



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

BRUNA RODRIGUES GONTIJO

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DA *CROMOGRANINA A (CHGA)*
EM PACIENTES COM CÂNCER DE TIREOIDE**

BRASÍLIA, 2019



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

BRUNA RODRIGUES GONTIJO

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DA *CROMOGRANINA A*
(*CHGA*) EM PACIENTES COM CÂNCER DE TIREOIDE**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico, Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília.

**Orientador: Caroline Ferreira Fratelli
Coorientador: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva**

BRASÍLIA, 2019

Ficha catalográfica elaborada automaticamente, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

GG641a Gontijo, Bruna Rodrigues
Associação do Polimorfismo Genético da Cromogranina A (CHGA) em pacientes com Câncer de Tireoide / Bruna Rodrigues Gontijo; orientador Caroline Ferreira Fratelli; co orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva. -- Brasília, 2019.
66 p.

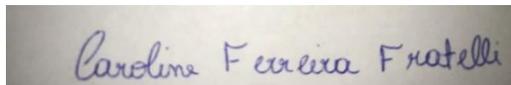
Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2019.

1. Cromogranina A. 2. Polimorfismo Genético. 3. Neoplasias da Glândula Tireoide. I. Fratelli, Caroline Ferreira , orient. II. Silva, Izabel Cristina Rodrigues da , co-orient. III. Título.

BRUNA RODRIGUES GONTIJO

**ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DA CROMOGRANINA A
(CHGA) EM PACIENTES COM CÂNCER DE TIREOIDE.**

BANCA EXAMINADORA



Orientador(a): Esp. Caroline Ferreira Fratelli
(Universidade de Brasília/FCE)



Coorientador(a): Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva
(Universidade de Brasília/FCE)

Profa. MSc. Lígia Canongia de Abreu Cardoso
(Universidade de Brasília/FCE)

Esp. Aline Ribeiro Barros
(Universidade de Brasília/FCE)

BRASÍLIA, 2019

“O segredo da existência não consiste somente em viver, mas em saber para que se vive.”

Fiódor Dostoiévski

Dedico este trabalho a toda a minha família, em especial, aos meus pais e ao meu irmão, onde o amor e o apoio são sinceros e inesgotáveis.

AGRADECIMENTOS

A concretização deste trabalho não teria sido viável sem a cooperação, auxílio e o suporte de diversas pessoas. Gostaria, por este fato, de declarar todo o meu reconhecimento e estima a todos aqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para que este trabalho se tornasse uma realidade. A todos quero expressar os meus sinceros agradecimentos.

Agradeço, primeiramente, a Deus o centro e fundamento de tudo em minha vida, que sempre me manteve de pé para realizar meus sonhos com saúde e força de vontade.

Aos meus queridos pais, Marisolda Rodrigues e Evaldo Gontijo da Silva e ao meu irmão Yago Rodrigues Gontijo aos quais minhas palavras serão insuficientes para demonstrar o tamanho da minha gratidão. Agradeço pela minha vida, por terem proporcionado a educação que me permitiu chegar até aqui, por todas as lições, por compreenderem as minhas decisões e me apoiarem em quaisquer circunstâncias. Obrigado por serem meu porto seguro.

À minha família, que sempre fez de tudo para que eu me realizasse tanto pessoalmente quanto profissionalmente, que me acompanhou nos melhores e nos piores momentos, para nos dar forças e comemorar cada vitória e cada conquista, em especial, a minha avó Maria Albanita da Silva por todo amor, preocupação, auxílio, torcida e orações e a minha tia Neusa Rodrigues Matos juntamente com as minhas primas Giovanna e Giulia pelo incentivo e apoio nesta jornada na minha nova etapa de vida.

À orientadora Caroline Ferreira Fratelli pelo voto de confiança a mim depositado, que sempre me incentivou a fim de assegurar o andamento perfeito da pesquisa. Obrigada pela incessante colaboração, sugestões e correções que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada, sobretudo, por me indicar o caminho para a realização deste sonho; devo isso a você.

Tenho enorme gratidão à Universidade de Brasília e ao seu corpo docente por ter me recebido de braços abertos e com todas as condições que me proporcionaram dias de aprendizagem muito ricos, em especial agradeço a Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, a quem admiro muito, por ter me acolhido e compartilhado um pouco do seu imensurável conhecimento, que me fez inspirar pelo seu trabalho e dedicação ao ensino.

Agradeço também as minhas amigas de pesquisa Isabella Maria Leite e Silva e Ana Beatriz Castro Gonçalves pelo empenho e dedicação durante o desenvolvimento deste trabalho. Vocês foram fundamentais para a minha formação, e por isso merecem meu eterno agradecimento.

E por fim, não posso deixar de agradecer aos meus amigos que fiz da turma XIV de Farmácia – UnB/FCE, todos sem nenhuma exceção, que durante esta caminhada se tornaram meus amigos, partilhando momentos memoráveis. Vocês foram essenciais para meu crescimento acadêmico e pessoal e ofertaram uma contribuição valiosa para a minha jornada acadêmica.

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	12
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS.....	14
CAPÍTULO I	15
1. Introdução	16
2. Referencial teórico	18
2.1 Patogênese molecular dos carcinomas da tireoide	18
2.2 Incidência e mortalidade do câncer de tireoide	21
2.3 Polimorfismos genéticos em Carcinomas da tireoide.....	22
2.4 Cromogranina A	23
3. Justificativa.....	26
4. Objetivos	27
4.1 Objetivo geral	27
4.2 Objetivos Específicos	27
5. Referências	28
CAPITULO II	32
Resumo	34
Abstract.....	35
Introdução.....	36
Material e métodos	37
Levantamento bibliográfico	37
Cálculo da amostra e descrição	37
Comitê de ética, critérios de inclusão e exclusão.....	38
Extração de DNA e genotipagem.....	38
Características clínicas	39
Análise estatística	40
Resultados.....	40
Frequência genotípica e alélica do polimorfismo <i>CHGA</i> Glu264Asp no estudo caso-controle.....	40
Genotipagem e suas associações com as características clínicas dos portadores de CPT submetidos a iodoterapia	41

Discussão	45
Conclusão.....	48
Referências.....	48
ANEXOS	51
Anexo 1 - Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa – Câncer de Tireoide ...	51
Anexo 2 – Normas da revista científica de escolha para publicação – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML)	59

RESUMO

O câncer de tireoide é uma das neoplasias malignas mais recorrentes do sistema endocrinológico, sendo sua incidência três vezes maior em mulheres do que nos homens. A Cromogranina A (CHGA) é uma proteína de secreção ácida, no qual pertence à família das Graninas, sendo também um marcador tumoral em neoplasias endócrinas. O presente estudo teve como objetivo identificar e analisar o polimorfismo na região codante do gene da *CHGA*, em pacientes que apresentam câncer de tireoide submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I^{131}). Foi realizado um estudo transversal, descritivo e de caso controle, no qual foram coletadas amostras de sangue de um grupo controle e de um grupo caso. Essas amostras foram submetidas à técnica laboratorial de *restriction fragment length polymorphism - polymerase chain reaction* (PCR-RFLP) para a sua genotipagem. Foi adotado o nível de significância de 5%. Observou-se que houve diferença estatística significativa na distribuição alélica entre indivíduos com câncer papilífero da tireoide e os sadios, sendo que a presença do alelo G é um fator de risco para esse tipo de câncer de tireoide. Houve, também, correlação entre o genótipo GG com o aumento do nível de TSH em pacientes que apresentavam esta patologia, sendo que níveis altos de TSH têm sido associados ao desenvolvimento desta neoplasia. Portanto, observou-se que o alelo selvagem pode ser um fator de risco para o desenvolvimento do câncer de tireoide, porém, por ser uma doença de etiologia multifatorial, são necessários estudos em populações diferentes para melhor compreensão da doença.

