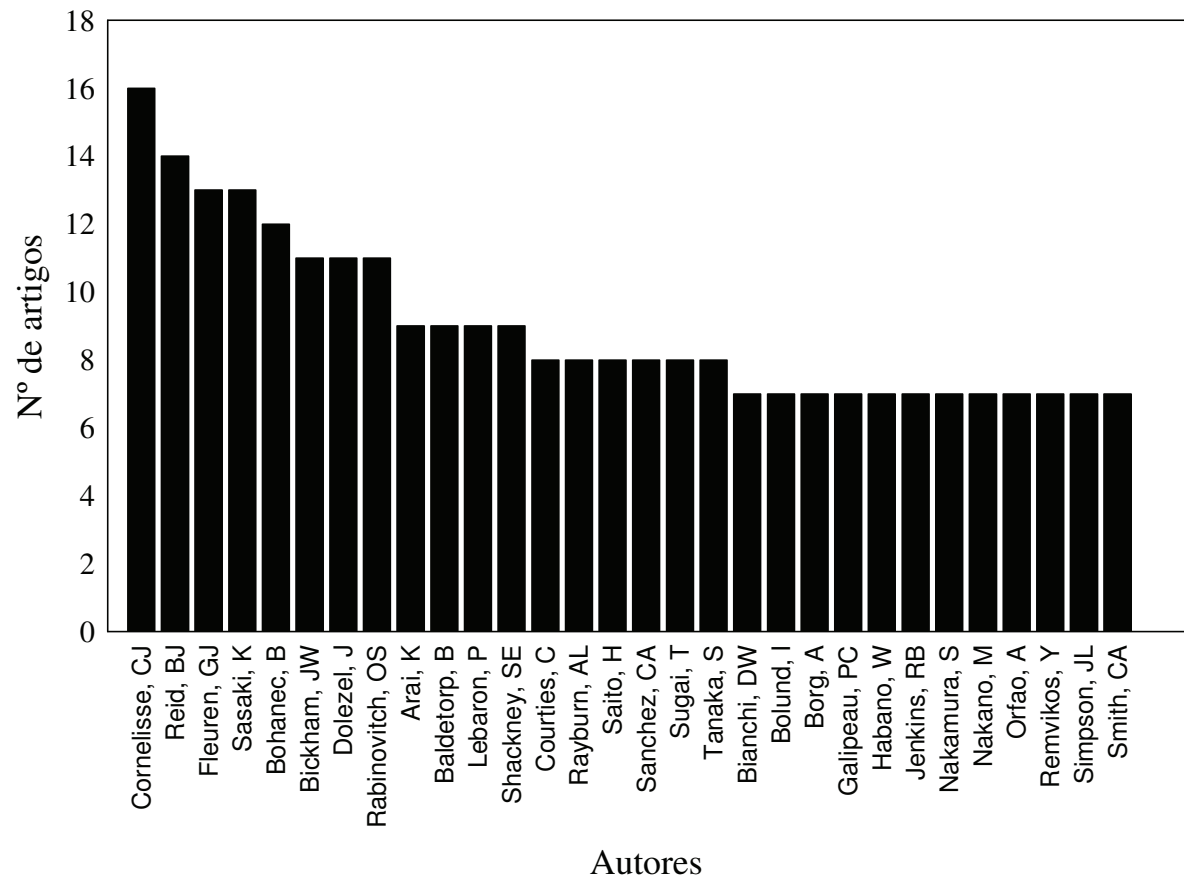


Figura 9. Nomes de trinta autores principais que possuem a partir de sete publicações no tema pesquisado.

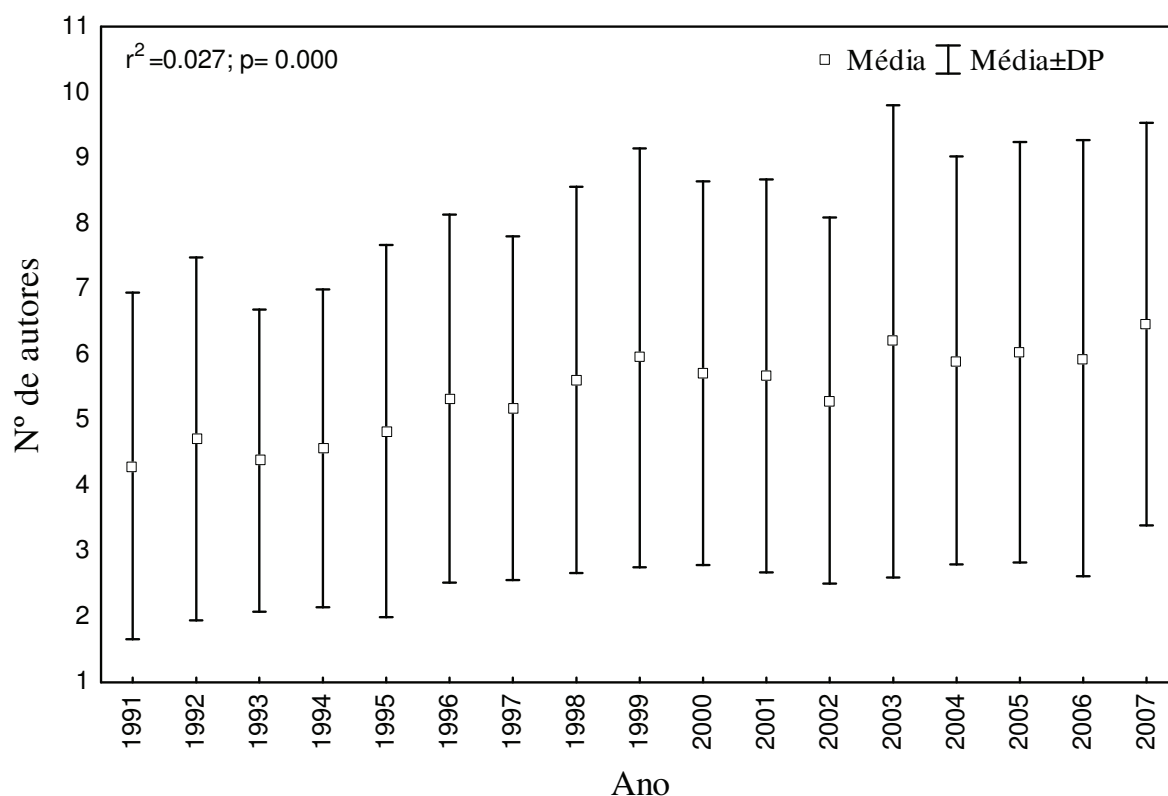


Figura 10. Número de autores por artigos nos anos pesquisados.

A citometria de fluxo é apropriada para o estudo de células de vários organismos, sendo fundamental que vários citômetros de fluxo estejam presentes nas universidades, indústrias e laboratórios particulares. A citometria de fluxo com suas várias metodologias têm facilitado e impactado principalmente o campo de pesquisa das ciências biomédicas. Nas aplicações da CMF de modo geral o foco de análise são as células que tem sido marcadas e quantificadas com alta resolução em vários sistemas biológicos [NOLAN & MANDY, 2006].

A análise dos tipos de organismos estudados geneticamente com o uso da citometria de fluxo revelou que a maior parte dos estudos foram desenvolvidos com humanos representando 1.446 artigos (54,7%), seguido de outros mamíferos 368 artigos (13,9%), plantas 319 artigos (12,1%), vírus e bactérias com 223 artigos (8,4%), fungos com 61 artigos (2,3%), algas com 42 artigos (1,6%), peixes com 40 artigos (1,5%), aves com 22 artigos (0,8%), protistas com 21 artigos (0,8%), insetos com 14 artigos (0,5%), moluscos com 9 artigos (0,3%), répteis com 6 artigos (0,2%).

Apesar de existirem diferentes organismos sendo investigados com o uso de citometria de fluxo, é claramente evidente que a maior parte dos artigos foi desenvolvida em trabalhos com a espécie humana, usando a técnica principalmente para detecção de patologias. (Figura 11a). Além disso, considerando a tendência temporal (removendo também o efeito do aumento de artigos) observou-se que a partir de 1999 o número de artigos com a espécie humana começou a declinar, entretanto, mesmo assim sempre apresentando o maior número de artigos (figura 11b). Tradicionalmente os estudos de citometria de fluxo tem se interessado na espécie humana, porque a técnica foi originalmente desenvolvida para contagem e análise de células sanguíneas na década de 1950, seguida pelo estudo dos linfócitos na monitorização imune na década de 1980, a partir desta época a CMF generalizou se a outras áreas e outros organismos. Apesar da superioridade de estudos com humanos, a tendência temporal dos organismos estudados (figura 11b) revelou que estudos com plantas, vírus e bactérias têm aumentado nos anos recentes, demonstrando o interesse da comunidade científica em usar essa técnica para esses organismos também. No estudo com plantas, nota se que a maioria dos trabalhos envolvem estudos de variabilidade e comparação de espécies, nos vírus e bactérias a CMF é utilizada em estudos de patogenicidade, metabolismo e outros [CHINNADURAI, 1998; CÔRTE-REAL, 2002; LOUREIRO & SANTOS, 2004; SIMONOVIK & AL, 2007; GE & AL, 2007].