Palavras-chave: Cromogranina A; Polimorfismo Genético; Neoplasias da Glândula Tireoide

ABSTRACT

Thyroid cancer is one of the most recurrent malignant neoplasms of the endocrinological system, and its incidence is three times higher in women than in men. Chromogranin A (CHGA) is an acid secretion protein in which it belongs to the Granin family and is also a tumor marker in endocrine neoplasms. This study aimed to identify and analyze the polymorphism in the coding region of the *CHGA* gene in patients with thyroid cancer undergoing treatment with Sodium Iodide Radiopharmaceutical (I^{131}). A cross-sectional, descriptive and case-control study was performed in which blood samples were collected from a control group and a case group. These samples were submitted to the laboratory technique restriction fragment length polymorphism - polymerase chain reaction (PCR-RFLP) for your genotyping. A significance level of 5% was adopted. There was a statistically significant difference in allelic distribution between papillary thyroid cancer and healthy individuals, and the presence of the G allele is a risk factor for this type of thyroid cancer. There was also a correlation between the GG genotype and the increased TSH level in patients with this condition, and high TSH levels have been associated with the development of this neoplasm. Therefore, it was observed that the wild allele may be a risk factor for the development of thyroid cancer. However, because it is a disease of multifactorial etiology, studies in different populations are necessary to better understand the disease.

Keywords: Chromogranin A; Polymorphism, Genetic; Thyroid Neoplasms

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Oligonucleotídeos utilizados na PCR.....	38
Tabela 2: Distribuição genotípica e alélica do gene <i>CHGA</i> Glu264Asp no grupo caso e no grupo controle.....	40
Tabela 3: Mediana, Percentil 25, Percentil 75 e P-valores das variáveis de Tireoglobulina, TSH e IMC nos pacientes portadores de CPT, conforme genótipo.....	41
Tabela 4: Estudo da associação entre a distribuição da antitireoglobulina (UI/mL), sexo e dose administrada (mCi) do radiofármaco nos pacientes portadores de CPT, conforme genótipo.....	43

LISTA DE ABREVIATURAS

ACTH	Adrenocorticotrófico
CHGA	Cromogranina A
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CPT	Carcinoma Papilífero de Tireoide
ET-1	Endotelina-1
FSH	Hormônio folículo-estimulante
GH	Somatropina
Glu264Asp	Variante genética da Cromogranina A
I ¹³¹	Iodeto de Sódio 131
IMC	Índice de Massa Corpórea
IMEB	Medicina Nuclear Imagens Médicas de Brasília
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LH	Hormônio luteinizante
LNMs	Metástases linfonodais
NET's	Tumores neuroendócrinos
OR	<i>Odds Ratio</i>
PAAF	Punção Aspirativa por Agulha Fina
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PCR-RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism - Polymerase Chain Reaction</i>
PTH	Hormônio da paratireoide
SCIELO	<i>Scientific Electronic Library Online</i>
SNP	Polimorfismo de Nucleotídeo Único
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TKIs	Tirosina quinase
TPO	Enzima tireóide peroxidase
TRH	Hormônio liberador de tireotrofina
TSH	Hormônio estimulador da tireoide

CAPÍTULO I

Apresentação do referencial teórico e dos objetivos

1. Introdução

O câncer de tireoide decorre por meio de nodulação no parênquima tireoidiano (GUARINO et al., 2010). As neoplasias da tireoide são classificadas, histologicamente, em tumores derivados das células foliculares (carcinoma papilar, folicular, pouco diferenciado e anaplásico) e das células C ou parafoliculares (carcinoma medular) (LOPES, 2011).

A incidência do câncer de tireoide se intensificou no decorrer das últimas décadas, tornando-se uma das neoplasias endócrinas mais frequentes (AMY et al., 2015). A neoplasia de tireoide é responsável por 567.000 casos em todo o mundo, ocupando o nono lugar em incidência. Esses índices são mais elevados entre o sexo feminino em detrimento do sexo masculino, sobretudo em regiões de alta incidência, incluindo América do Norte (principalmente no Canadá), Austrália, Nova Zelândia e Ásia Oriental; as taxas femininas também são altas em vários países do Pacífico, incluindo Nova Caledônia e Polinésia Francesa (BRAY et al., 2018).

Segundo os dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA) (2018), no Brasil estimam-se, que para o biênio 2018- 2019, 1.570 casos novos de câncer de tireoide ocorrerão no sexo masculino e 8.040 para o sexo feminino. Com isso, o risco estimado é de 1,49 casos a cada 100 mil homens e 7,57 casos a cada 100 mil mulheres, ocupando a 13ª e quinta posições, respectivamente.

A abordagem inicial para o diagnóstico do nódulo tireoidiano recém-descoberto é a medição do nível sérico do hormônio estimulador da tireoide (TSH), permitindo assim, a diferenciação entre nódulos funcionais e não funcionais. Caso o nível sérico de TSH não esteja em suas concentrações normais, é recomendado um estudo de imagem de medicina nuclear, conhecido como captação da tireoide e digitalização. Neste estudo, se documenta se o nódulo em si é hiperfuncional, isofuncional ou não funcional, em comparação com o tecido tireoidiano circundante (NGUYEN et al., 2015). Um outro diagnóstico é a indicação para realização de Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF) da tireoide, no qual se relaciona com as características ecográficas e dimensão do nódulo. Quando os resultados da PAAF estão associados a um elevado risco de malignidade, não há dúvida da orientação cirúrgica (FERNANDES; PEREIRA; ELOY, 2017).

Quanto ao tratamento das neoplasias tireoidianas, a origem celular do tumor tem importantes implicações para o planejamento da terapêutica e acompanhamento

estratégico (VIOLA et al., 2016). Porém, frequentemente, as opções de tratamento para o câncer de tireoide incluem a tireoidectomia, terapia com iodo radioativo (I^{131}) e terapias direcionadas a moléculas com vários inibidores de tirosina quinase (TKIs) (NGUYEN et al., 2015).

Marcadores tumorais ou biomarcadores são substâncias apresentadas pelo tumor, no sangue ou em outros líquidos biológicos, que podem ser processados, primariamente por ele ou secundariamente pelo paciente, em resposta à presença do tumor. É imprescindível que essa substância seja capaz de especificar/diferenciar tecidos normais de tecidos neoplásicos e que possa ser caracterizada ou quantificada por procedimentos relativamente práticos (CAMPOS, 2010).

A etiologia do câncer de tireoide não é bem conhecida. O único fator de risco bem estabelecido para o câncer de tireoide é radiação ionizante, particularmente quando a exposição é na infância, embora haja evidências de que outros fatores (obesidade, tabagismo, exposições hormonais e certos riscos ambientais poluentes) podem desempenhar um papel (BRAY et al., 2018). Além do mais, os resultados dos estudos de sequenciamento de DNA do câncer de tireoide revelaram a base genética para a maioria dos cânceres de tireoide (CABANILLAS et al., 2016).

A Cromogranina A é uma proteína de secreção ácida compondo à família das Graninas, sendo também um marcador tumoral com utilidade em neoplasias endócrinas. Ela é armazenada em vesículas secretoras com outros tipos de neurotransmissores e hormônios peptídicos (KOGAWA et al., 2016). O gene *CHGA* humano está localizado no cromossomo 14q32.12 (D'AMICO et al., 2014).

2. Referencial teórico

2.1 Patogênese molecular dos carcinomas da tireoide

A glândula da tireoide é composta por dois tipos celulares produtores de hormônio: foliculares e células C derivadas da crista neural. As células foliculares possuem origem epitelial e são responsáveis pelos hormônios tireoidianos triiodotironina (T3) e tiroxina (T4). Enquanto isso, as células C derivadas da crista neural produzem o hormônio calcitonina. Os hormônios T3 e T4 regulam o metabolismo do corpo, pois, no geral, eles aumentam o metabolismo das proteínas, dos lipídeos e dos carboidratos (OLIVEIRA FILHO, 2017). Além dessa característica, esses dois hormônios elevam o consumo de oxigênio e a produção de calor, manifestada por uma elevação na taxa metabólica basal (MEZZOMO; NADAL, 2016).