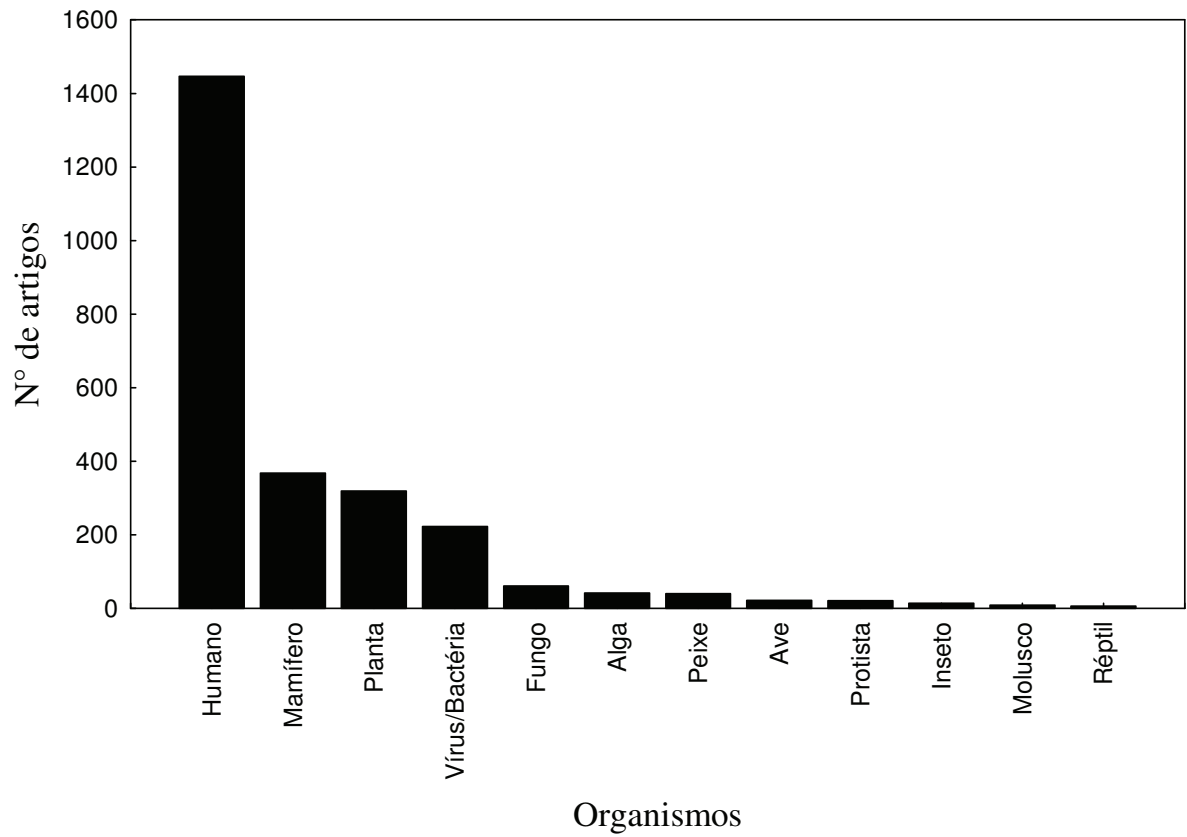


Figura 11a. Tipos de organismos estudados por artigos publicados.

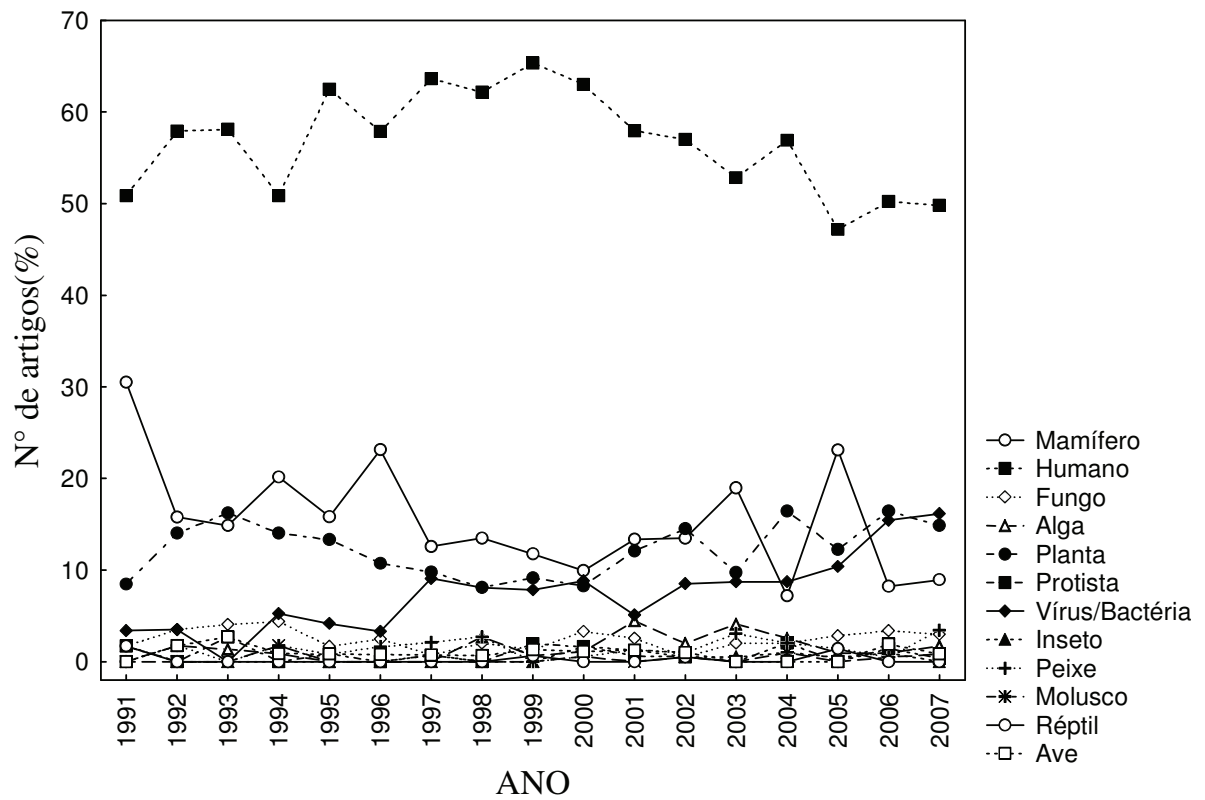


Figura 11b. Tipos de organismos estudados por ano.

A genética humana tem sido importante para a avaliação da espécie humana porque tem suas bases de estudo nos ácidos nucléicos e nas proteínas [CURRÁS & BARRERO, 2008]. A maioria das publicações de estudos genéticos em citometria de fluxo é com proteínas, porque é a chave para compreender a função celular. Em segundo lugar estão trabalhos que envolvem as análises do conteúdo genético sob vários enfoques como ilustrado na figura 12 [NOLAN & MANDY, 2006].

Com relação ao tipo de material genético estudado, tem-se que 1.656 artigos (62,7%) foram realizados com proteínas, 481 (18,2%) com DNA ploidia, 470 (17,8%) artigos com DNA conteúdo incluindo gene, sem preocupação com o número cromossômico (ploidia), 13 (0,5%) artigos com RNA conteúdo e 3 (0,1%) artigos com RNA de fita dupla (RNAsi).