A função da tireoide é controlada por uma glândula no cérebro conhecida como pituitária ou hipófise. Esta glândula comanda a produção do hormônio tireoestimulante (TSH), o qual promove a formação de triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) (VALENTE, 2013). O hipotálamo secreta o hormônio liberador de tireotrofina (TRH) que atinge a hipófise anterior decorrente da circulação portal hipofisária. A ativação dos receptores TRH ocasiona a liberação de TSH, ativando, assim, seus próprios receptores nas células foliculares da glândula tireoide. Com isso, promove o aumento da captação celular de iodo do sangue, aumento da síntese de tireoglobulina e secreção na corrente sanguínea de T3 e T4, via ativação da enzima tireoide peroxidase (TPO). Os circuitos de feedback negativo resultam em uma relação inversa entre os níveis séricos dos hormônios da tireoide e o TSH (RAZVI; BHANA; MRABETI, 2019).

A homeostase do cálcio é regulada pelas glândulas da paratireoide, o qual estão localizadas no pescoço, perto da glândula tireoide. Manter um nível apropriado e estável de cálcio sérico é imprescindível para a função muscular adequada, neurotransmissão e secreção de enzimas e hormônios, entre diversas finalidades. Essas glândulas expressam receptores sensíveis ao cálcio que monitoram a concentração do cálcio sérico. Quando é identificado os níveis de cálcio reduzidos, as paratireoides secretam o hormônio da paratireoide (PTH), que se comunica com os receptores acoplados à proteína G, das células ósseas, para liberar cálcio, de ossos longos, na corrente sanguínea. No rim, o PTH eleva a reabsorção de cálcio no membro ascendente da alça de Henle e no tubo distal, e aumenta a excreção de fosfato

inorgânico na urina. Quando as paratireoides não funcionam adequadamente, a homeostase do cálcio/fósforo é interrompido, resultando em distúrbios como o hiperparatireoidismo ou hipoparatireoidismo (PEISSIG; CONDIE; MANLEY, 2018).

Os nódulos da tireoide podem ser derivados do aumento do tecido tireoidiano focal, conhecido como bócio nodular, ou de fluidos em cistos tireoidianos, constituindo um processo inflamatório local, uma neoplasia benigna (adenoma) ou um câncer de tireoide (CONCEIÇÃO et al., 2015). As neoplasias da tireoide são classificadas pela sua forma histológica, subdividindo-se em tumores derivados das células foliculares (carcinoma papilar, folicular e anaplásico) e das células C ou parafoliculares (carcinoma medular) (LOPES, 2011).

O carcinoma papilífero da tireoide possui uma elevada possibilidade de cura e a análise do prognóstico é fielmente relacionada à evolução da doença (NEMETZ et al., 2011). Esse tipo de carcinoma apresenta lesões únicas ou multifocais, podendo estar bem circunscritas e até mesmo encapsuladas. Embora a maioria seja infiltrativa do parênquima adjacente, apresenta margens mal definidas e, ocasionalmente, pode-se notar áreas de fibrose e calcificação, além de áreas císticas (LOPES, 2011). Desta forma, dentre os carcinomas tireoidianos, o do tipo papilar é o que tem uma menor dificuldade em seu diagnóstico. Com uma amostra apropriada, a eficiência diagnóstica fica em torno de 90% devido as consideráveis características nucleares deste carcinoma, que são facilmente observadas no exame patológico (OLIVEIRA FILHO, 2017).

Enquanto o carcinoma papilífero da tireoide progride, geralmente através da via linfática, o carcinoma folicular é constituído por nódulos únicos que podem estar bem circunscrito ou ser amplamente infiltrantes (CERDAS, 2014). Sendo assim, pacientes com maior extensão ou maior risco de recorrência são tratados de forma mais agressiva e com um acompanhamento mais próximo. Entretanto, em tumores localizados e considerados de baixo risco, têm-se um tratamento mais conservador que demonstra ser eficaz. A incidência da neoplasia folicular de tireoide está intimamente relacionada ao déficit iodo, sendo necessário a suplementação (RÍOS et al., 2015).

O carcinoma anaplásico representa, aproximadamente, 2% dos tumores malignos da tireoide, com uma incidência de aproximadamente um a dois casos por um milhão de habitantes, sendo mais comum em países da Europa e da América Latina (DAL PIZZOL, 2009). O seu desenvolvimento é raro e decorre devido as

mutações que fazem com que a célula tumoral perca toda a diferenciação e limitação de crescimento (WILLIAMS, 2015). O carcinoma anaplásico caracteriza-se por uma mistura de fuso, células gigantes pleomórficas e epitelióides. Este tipo de carcinoma indiferenciado tem comportamento extremamente agressivo, independentemente do tipo de tratamento, embora o reconhecimento de suas características clínico-patológicas seja importante para definir melhor tratamento (RODRIGUES et al., 2012).

O câncer de tireoide medular é incomum, sendo responsável por 1-2% de todos os cânceres de tireoide. Diferentemente dos cânceres diferenciados de tireoide, o medular origina-se nas células neuroendócrinas parafoliculares da tireoide. É mais frequente, sendo um nódulo tireoidiano solitário, em pacientes idosos (CABANILLAS et al., 2016). Na forma particular da doença são encontrados três subtipos divergentes, denominados Neoplasias Endócrinas Múltiplas do tipo II (MEN II - *Multiple Endocrine Neoplasia, Type II*), e definidos em função da combinação dos tecidos afetados e da presença/ausência de anormalidades em seu desenvolvimento. O padrão de herança observado para as três formas é o autossômico dominante com penetrância incompleta, sendo usualmente a neoplasia medular da tireoide, a primeira manifestação clínica (RODRIGUES et al., 2012). O tecido do tumor é firme, cinzento pálido a castanho e infiltrativo. Na sua forma histológica, essa neoplasia pode mostrar inúmeros padrões de crescimento como lobular, insular, trabecular, sólido e raramente folicular ou papilar, e apresentam depósitos de amiloide no estroma na maioria dos casos. O núcleo apresenta células pleomórficas (CERDAS, 2014).

Em relação ao diagnóstico do nódulo tireoidiano, a estratégia inicial deve abordar uma história detalhada e significativa do paciente, além do exame físico. Os exames laboratoriais devem se iniciar com a dosagem do TSH sérico. Além disso, a ultrassonografia de tireoide deve ser realizada em todos aqueles pacientes que apresentam suspeita da patologia, para que assim, se possa comprovar a presença do nódulo, avaliar nódulos adicionais e linfonodos cervicais, além de analisar as características suspeitas. Após estes estudos, um próximo passo ao diagnóstico seria a biopsia por aspiração por agulha fina (PAAF), sendo recomendada em nódulos maiores que 1 cm com características de alta suspeita (nódulo hipoecóico sólido ou componente hipoecóico sólido de um nódulo parcialmente cístico, no qual apresentam margem ou microcalcificação irregular ou calcificação da borda ou evidência de extra-extensão tireoidiana) ou nódulos maiores que 1 cm com características intermediárias de suspeita (nódulo sólido hipoecóico com margens lisas sem microcalcificação,

extensão extra-tireoidiana ou formato mais alto do que o largo (TAMHANE; GHARIB, 2016). A PAAF é o teste diagnóstico mais indicado no estudo de nódulo tireoidiano, pois proporciona as informações mais diretas e específicas sobre sua natureza e eventual indicação de tratamento cirúrgico (ROLDÁN CABALLERO et al., 2012).

O tratamento das neoplasias de tireoide compõe-se de cirurgia, seguida da ablação do tecido remanescente com tratamento iodoterápico (I^{131}) e terapêutica substitutiva com levotiroxina de forma contínua (DE ABREU et al., 2011). A emissão beta do radioiodo desestabiliza as ligações químicas em toda a célula, acarretando prejuízos na molécula de DNA, estimulando assim, a disfunção celular e, por fim, a morte das células foliculares da tireoide (SUNDARAM et al., 2011). A grande aplicação clínica deve-se pela agilidade com que o I^{131} é absorvido pelos restos do tecido tireoidiano, conferindo uma indicação da atividade dos tecidos remanescentes do paciente (OKAZAKI et al., 2015). A melhor escolha dos valores administrados do I^{131} depende da situação de cada paciente e é imprescindível para o sucesso do tratamento, assim como para o bem-estar destes pacientes (JÚNIOR et al., 2012).

2.2 Incidência e mortalidade do câncer de tireoide

O câncer de tireoide é denominado como uma das neoplasias malignas mais recorrentes do sistema endocrinológico. Apesar de ser uma patologia relativamente rara, é responsável por cerca de 1% dos recentes casos de doença maligna (TANG; LEE, 2010). Nos Estados Unidos, entre os sexos feminino e masculino, no período de 2006 a 2010, aumentos anuais aconteceram para o câncer de tireoide (5,4% e 6,5% em homens e mulheres, respectivamente) (SIEGEL et al., 2014). Em relação aos fatores de riscos, estão possivelmente associados à ocorrência dessa neoplasia, o histórico familiar, exposições a agentes mutagênicos como radiação, agentes químicos ou biológicos, estilo de vida, incluindo dieta e atividade física, obesidade, alcoolismo, tabagismo, diabetes mellitus, resistência à insulina e estresse (PELLEGRITI et al., 2013).

Segundo dados do INCA (2018), para cada ano do biênio 2018-2019, foram pressupostos para o Brasil cerca de 1.570 casos novos de câncer de tireoide no sexo masculino e 8.040 para o sexo feminino. O risco estimado foi de 1,49 casos a cada

100 mil homens e 7,57 casos a cada 100 mil mulheres. O aumento da incidência pode ser devido a uma combinação de procedimentos diagnósticos mais sensíveis e de uma possível consequência do crescimento da exposição da população à radiação e a outros carcinogênicos ainda não reconhecidos (PELLEGRITI et al., 2013). Grande parte dos carcinomas da tireoide, principalmente os diferenciados, são relativamente indolentes e com elevada taxa de cura, pois o tratamento cirúrgico padrão, em conjunto com a terapia com iodo radioativo, demonstra ser eficaz na maioria dos portadores e possibilita, no câncer papilar de tireoide, que a sobrevida aos 10 anos se exceda de 90-95% (LOPES, 2011).

A tendência da mortalidade por câncer de tireoide é de declínio em quase todas as regiões do mundo. Segundo estudo de La Vecchia e colaboradores (2015), no qual avaliaram a tendência da mortalidade do câncer de tireoide em vários países, verificaram um padrão de declínio para o sexo masculino nas últimas décadas, exceto os Estados Unidos, que teve redução até meados de 1980 e um aumento posterior. Na Espanha, houve um crescimento de casos até o início dos anos 90 e obteve a estabilidade no período subsequente. Também para o sexo feminino, verificou uma queda para a maioria das regiões analisadas, exceto no Reino Unido, nos Estados Unidos e na Austrália, onde a mortalidade declinou até o final das décadas de 80 e 90 e se estabilizou ou mesmo aumentou posteriormente. Os declínios na mortalidade por câncer de tireoide devem-se a redução da exposição aos fatores de risco como deficiência de iodo ou ingestão excessiva de iodo na dieta e radiação ionizante. Observou-se também que a redução de mortalidade se deve a melhoria de diagnóstico, manejo e tratamento da doença.

2.3 Polimorfismos genéticos em Carcinomas da tireoide

A identificação de polimorfismos genéticos é imprescindível para entender os mecanismos envolvidos na carcinogênese tireoidiana (REIS, 2010). Recentes estudos de alterações genéticas relacionados aos carcinomas de tireoide vêm auxiliando na caracterização da patogênese molecular dos carcinomas e seus subtipos. As desordens genéticas derivadas destes tumores abrangem vias heterogêneas de patogênese, tais como: mutações que ativam a sinalização celular, anormalidades dos

genes supressores de tumores e das proteínas reguladoras do ciclo celular. Desta forma, polimorfismos genéticos podem induzir o desenvolvimento de nódulos tireoidianos malignos, indicando que a patogênese destes tumores pode ser devida à exposição contínua aos fatores ambientais vinculadas a susceptibilidade genética (REIS et al., 2012).

O polimorfismo de nucleotídeo único (*single-nucleotide polymorphism* - SNP) é uma das maneiras mais frequente e constante nas variações genéticas no DNA genômico humano. Com a evolução da terapia genética, a clínica, o diagnóstico e biologia molecular, os SNPs são considerados não apenas um marcador genético no estudo do metabolismo de drogas relacionadas ao câncer reatividade, mas também uma ferramenta fundamental na identificação de genes causadores de doenças hereditárias (LIU et al., 2011). Como são mutações que são derivadas da substituição de apenas uma única base de nucleotídeo, os SNPs são mais difíceis de detectar, sendo necessários métodos que permitam uma alta especificidade para ser capaz de distinguir a mutação dos nucleotídeos (MATSUDA, 2017).

Entre os polimorfismos genéticos mais importantes e bem estudados para o câncer de tireoide, estão a mutação *BRAFV600E*, em carcinoma papilífero da tireoide, e mutações *RAS PAX8/PPARG*, *PTEN*, *PI3K/AKT* e *IDH* no carcinoma folicular da tireoide (ALZHRANI et al., 2019).

2.4 Cromogranina A

A Cromogranina A (CHGA) é pertecente da família da cromogranina-secretogranina, também conhecido como graninas, que compreende um grupo de proteínas caracterizadas pelo seu perfil ácido. Além disso, essa glicoproteína é armazenada em grânulos de secreção (BROEDBAEK; HILSTED, 2016).

Essa glicoproteína apresenta 439-amino proteína ácida com peso molecular de 48 kDa, derivado de pré-CgA (uma pré-proteína de 457 aminoácidos), no qual seu gene está localizado no locus 14q32.12. A CHGA atua como um pro-hormônio, e após sofrer variações pós-traducionais, como glicosilação, fosforilação, ou sulfatação e/ou processamento proteolítico específico do tecido, ocasiona o surgimento de peptídeos biologicamente ativos que participam de diversos papéis fisiológicos, como a

regulação inibitória direta ou indireta por meio de vias parácrinas ou endócrinas (PÉREZ; FREIXES, 2013).

As clivagens da CHGA podem fornecer diversos peptídeos biologicamente ativos como as vasostatinas, cromofungina, pancreastatina, catestatina, parastatina (D'AMICO et al, 2014). As vasostatina-I opera como um promotor de homeostase do cálcio plasmático, tensão vascular, barreira endotelial integridade e funções cardíacas. Além disso, também está envolvido na defesa contra microrganismos invasores, em reações inflamatórias, no alívio da dor e na supressão de motilidade gastrointestinal e crescimento tumoral. Enquanto isso, a cromofungina é um fungistático, pois penetra nas monocamadas de fosfolipídios dos fungos ocasionando a parada de seu crescimento. As pancreastatinas atuam na inibição da estimulação da glicose, secreção de insulina das células B das ilhotas de Langerhans. As catestatinas inibem a liberação de catecolaminas da adrenal, tendo como efeito na regulação central do controle cardiovascular autonômico. A parastatina é um modulador da função celular da paratireoide (TROGER et al., 2017).