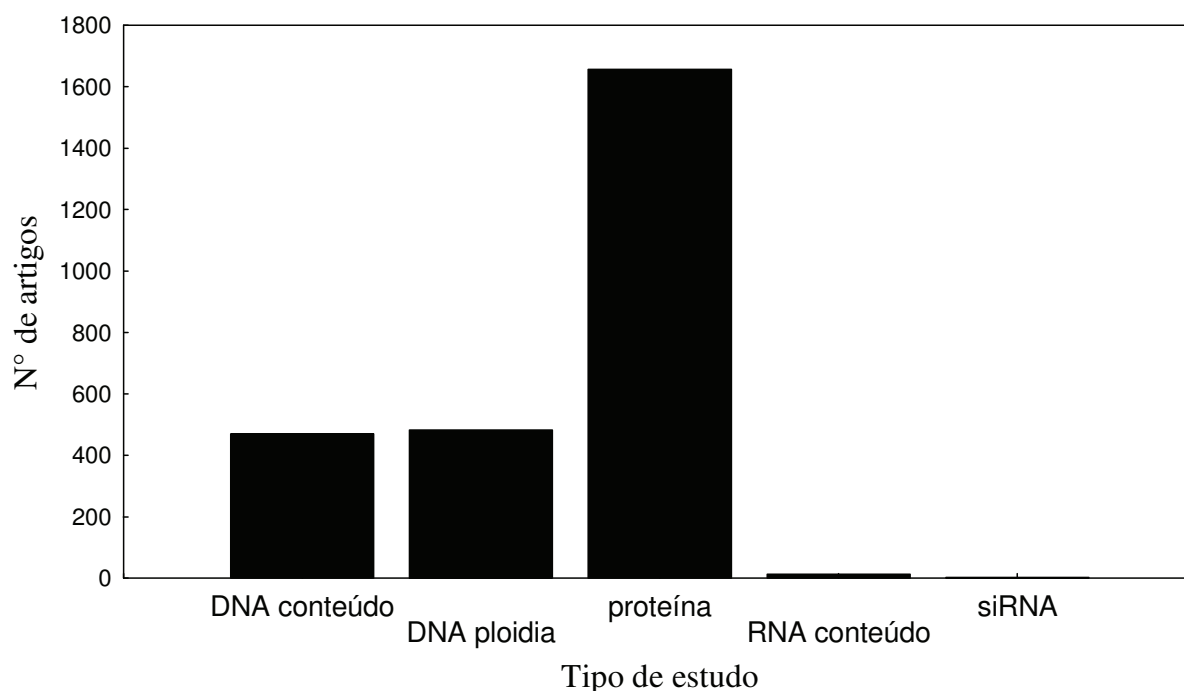


Figura 12. Tipo de estudo por artigos, quanto a análise do conteúdo celular.

De acordo com o organismo estudado, observa-se uma tendência na escolha do material para estudo; por exemplo, em humanos predomina a escolha pela pesquisa do fenótipo (proteína), enquanto que nas plantas há predomínio de pesquisa com material

genético; isso ocorre porque dentro de cada organismo têm-se interesses de pesquisa distintos. Nos humanos são abordados vários temas para pesquisa: atividade celular e metabólica, monitorização imune e terapêutica, diagnóstico e prognóstico de doenças através da marcação das proteínas evidenciando o fenótipo celular [ROSAS-TARACO & AL, 2007].

Em plantas os temas de maior interesse se relacionam ao estudo de variabilidade genética, que tem importância tanto para preservação quanto para modificação das espécies desse grupo [LEWISON, 2007]. Contudo em qualquer grupo de organismo pode se estudar qualquer tipo de material (DNA, RNA e proteína) como evidenciado na figura 13 [NOLAN & MANDY, 2006].

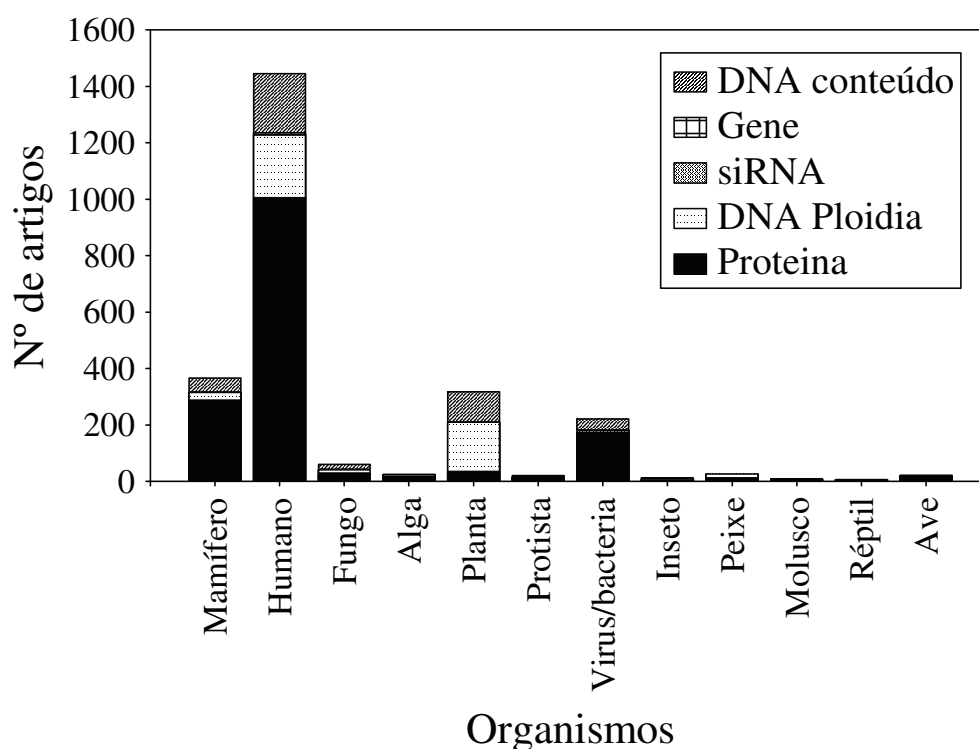


Figura 13. Tipos de estudo por organismos x número de artigos.