Acreditam-se que as graninas possuem relevantes funções intra e extracelulares. No interior das células, as graninas cooperam para a formação das vesículas secretoras, auxiliam na formação de complexos de armazenamento e exercem um papel imprescindível na classificação de outras proteínas secretoras. Além disso, as graninas podem operar como pró hormônios que, por processamento proteolítico, dão início a inúmeros peptídeos bioativos com abundantes funções autócrinas, parácrinas e endócrinas putativas (BROEDBAEK; HILSTED, 2016). A taxa de processamento e o padrão da CHGA variam em uma forma específica do tecido. Na medula adrenal e anterior hipófise, a taxa e processamento são baixas, enquanto, no pâncreas e nos tecidos gastrointestinais, ela é processada de forma mais rápida e extensiva. Esse processamento proteolítico da glicoproteína em questão, também pode acontecer posterior a sua liberação células neuroendócrinas (D'AMICO et al, 2014). A Cromogranina A é vista como marcador sérico mais importante para a maioria dos tumores neuroendócrinos (NETs), apresentando sensibilidade e especificidade entre 60 e 90% (OBERG et al., 2017).

Diversos estudos tentam estabelecer a possível correlação entre o polimorfismo da CHGA com diversas neoplasias. Ma e seus colaboradores (2010) realizaram um estudo na população japonesa contendo 435 voluntários com câncer de próstata e 316 controles. Um dos resultados mostraram que homens com o

genótipo GG para o polimorfismo na região codante Glu264Asp apresentaram risco 2,05 vezes maior de câncer de próstata que homens com o genótipo CC. No mesmo estudo, analisou-se o polimorfismo da *CHGA* na região promotora e observou que não houve associação dos níveis da proteína CHGA com o ET-1 (Endotelina-1), o que é divergente de alguns estudos, e apresenta que um dos motivos desta discordância deve se aos métodos de medicação e a escolha da idade dos pacientes neste estudo (homens apresentaram idade superior a 60 anos).

Em Liu e seus colaboradores (2017), em um estudo de coorte prospectivo e observacional, realizado na china, avaliaram 357 pacientes críticos que apresentavam pancreatite, pneumonia e envenenamento. Neste estudo, observaram dois polimorfismos ocasionados na substituição de uma única base de nucleotídeo na região promotora do gene da *CHGA*, -462 T / C (rs9658634) e -415 A / G (rs9658635) e 4 polimorfismos da região de codificação do exon 7 da *CHGA*, +9559 A / G (rs9658667), +9578 C / T (rs9658668), +9590 A / G (rs9658669) e +9611 T / C (rs729940), sendo analisada a correlação entre o genótipo e o prognóstico desses pacientes. Como resultado a análise de sobrevivência mostrou que houve diferenças significativas entre o grupo de mutação *CHGA*-415 T / C (incluindo os genótipos TC e CC) e o grupo do tipo selvagem (genótipo TT) ($P = 0,003$). No quesito mortalidade, o grupo mutante foi significativamente maior do que no grupo selvagem ($P = 0,004$). O estudo mostrou que o polimorfismo *CHGA*-415 T / C era um fator de risco independente para a mortalidade de pacientes críticos (Odds Ratio = 2,286; $P = 0,016$).

3. Justificativa

A tumorigênese está associada ao acúmulo progressivo de alterações genéticas em uma célula normal. Em geral, as alterações genéticas resultam na perda de controle da proliferação e na aquisição de características associadas com a progressão tumoral. Desta forma, o câncer pode ser considerado uma doença multifatorial, que envolve tanto os fatores ambientais, quanto genéticos, que resulta de alterações sequenciais em genes relacionados à proliferação e diferenciação celular (REIS, 2010).

Um dos produtos destas alterações genéticas são os polimorfismos e são usualmente referidos pelo tipo de mutação que os gerou. O progresso e uso de marcadores moleculares para a detecção e exploração desses polimorfismos é um dos avanços mais significativos no campo da genética molecular. Isso se deve ao fato de que a utilização de marcadores localizados no DNA fornece diversas informações distribuídas aleatoriamente ao longo do genoma (TURCHETTO-ZOLET, 2017).

Sendo assim, a percepção da associação entre o polimorfismo da *Cromogranina A* e a susceptibilidade ao câncer de tireoide pode promover a identificação de fatores de risco para determinados grupos de indivíduos, auxiliando, desta forma, no estabelecimento de novas formas de diagnóstico precoce, tratamento e qualidade de vida dos pacientes.

4. Objetivos

4.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo é identificar a distribuição do polimorfismo genético na região codante da *CHGA* Glu 264 Asp, em participantes portadores do câncer da tireoide que serão submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I^{131}), além de associar o polimorfismo da *CHGA* Glu 264 Asp com as características clínicas da doença.

4.2 Objetivos Específicos

- a) Realizar uma revisão bibliográfica sobre o polimorfismo *CHGA* Glu 264 Asp;
- b) Padronizar e executar as estratégias de biologia molecular (PCR e digestão enzimática) para estudo da frequência do polimorfismo *CHGA* Glu 264 Asp em participantes portadores do câncer da tireoide que serão submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I^{131});
- c) Investigar a possível associação entre o polimorfismo *CHGA* Glu 264 Asp em participantes portadores do câncer da tireoide que serão submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I^{131}) com suas diferentes manifestações clínicas.

5. Referências

ALZHRANI, Ali S. et al. Absence of EIF1AX, PPM1D, and CHEK2 mutations reported in Thyroid Cancer Genome Atlas (TCGA) in a large series of thyroid cancer. **Endocrine**, v. 63, n. 1, p. 94-100, 2019.

BROEDBAEK, Kasper; HILSTED, Linda. Chromogranin A as biomarker in diabetes. **Biomarkers in medicine**, v. 10, n. 11, p. 1181-1189, 2016.

BRAY, Freddie et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 68, n. 6, p. 394-424, 2018.

CABALLERO, P. Roldán et al. Protocolo diagnóstico y terapéutico del nódulo tiroideo. **Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v. 11, n. 14, p. 836-839, 2012.

CABANILLAS, Maria E.; MCFADDEN, David G.; DURANTE, Cosimo. Thyroid cancer. **The Lancet**, v. 388, n. 10061, p. 2783-2795, 2016.

CAMPOS, Liliane Cunha. AVALIAÇÃO DE MARCADORES TUMORAIS SÉRICOS EM CADELAS COM E SEM METÁSTASE EM CÂNCER DE MAMA. 2010. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Patologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

CERDAS, Alberth Elizondo. Histopatología del cáncer de tiroides. **Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica**, v. 71, n. 610, p. 253-258, 2014.

CHIOFALO, Maria Grazia et al. Great veins invasion in follicular thyroid cancer: single-centre study assessing prevalence and clinical outcome. **Endocrine**, v. 62, n. 1, p. 71-75, 2018.

DA CONCEIÇÃO, Thaylla Maybe Bedinot et al. Relação dos níveis do hormônio estimulante da tireóide (TSH) com a malignidade dos nódulos de tireóide. **Arquivos Catarinenses de Medicina**, v. 44, n. 4, p. 3-20, 2016.

DA SILVA REIS, Angela Adamski et al. Polimorfismo de TP53 nos Carcinomas Tiroideanos: estudo molecular e meta-análise. **Revista EVS-Revista de Ciências Ambientais e Saúde**, v. 39, n. 2, p. 209-222, 2012.

DA SILVA REIS, Angela Adamski. Estudo da associação do polimorfismo genético em carcinomas da tireóide. **Revista de Biologia Neotropical/Journal of Neotropical Biology**, v. 7, n. 1, p. 61-62, 2010.