Considerando estudos com humanos, observa-se uma grande variedade de assuntos abordados; dos 1.446 artigos 795 (55%), estão relacionados a doenças como mostra a figura 16. Entretanto o maior enfoque está na área oncológica com 642 publicações (44,4%). Isso se

explica porque a citometria de fluxo foi criada inicialmente para área hematológica, sendo posteriormente despertado o interesse de pesquisadores nas áreas biomédicas, sobretudo no estudo oncológico devido sua praticidade e desenvolvimento de novas metodologias em curto espaço de tempo [ORFAO & AL, 1995].

Numerosas alterações na sequência do DNA provocam o câncer, existindo em torno de 291 genes que são considerados oncogenes. Essas alterações na sequência do DNA podem ser transmitidas quando ocorrem em células germinativas ou não transmitidas quando ocorrem em células somáticas. Sabe-se que 90% dos casos de câncer são em células somáticas, 20% em células germinativas e 10% em ambos [FRUTEAL & AL, 2004]. A alteração genética mais comum no câncer são as translocações cromossômicas, que formam genes quiméricos e estão presentes principalmente em leucemias, linfomas e sarcomas, entretanto esses tipos representam somente 10% de todos os tipos de câncer [FUTREAL & AL, 2004]. O desenvolvimento científico no estudo da genética humana relacionada à oncologia, requer que as pesquisas científicas sejam dinâmicas, informativas e tenham função na sociedade de promover a melhoria do diagnóstico e tratamento dessas doenças, sem, contudo esquecer das demais patologias que acometem os humanos como as doenças auto-imunes, a AIDS, hepatite C dentre tantas outras [CURRÁS & BARREIRO, 2008].

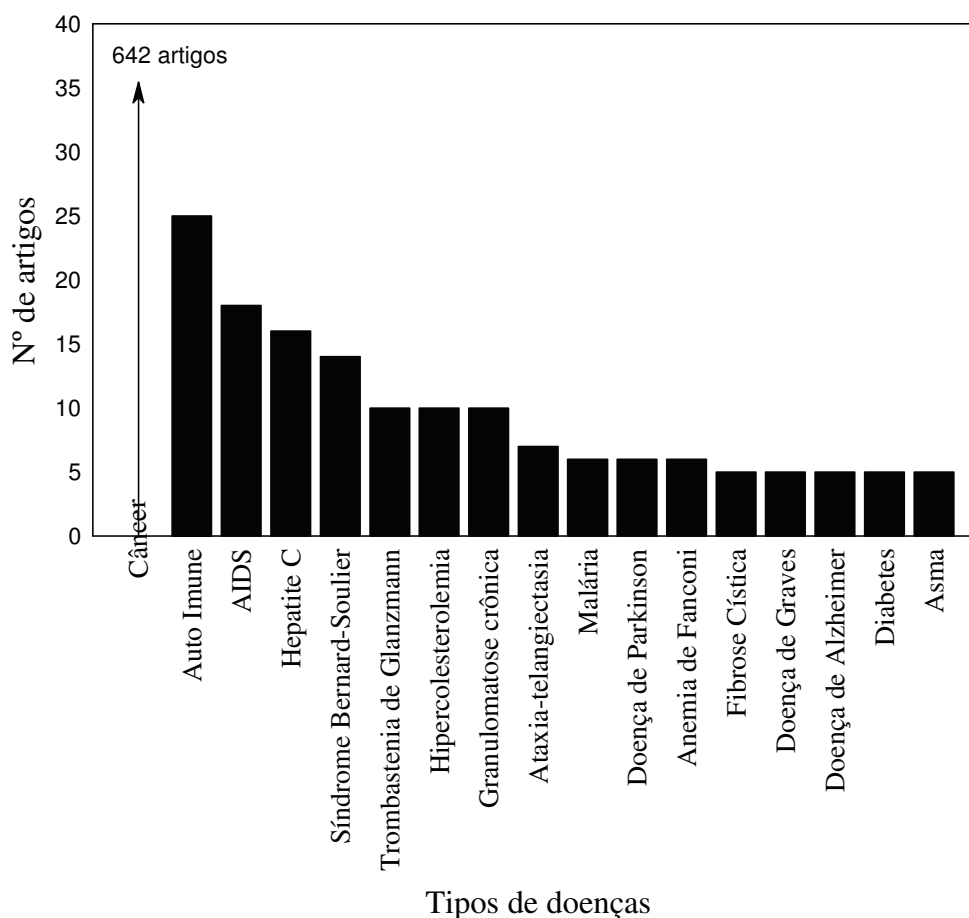


Figura 14. Tipos de doenças estudadas em humanos por artigos.

A integração de eventos moleculares na transformação da célula para desenvolver o câncer, ou seja, sua malignização tornou-se objetivo de estudos de muitos pesquisadores e instituições [CURRAS& BARREIRO, 2008; FUTREAL & AL, 2004]. Para exemplificar esta afirmação tem-se a figura 15, onde mostra que no total das publicações 107 (17%) foram em leucemias e linfomas, 81 (13%) foram definidos como não-especificados (N.E.) representam artigos que estudaram os processos celulares envolvidos com neoplasias, 77 (12%) foram em câncer de mama, 74 (11%) em câncer no reto seguido por outros menos estudados.

Nos estudos realizados na área oncológica, observa-se um número elevado de pesquisas em leucemias e linfomas, câncer de mama, de reto, útero dentre outros; seguidos

por estudos não especificados quanto ao tipo de câncer, entretanto, igualmente relevantes porque avaliaram atividades celulares diversas destas entidades [CURRÁS & BARREIRO, 2008; ORFAO, 1995].

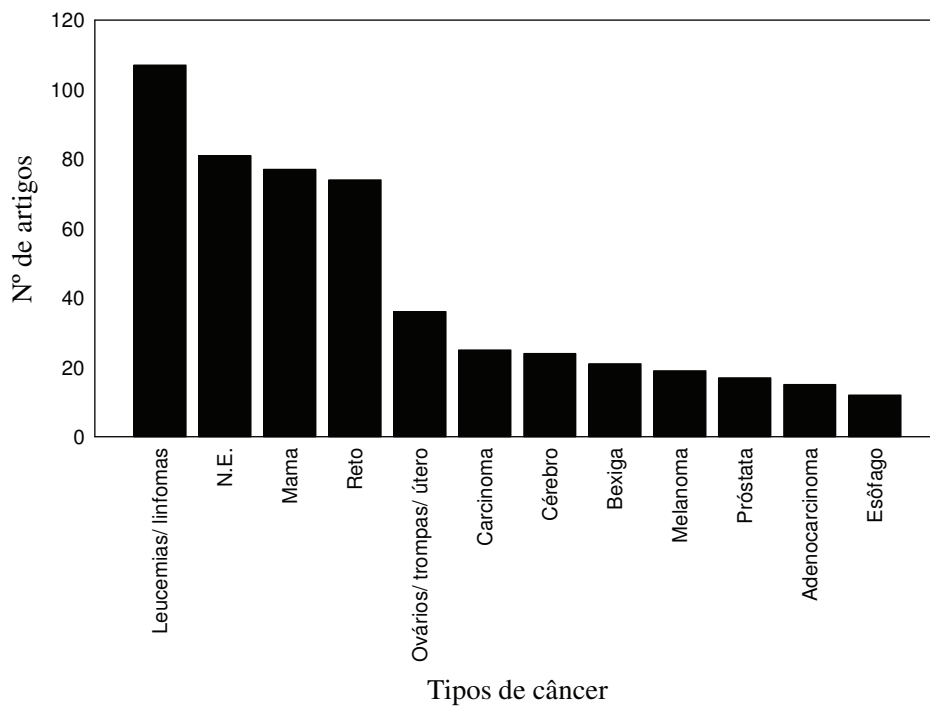


Figura 15. Tipos de câncer pesquisados por artigos.

6 Conclusões

Foi realizado um extenso levantamento cienciométrico de publicações na área da genética com o uso da citometria de fluxo, onde foram avaliados vários critérios em cada trabalho. Dessa forma, para o presente trabalho as técnicas cienciométricas foram satisfatórias para demonstrar o “estado atual da arte” de estudos genéticos com o uso de citometria de fluxo.

Observou-se que houve a tendência de aumento no número de publicações ao longo dos anos e que a maioria foram trabalhos práticos (experimentais ou descritivos).

Verificou-se que os países desenvolvidos apresentaram maior número de trabalhos publicados, provavelmente pelo investimento em insumos e equipamentos. Os países em desenvolvimento, entre eles o Brasil apresentaram pouca contribuição em estudos de genética usando citometria de fluxo, assim, considerando que há um crescente aumento no número de trabalhos de citometria de fluxo e que inúmeras revistas têm se interessado por esse tema é recomendável investimentos financeiros e formação de pessoas qualificadas por parte das agências governamentais para a expansão e consolidação dessa técnica em países em desenvolvimento.

Além do incremento do número de artigos por ano, observou-se também um aumento do número de autores por artigo ao longo do tempo, evidenciando o interesse na colaboração para o desenvolvimento de trabalhos científicos com esse tema. Além disso, o fator de impacto médio das revistas manteve-se constante ao longo do tempo (em torno de quatro), e a diversidade revistas (baseado no índice de Shannon) apresentou um incremento significativo ao longo do tempo, demonstrando que várias áreas da ciência têm interesse em estudos genéticos com a citometria de fluxo.

Observou-se ainda que vários organismos foram estudados geneticamente com a citometria de fluxo, entretanto notou-se sempre um maior número de trabalhos publicados com humanos. Seguido da importância dos estudos com humanos, observou-se também importante aumento no número de trabalhos com outras espécies (principalmente plantas e vírus/bactérias). Dessa forma, este estudo reforça e incentiva a importância do uso da citometria de fluxo com outros organismos (como répteis, aves, algas e etc), pois é uma técnica bem consolidada e poderá auxiliar nas respostas às questões genéticas, ecológicas e evolutivas de diversas espécies.

Vários tipos de estudo foram realizados, utilizaram-se proteínas, DNA e RNA. Foram observados que o tipo de estudo se relaciona com o organismo; por exemplo, em humanos utilizou-se mais proteína, em plantas DNA, contudo qualquer material pode ser estudado nos diferentes organismos.

Como caracterização geral dos estudos de citometria de fluxo com a espécie humana, notou-se que a maior parte dos estudos envolve patologias, sendo que das doenças investigadas, o câncer obteve maior número de trabalhos, sendo as leucemias/linfomas o tipo de câncer com maior número de estudos.

Por fim, conclui-se que há inúmeras possibilidades de aplicações da citometria em diferentes áreas da biologia, que associadas à citometria, demonstram um potencial para maior exploração da técnica na área da genética e da biologia molecular.