DAL PIZZOL, Alexandre César et al. Carcinoma anaplásico de tireóide: experiência do Hospital Erasto Gaertner. **Rev. Bras. Cir. Cabeça Pescoço**, v. 38, n. 3, p. 145-148, 2009.

D'AMICO, Maria Angela et al. Biological function and clinical relevance of chromogranin A and derived peptides. **Endocrine connections**, v. 3, n. 2, p. R45-R54, 2014.

DE ALMEIDA, José Ricardo Chamhum et al. Marcadores tumorais: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 305-316, 2007.
DELELLIS, Ronald A. Pathology and genetics of thyroid carcinoma. **Journal of surgical oncology**, v. 94, n. 8, p. 662-669, 2006.

DEMA, Bárbara et al. Association of IL18RAP and CCR3 with coeliac disease in the Spanish population. **Journal of medical genetics**, v. 46, n. 9, p. 617-619, 2009.

FALCONI, Massimo et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine neoplasms of the digestive system: well-differentiated pancreatic non-functioning tumors. **Neuroendocrinology**, v. 95, n. 2, p. 120-134, 2012.

FERLAY, Jacques et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **International journal of cancer**, v. 136, n. 5, p. E359-E386, 2015.

FERNANDES, Vera; PEREIRA, Tânia; ELOY, Catarina. Fine-needle Aspiration of Thyroid Nodules: Is it Worth Repeating?. **Acta medica portuguesa**, v. 30, n. 6, p. 472-478, 2017.

GOLBERT, Lenara et al. Differentiated thyroid carcinoma: initial evaluation and follow-up. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n. 5, p. 701-710, 2005.

GUARINO V, Castellone MD, Svilla E, Melillo RM. Thyroid cancer and inflammation. **Mol Cell Endocrinol**. 2010; 321(1): 94-112.

HANDKIEWICZ-JUNAK D, CZARNIECKA A, JARZAB B: Molecular prognostic markers in papillary and follicular thyroid cancer: Current status and future directions. **Mol Cell Endocrinol** 2010, doi:10.1016/j.mce.2010.01.007

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Sínteses de resultados e comentários: câncer da glândula tireoide. Estimativa 2016/2017 e 2018/2019: incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2014>>. Acesso em: 14 de novembro de 2017.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ DE ALENCAR GOMES DA SILVA (INCA). Neoplasia maligna da glândula tireoide. Disponível em: <www1.inca.gov.br/estimativa/2018/mapa-glandula-tireoide.asp>. Acesso em: 12 de maio de 2018.

LA VECCHIA, Carlo et al. Thyroid cancer mortality and incidence: a global overview. **International journal of cancer**, v. 136, n. 9, p. 2187-2195, 2015.

LIU, Jing-Lun et al. Correlation study on chromogranin A genetic polymorphism and prognosis of critically ill patients. **Journal of critical care**, v. 39, p. 137-142, 2017.

LIU, Meng et al. A graphene-based platform for single nucleotide polymorphism (SNP) genotyping. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, n. 10, p. 4213-4216, 2011.

LOPES, J. Pedro; FONSECA, E. BRAF gene mutation in the natural history of papillary thyroid carcinoma: diagnostic and prognostic implications. *Acta medica portuguesa*, v. 24, p. 855-68, 2011.

MA, Zhiyong et al. Clinical significance of polymorphism and expression of chromogranin a and endothelin-1 in prostate cancer. **The Journal of urology**, v. 184, n. 3, p. 1182-1188, 2010.

MANNU, C. et al. Comparison of different DNA extraction methods from peripheral blood cells: advice from the Fondazione Italiana Linfomi Minimal Residual Disease Network. **Leuk Lymphoma**, p. 1-11, Mar 11 2015. ISSN 1029-2403 (Electronic) 1026-8022 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25115509> >.

MATSUDA, Kazuyuki. PCR-based detection methods for single-nucleotide polymorphism or mutation: real-time PCR and its substantial contribution toward technological refinement. In: **Advances in clinical chemistry**. Elsevier, 2017. p. 45-72.

NEMETZ, Marcos Antônio; NEMETZ, Ana Beduschi; SANTOS, Marcela Bonalumi dos. Carcinoma papilífero da glândula tireóide: uma análise retrospectiva de 52 casos. **Rev Bras Cir Cabeça Pescoço**, v. 40, n. 1, p. 1-4, 2011.

NGUYEN, Quang T. et al. Diagnosis and treatment of patients with thyroid cancer. **American health & drug benefits**, v. 8, n. 1, p. 30, 2015.

ÖBERG, Kjell. 1. Neuroendocrine tumors (NETs): historical overview and epidemiology. **Tumori Journal**, v. 96, n. 5, p. 797-801, 2010
OLIVEIRA FILHO, Josélio Soares de. **Aspectos epidemiológicos e anatomopatológicos de nódulos da tireoide**. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

PEISSIG, Kristen; CONDIE, Brian G.; MANLEY, Nancy R. Embryology of the Parathyroid Glands. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, v. 47, n. 4, p. 733-742, 2018.

PELLEGRITI, Gabriella et al. Worldwide increasing incidence of thyroid cancer: update on epidemiology and risk factors. **Journal of cancer epidemiology**, v. 2013, 2013.

PÉREZ, José Ángel Díaz; FREIXES, Maria Currás. Chromogranin A and neuroendocrine tumors. **Endocrinología y Nutrición (English Edition)**, v. 60, n. 7, p. 386-395, 2013.

RAZVI, Salman; BHANA, Sindeep; MRABETI, Sanaa. Challenges in Interpreting Thyroid Stimulating Hormone Results in the Diagnosis of Thyroid Dysfunction. **Journal of thyroid research**, v. 2019, 2019.

RÍOS, Antonio; RODRÍGUEZ, José M.; PARRILLA, Pascual. Tratamiento del carcinoma folicular de tiroides. **Cirugía Española**, v. 93, n. 10, p. 611-618, 2015.

RODRIGUES, André Afonso Nimitz et al. Carcinoma medular de tireoide. **Revista de Ciências Médicas**, v. 19, n. 1/6, p. 91-97, 2012.

SIEGEL, Rebecca et al. Cancer statistics, 2014. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 64, n. 1, p. 9-29, 2014. SIEGEL, Rebecca et al. Cancer statistics, 2014. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 64, n. 1, p. 9-29, 2014.

TAMHANE, Shrikant; GHARIB, Hossein. Thyroid nodule update on diagnosis and management. **Clinical diabetes and endocrinology**, v. 2, n. 1, p. 17, 2016.

TANG KT, LEE CH: BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma: pathogenic role and clinical implications. **J Chin Med Assoc** 2010;73:113-128

TROGER, Josef et al. Granin-derived peptides. **Progress in neurobiology**, v. 154, p. 37-61, 2017.

TURCHETTO-ZOLET, Andreia Carina et al. Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações. **Editora SBG Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto, SP**, v. 181, 2017.

VALENTE, Orsine. Rastreamento diagnóstico das principais disfunções da tireoide. **Diagnóstico Tratamento**, v. 18, n. 1, p. 49-51, 2013.

VEIGA, Lene HS et al. Thyroid cancer incidence patterns in Sao Paulo, Brazil, and the US SEER program, 1997–2008. **Thyroid**, v. 23, n. 6, p. 748-757, 2013.

VIOLA, David et al. Treatment of advanced thyroid cancer with targeted therapies: ten years of experience. **Endocrine-related cancer**, v. 23, n. 4, p. R185-R205, 2016.

WARD, Laura S.; ASSUMPCAO, Lígia V.M.. Câncer diferenciado da tiróide: fatores prognósticos e tratamento. **Arq Bras Endocrinol Metab**, São Paulo , v. 48, n. 1, p. 126-136, Feb. 2004 . Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27302004000100014&lng=en&nrm=iso>. access on 12 May 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302004000100014>.

WILLIAMS, Dillwyn. Crescimento da tireóide e câncer. **Jornal europeu da tiróide** , v. 4, n. 3, p. 164-173, 2015.

CAPITULO II

**Artigo a ser submetido à Revista Brazilian Journal of Pathology and Laboratory
Medicine (JBPML)**

ARTIGO

Título: ASSOCIAÇÃO DO POLIMORFISMO GENÉTICO DA *CROMOGRANINA A (CHGA)* COM PACIENTES PORTADORES DE CÂNCER DE TIREOIDE.

Autores: Bruna Rodrigues Gontijo¹, Isabella Maria Leite e Silva¹, Ana Beatriz Castro Gonçalves¹, Rafael M. de Moraes², Alaor B. Sobrinho², Otavio de T. Nóbrega¹, Jamila R. de Oliveira¹, Izabel Cristina R. da Silva^{1*}, Caroline F. Fratelli¹

Afiliações:

1. Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brazil;
2. Imagens Médicas de Brasília (IMEB), Brasília, DF, Brazil;

***Autor correspondente:**

Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva.

Endereço: Campus Universitário, s/n, Centro Metropolitano, Brasília-DF, 72220-275.

Telefone: (61) 3107-8400

E-mail: belbiomedica@gmail.com

Resumo

Introdução: O câncer de tireoide é a neoplasia endócrina mais comum e a sua incidência tem crescido, em inúmeros países, nas últimas décadas. A Cromogranina A (CHGA) é usada como marcador diagnóstico e para monitorar comportamento do tumor endócrino.

Objetivo: Descrever a presença do polimorfismo da região codante do gene *CHGA* Glu 264 Asp, em pacientes que possuem câncer de tireoide submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I^{131}).

Métodos: Realizou um estudo transversal, descritivo e de caso controle para investigar o polimorfismo da *CHGA* Glu 264 Asp, em um grupo caso e em um grupo controle. O grupo caso, portador da patologia, era formado por 23 pacientes de ambos os sexos que sofreram a tireoidectomia e que foram submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I^{131}). Para a genotipagem foi utilizada a técnica PCR-RFLP (*restriction fragment length polymorphism -polymerase chain reaction*). Foi adotado o nível de significância de 5%.

Resultados: Houve diferença estatística significativa na distribuição alélica entre indivíduos com câncer papilífero da tireoide e os sadios. Com tudo, a presença do alelo G é um fator de risco para o câncer papilífero da tireoide. Observou-se uma correlação entre o genótipo GG com o aumento do nível de TSH em pacientes que apresentavam essa patologia.

Conclusão: Demonstrou-se que o alelo selvagem pode ser um fator de risco para o desenvolvimento da neoplasia tireoidiana do tipo papilar. Por ser uma doença de etiologia multifatorial, são necessários outros estudos em populações diferentes para melhor compreensão da doença.

Palavras-chave: Cromogranina A; Polimorfismo Genético; Neoplasias da Glândula Tireoide

Abstract

Introduction: Thyroid cancer is the most common endocrine cancer and its incidence has been increasing in many countries over the last decades. Chromogranin A (CHGA) is used as a diagnostic marker and for monitoring endocrine tumor behavior.

Objective: To describe the presence of the coding region polymorphism of the CHGA Glu 264 Asp gene in patients with thyroid cancer undergoing treatment with Sodium Iodide Radiopharmaceutical (I^{131}).

Methods: A cross-sectional, descriptive, and case-control study was conducted to investigate the CHGA Glu 264 Asp polymorphism in a case group and a control group. Therefore, the case group, with the pathology, was made up of 23 patients of both sexes who underwent thyroidectomy and who underwent treatment with Radiopharmaceutical Sodium Iodide (I^{131}). For genotyping the technique PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism-polymerase chain reaction) was used.

Results: There was a statistically significant difference in allelic distribution between papillary thyroid cancer and healthy individuals. However, the presence of the G allele is a risk factor for papillary thyroid cancer. In addition, a correlation between the GG genotype and the increased TSH level was observed in patients with this pathology.

Conclusion: It has been shown that the wild allele may be a risk factor for the development of papillary thyroid neoplasia. Because it is a disease of multifactorial etiology, further studies in different populations are needed to better understand the disease.

Keywords: Chromogranin A; Polymorphism, Genetic; Thyroid Neoplasms

Introdução

O câncer de tireoide é a neoplasia endócrina mais comum e o aumento da sua incidência tem sido constatada, em diversos países, nas últimas décadas¹. No ano de 2014, a neoplasia de tireoide foi o câncer mais diagnosticado na Coreia, seguido de câncer de estômago, colorretal, pulmão e mama². Nos Estados Unidos, a incidência de pacientes diagnosticados com esta neoplasia, entre o período de 1974-2013, aumentou 3% ao ano. ³ No Brasil, segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA) (2018), foi estimado, para o biênio 2018-2019, 1.570 casos novos de câncer de tireoide no sexo masculino e 8.040 para o sexo feminino. Enquanto, para o risco foi estimado, 1,49 casos a cada 100 mil homens e 7,57 casos a cada 100 mil mulheres.⁴ Este aumento, no número de incidência das neoplasias tireoidianas, deve-se a uma ampliação de agentes cancerígenos ambientais, médicos e sociais, além do aumento na triagem e no diagnóstico da patologia. ⁵

O câncer de tireoide, por sua vez, é classificado pela sua forma histológica, subdividindo-se em tumores derivados das células foliculares (carcinoma papilar, folicular e anaplásico) e das células C ou parafoliculares (carcinoma medular). Para tanto, o carcinoma papilar da tireoide (CPT) é o subtipo mais comum e apresenta o melhor prognóstico geral. ⁶

A investigação inicial de qualquer nódulo tireoidiano recém-descoberto deve incluir um nível sérico de hormônio estimulador da tireoide (TSH), pois permite a diferenciação entre nódulos funcionais e não funcionais. Caso haja alteração no TSH, deve ser realizado uma ultrassonografia da tireoide para verificar a funcionalidade do nódulo. Entretanto, os nódulos não funcionais exigirão o uso de aspiração por agulha fina (PAAF) para avaliação citológica. Os tratamentos variam de acordo com o estágio e o tipo do câncer e incluem cirurgia (tireoidectomia), iodo radioativo, inibidores de tirosina quinase (TKIs) e radiação externa do feixe. ⁷

A Cromogranina A (CHGA) é um membro da família cromogranina-secretogranina, referida de forma abreviada como graninas, que inclui um grupo de proteínas caracterizadas por seu perfil ácido geral armazenado em grânulos secretores. ⁸ Seu peso molecular é de 48 kDa composto por 439 aminoácidos que são precursores de proteínas biologicamente ativas com uma ampla gama de atividades, como por exemplo as vasostatina I, parastatina, pancreastatina, secreção inibidora de

catestatina de catecolaminas das células cromafinas.⁹ O gene *CHGA* humano está localizado no cromossomo 14q32.12.¹⁰ E está organizado em nove exons e sete introns.¹¹

Portanto, este estudo visa verificar a distribuição do polimorfismo genético da região codante da *CHGA* Glu 264 Asp, em participantes portadores do câncer da tireoide que serão submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I^{131}) e relacionar as manifestações clínicas da doença.

Material e métodos

Levantamento bibliográfico

Foram utilizados como instrumentos de pesquisa, para o levantamento bibliográfico, as seguintes bases de dados: Scielo Brasil, Periódicos Capes, MedLine e Biblioteca Virtual em Saúde, sendo utilizado como descritores as palavras: Neoplasias da Glândula Tireoide, Cromogranina A, Polimorfismo Genético.