Referências bibliográficas

- ARDEN, N., MAJORS B.S., AHN, S.H., OYLER, G., BETENBAUGH, M.J. (2007), Inhibiting the apoptosis pathway using MDM2 in mammalian cell cultures, *Biotechnology and bioengineering* 97: 601-614.
- BAUER, K.D., DUQUE, R.E., SHANKEY, T.V. (1993), *Clinical Flow Cytometry: Principles and Application, Lymphomas*, Baltimore, MD, Williams & Wilkins 203-234.
- BANITO, A., PINTO, A.E., ESPADINHA, C., MARQUES, A.R., LEITE, V. (2007), Aneuploidy and RAS mutations are mutually exclusive events in the development of well-differentiated thyroid follicular tumours, *Clinical Endocrinology* 6: 706-711.
- BEDNER, E., LI, X., GORCZYCA, W., MELAMED, M.R., DARZYNKIEWICZ, Z. (1999), Analysis of Apoptosis by Laser Scanning Cytometry, *Cytometry* 35: 181-195.
- BEE, L., YANG, F., CARTER, N.P., (2007) *Flow Analysis and Sorting of Microchromosomes, Cytometry Part A* 71:410-413.
- BERTHO, A.L., SANTIAGO, M.A., COUTINHO, S.G.(2000), Flow Cytometry in the study of cell death, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 95: 429-433.
- CARNEIRO, F. M., NABOUT, J.C., BINI, L.M. (2008), Trends in the scientific literature on phytoplankton, *Limnology* 9: 153-158.
- CARVALHO, P., DINIZ-FILHO, J.A.F., BINI, L.M. (2005), “The impact of Felsenstein’s phylogenies and comparative method” on evolutionary biology, *Scientometrics* 62(1): 53-66.
- CARTER, N.P., MEYER, E.W. (1990), *Flow Cytometry*, IRL PRESS, New York. Chapters in books: 1, Introduction to the principles of flow cytometry, p. 1- 28.
- CHIA LO, S.(2008), Patent coupling analysis of primary organizations in genetic engineering research, *Scientometrics*, 74: 143-151.
- CHINNADURAI, G. (1998), Control of Apoptosis by Human Adenovirus Genes, *Seminars in Virology*, 8: 399-408
- CÔRTE-REAL, M.; SANSONETTY, F., LUDOVICO, P., PRUDÊNCIO, C., RODRIGUES, F., FORTUNA, M., SOUSA, M., SILVA, M.; LEÃO, C. (2002), Contributos da citologia analítica para estudos de biologia de leveduras, *Boletim de Biotecnologia*, 71: 19-33.
- COSSARIZZA, A., ORTOLANI, C., MONTI, D., FRANCHESCHI, C. (1997), Cytometry Analysis of Immunosenescence, *Cytometry* 27: 297-313.

- CURRÁS, E. BARREIRO, E.W. (2008), Integration in Europe of human genetics results obtained by Spaniards in the USA: A historical perspective, *Scientometrics*, 75: 473-493.
- DARZYNKIEWICZ, Z., JUAN< G. (2002), Nucleic Acid Analysis, *Currents Protocols in Cytometry*, Unit 7.0.1-7.1.3, Supplement 21.
- DEAN, P. N., (2002), Flow Cytometry Instrumentation, *Currents Protocols in Cytometry*, Unit 1.0.1-1.0.2, Supplement 20.
- DWORZAK, M.N., GAIPA, G., RATEI, R., VELTRONI, A.S., SCHUMICH,A., MAGLIA, O., KARAWAJEW, L., BENETELLO,A., POTCHGER, Z.H., GADNER, H., BIONDI, A., LUDWIG, W.D., BASSO, G. (2008), Standartization of Flow Cytometric Minimal Residual Disease Evaluation in Acute Lymphoblastic Leukemia: Multicentric Assessment Is Feasible, *Cytometry Part B*, 74: 331-340.
- ENGELHARDT, M., LUBBERT, M., GUO, Y. (2002), CD34+ or CD34-: wich is the more primitive?, *Leukemia* 16: 1603-1608.
- EBERHARD, P. (2004), *Genética texto e Atlas*, Introdução p. 1 – 10. 2a edição, Editora ARTMED.
- FUTREAL, A.P., COIN, L., MARSHALL, M., DOWN, T., HUBBARD,T., WOOSTER, R., RAHMAN, N., STRATTON, M., (2004), A census of human cancer genes, *Nature Reviews*, 4: 177-183.
- GE, F., YU, L., LIEW, P.X., HUNG, E. (2007), E Derivation of a novel SARS-coronavirus replicon cell line and its application for anti-SARS drug screening, *Virology* 360: Issue 1-30 p.150-158.
- GREGORIAN, R.S., YANG, B., KESHELAVA, N., BARNHART, J.R., REYNOLDS, C.P. (2007), Flow cytometry Analysis of Single-Strand DNA Damage in Neuroblastoma Cell Lines Using the F7- 26 Monoclonal Antibody, *Citometry Part A* 71: 951-960.
- GOLDFINCH, S., DALE, T., DEROUEN, K. (2003), Science from the periphery: Collaboration, networks and “periphery effects” in the citation of New Zealand Crown Research Institutes articles, 1995-2000, *Scientometrics* 57: 321-337.
- HARRIS, N.L., JAFFE, E.S., DIEBOLD, J., FLANDRIM, G., MULLER-HERMELINK, H.K., VARDIMAN, J., LISTER, T.A., BLOOMFIELD, C.D. (1999), World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting. *J. Clin. Oncol.*, 17(12): 3835-3849.
- HILL, D.L. (2004), Latin America shows rapid rise in S&E articles, *InfoBrief-NSF*, 04-336:1–9. Available from <http://www.nsf.gov/sbe/srs/infbrief/nsf04336/start.htm>

- HOLLMAN, A.B., STIER, J.C., CASLER, M.D., JUNG, G., BRILMAN, L.A. (2005), Identification of putative velvet bentgrass clones using RAPD markers, *Crop Sci* 45: 923-930.
- JANOSSY, G., SHAPIRO, H. (2008), Simplified Cytometry for Routine Monitoring of Infections Diseases, *Cytometry B* 74: (Suppl.1): S6-S10.
- KING, D.A. (2004), The scientific impact of nations. *Nature*, London, 430, n. 15: 311-316.
- KOHLER, G. & MILSTER, C. (1975), Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity, *Nature* 256: 495-497.
- LEIMU, R., KORICHEVA, J., (2005), Does Scientific Collaboration Increase the Impact of Ecological Articles, *BioScience* 5: 438-443.
- LEWISON, G., 2007, The reporting of the risks from genetically modified organisms in the mass media, 2002-2004, *Scientometrics*, 72: 439-458.
- LIMA-RIBEIRO, M.S., NABOUT, J.C., PINTO, M.P., MOURA, I.O., MELO, T.L., COSTA, S.S., RANGEL, T.F.L.V.B. (2007), Análise cienciométrica em ecologia de populações: importância e tendências dos últimos 60 anos, *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. 29: 39-47.
- LOUREIRO, J., SANTOS, C. (2004), Aplicação da Citometria de Fluxo ao estudo do Genoma Vegetal, *Boletim de Biotecnologia*, 77: 18-29.
- MACIAS-CHAPULA, C.A. (1998), O papel da informetria e da cienciométrica e sua perspectiva nacional e internacional. *Ci. Inf., Brasília*, 27:134-140.
- MOÇO, M.K.S., GAMA-RODRIGUES, E.F., GAMA-RODRIGUES, A.C., CORREIA, M.E.F. (2005), Caracterização da fauna edáfica em diferentes coberturas vegetais na região norte fluminense, *R. Bras. Cl. Solo*, 29: 555-564.
- NONATO, M.S.R. (2003), Produção científica: por que medir? O que medir?, *Revista digital de Biblioteconomia e Ciência da informação*, v.1, n.1, p. 22-38.
- NOLAN, J.P., MANDY, F. (2006), Multiplexed and microparticle-based Analyses: quantitative tools for the large-scale analysis of biological systems, *Cytometry A*. 69(5): 318-325.
- ORFAO, A., (2002) Phenotyp Analysis, *Currents Protocols in Cytometry*, Supplement 19 Unit 6.0.1-6.0.2.
- ORFAO, A., RIUZ-ARGUELLES, A., LACOMBE, F., AULT, K., BASSO, G., DANOVA, M. (1995), Flow cytometry: Its applications in Hematology. *Haematologica* 80: 69-81.
- ORMEROD, M. G. (1990), *Flow Cytometry*, IRL PRESS, New York. Chapters in books: 1. CARTER, N.P., MEYER, E.W., Introduction to the principles of flow cytometry, p. 1-28.

- PETERS, R.H. (1991), *A critique for ecology*, Cambridge University Press, Cambridge, New York.
- PINTO, A.C., ANDRADE, J.B.(1999), Fator de impacto de revistas científicas: Qual o significado deste parâmetro?, *Química Nova*, 22: 448-453.
- PRAUSOVA, J., ECKSCHLAGER, T., MRHALOVA, M., SLOBODNIK, A., KUBACKOVA, K., VINAKURAU, S., KODET, R. (2007), Clinical, pathological and molecular characteristics of newly diagnosed breast, *Neoplasma* 54(5):407-12.
- QUIXABEIRA, V.B.L., SADDI, V.A. (2008), Importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: UMA REVISÃO DA LITERATURA. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. 40(3): 199- 202.
- REILLY, J.T., BARNETT, D. (2001), UK NEQAS for leucocyte immunophenotyping: the first 10 years, *J.Clin.Pathol* 54: 508-511.
- ROSAS-TARACO, A.G., REVOL, A., SALINAS-CARMONA, M.C., RENDON, A., CABALLERO-OLIN, G, ARCE-MENDOZA, A.Y., 2007, CD14 C(-159) T polymorphism is a risk factor for development of pulmonary tuberculosis, *J Infect Dis*. 196(11): 1698-706.
- SHAPIRO, H.M. (1995), *Practical Flow Cytometry*, third edition, Wiley-Liss. USA, chapter 1: 1-10.
- SIMONOVIK, B., IVACIC, A., JAKSE, J., BOHANEK, B., 2007, Production and genetic evaluation of interspecific hybrids within the genus *Sambucus*, *Plant Breeding* 126: 628-633.
- STATSOFT, INC. (2005). *STATISTICA* (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.
- STREHL, L., SANTOS, C.A. (2002) Quality indication of scientific activity(Indicadores de qualidade científica) *Ci Hoje* 31(186): 34-39.
- STREHL, L.(2005), O fator de impacto do ISI e a avaliação da produção científica: aspectos conceituais e metodológicos, *Ci. Inf.*, Brasília, 34: 19-27.
- STEINBRICH-ZOLLNER, M., GRUN, J.R., KAISER, T., BIESEN, R., RABA, K., WU, P., THIEL, A., RUDWALEIT, M., SIEPER, J., GERD-RUDIGER, B., RADBRUCH, A., GRUTZKAU, A., 2008, From Transcriptome to Cytome: Integrating Cytometric Profiling, Multivariate Cluster, and Prediction Analyses for a Phenotypical Classification of Inflammatory Diseases, *Cytometry Part A*, 73A:333-340.
- TIEBRE, M.S., BIZOUX, J.P., HARDY, O.J., BAILEY, J.P., MAHY, G. (2007), Hybridization and morphogenetic variation in the invasive alien *Fallopia* (Polygonaceae) complex in Belgium, *American Journal of Botany* 94: 1900-1910.

VANTI, N.A.P. (2002) Da bibliometria à webometria: uma exploração conceitual dos mecanismos utilizados para medir o registro da informação e a difusão do conhecimento, *Ciência Inf. Brasília*, 31: 152-162.