Cálculo da amostra e descrição

Por ser um estudo transversal, descritivo e de caso controle, a coleta da amostra dos participantes da pesquisa ocorreu entre os meses de junho a dezembro de 2017. Sendo assim, o presente estudo foi composto por dois grupos. O grupo caso, portador do carcinoma papilífero de tireoide, foi formado por 23 participantes de ambos os sexos (média de idade 48 anos \pm 12 anos). Enquanto, o grupo controle foi composto por 33 participantes, sendo esse constituído por indivíduos saudáveis, voluntários, pareados e que não possuíam nenhum parentesco com o grupo caso.

Comitê de ética, critérios de inclusão e exclusão

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi obtido de todos os participantes do presente estudo, sendo que, a coleta de dados foi executada após a aprovação do protocolo de pesquisa pelo Comitê de Ética do UNICEUB sob o nº 57382416.6.0000.0023 (ANEXO 1).

Pacientes de ambos os sexos, idade maior que 18 anos, com diagnóstico de câncer da tireoide e que foram submetidos a iodoterapia (I^{131}) no serviço de Medicina Nuclear Imagens Médicas de Brasília (IMEB) constituíram os critérios de inclusão para o grupo caso. Para o grupo controle, os critérios de inclusão foram indivíduos de ambos os sexos, que não possuísem câncer e não tinham algum grau de parentesco com os pacientes do grupo caso.

Participantes de pesquisa foram excluídos, em ambos os grupos, se possuísem alguns critérios, como: idade inferior a 18 anos, diagnóstico de câncer da tireoide, porém não eram eletivos a iodoterapia, além dos que não aceitaram participar da pesquisa ou representantes legais não consentiram a participação.

Extração de DNA e genotipagem

Para a análise laboratorial, foi colhido 5 mL do sangue total por meio de uma punção venosa no grupo controle e nos portadores do câncer de tireoide que sofreram a tireoidectomia, sendo a primeira coleta anterior ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I^{131}). A amostra biológica coletada foi distribuída em tubos evacuados com EDTA como anticoagulante, conforme requisitado na norma H1-A3 do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Posteriormente, o DNA foi extraído do sangue periférico com uso do Invisorb *Spin Blood Mini Kit* (250) da empresa *Invitek* (catálogo #CA10-0005, lote #1031100300, Alemanha). A concentração do DNA obtido foi estimada pelo espectrofotômetro (NANODROP Technologies Inc., Wilmington, DE, USA). A

concentração média alcançada foi de 20 ng/ μ L. O DNA obtido foi estocado a -20°C até o momento da análise.

Em seguida, foi realizada uma reação em cadeia da polimerase (PCR) no qual consiste na amplificação de um fragmento específico de DNA. Os primers utilizados estão descritos na tabela 1.

Tabela 1 - Primers utilizados na PCR

Forward	5'-TCTCTCAGGGTCTGGTGGAC-3'
Reverse	5'-GTTGAGGTCTTCGCCATCAT-3'

Para este processo de amplificação, as seguintes condições de termociclagem foram realizadas: 94°C por 5 minutos (desnaturação inicial), seguida por 40 ciclos de 94°C por 1 minuto, 50°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto. A extensão final foi realizada a 72°C por 8 minutos. O produto dessa reação gera um fragmento de 218 pares de base (pb).

Após uma PCR bem sucedida, o produto foi digerido utilizando a enzima de restrição DpnI (Thermo Fisher) e encubado por 2 horas a 37°C . O alelo G não sofreu clivagem pela enzima, tendo assim um fragmento de 218pb. O alelo A apresentou dois fragmentos de DNA, um de 177pb e outro de 41pb.

Características clínicas

Os dados clínicos dos pacientes foram obtidos por meio da revisão de prontuários médicos. Esses dados clínicos descrevem o tempo do diagnóstico da doença, sistema inicialmente envolvido, história atual da doença, antecedentes patológicos, antecedentes epidemiológicos e sociais, antecedentes familiares, exames complementares.

Análise estatística

A aderência ao equilíbrio Hardy-Weinberg para a frequência genotípica em controles foi analisada pelo teste do qui-quadrado com um grau de liberdade. As frequências genotípicas e alélicas dos pacientes portadores do câncer papilífero da tireoide que foram submetidos a iodoterapia foram comparadas ao grupo controle por meio do teste qui-quadrado em modelos recessivos e dominantes. A associação de características clínicas para cada genótipo foi analisada com o teste qui-quadrado e foi adotado o nível de significância de 5%. Também foram calculadas Odds Ratio (OR) das frequências alélicas e genotípicas, com intervalo de confiança (IC) de 95%. Quando estas variáveis clínicas eram quantitativas, os testes para comparação de medianas foram executados, quando não foram observados os requisitos de normalidade dos dados. O programa estatístico utilizado foi o SPSS (versão 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Para comparação dos genótipos as demais características clínicas, foram utilizados o teste qui quadrado e o teste exato de fisher.

Resultados

Frequência genotípica e alélica do polimorfismo *CHGA* Glu264Asp no estudo caso-controle.

No estudo em questão, a frequência genotípica do polimorfismo do gene *CHGA* Glu264Asp no grupo controle estava em equilíbrio Hardy-Weinberg ($P=0,59$). A distribuição genotípica no grupo caso e controle estão descritas na Tabela 2, no qual observou-se que, a maioria dos pacientes da pesquisa (87%), que possuem câncer de tireoide do tipo papilar, manifestam o genótipo G/G. O mesmo ocorre no grupamento controle, no qual 63,6% são homozigotos dominante.

Na distribuição alélica do mesmo gene, observou-se uma diferença estatística significativa entre os grupos ($P=0,033$), sendo que a presença do alelo selvagem é um fator de risco 3 vezes maior CPT (OR=3,86).

Tabela 2 - Distribuição genotípica e alélica do gene *CHGA* Glu264Asp no grupo caso e no grupo controle

<i>CHGA</i> Glu264Asp	Grupo				P	OR	IC
	CPT		Controle				
	N	%	N	%			
GG	20	87	21	63,6	0,126	NA	NA
GA	3	13	10	30,3			
AA	0	0	2	6,1			
Total	23	100	33	100			
GG	20	87	21	63,6	0,052	3,81	(0,93-15,53)
GA + AA	3	13	12	36,4			
Total	23	100	33	100			
G	43	93,5	52	78,8	0,033*	3,86	(1,04-14,31)
A	3	6,5	14	21,2			
Total	46	100	66	100			

P<0,05; Teste qui quadrado; NA = Não se aplica

Genotipagem e suas associações com as características clínicas dos portadores de CPT submetidos a iodoterapia

A partir dos resultados obtidos, foram analisadas a relação do polimorfismo com outras características clínicas dos pacientes portadores da patologia, tais como: concentração sérica de tireoglobulina, TSH, antitireoglobulina; sexo, o IMC, além da dose administrada.

Não houve uma diferença estatística significativa do polimorfismo em questão relacionado aos valores de concentração sérica de tireoglobulina (P=0,824) e ao IMC (P=0,929). Porém, observou-se que houve uma diferença estatisticamente significativa entre o genótipo GG com o aumento da concentração sérica de TSH (P=0,047) (Tabela 3).

Tabela 3 - Mediana, Percentil 25, Percentil 75 e P-valores das variáveis Tireoglobulina, TSH e IMC nos pacientes portadores de CPT, conforme o genótipo

<i>CHGA</i> Glu264Asp	[Tireoglobulina] ng/mL			[TSH] uUI/mL			IMC (kg m-2)		
	P25	Mediana	P75	P25	Mediana	P75	P25	Mediana	P75
GG	0,77	2,94	20,00	65,91	95,42	121,00	23,96	26,24	31,66
GA	0,59	1,63	500,00	0,05	7,46	55,90	17,58	28,73	33,69
AA									
P-valor		0,824			0,047*			0,929	

P-valor<0,05; Teste de Mann-Whitney.

Em relação a tabela 4, acerca da concentração de antitreoglobulina, a maioria dos pacientes portadores de CPT (86,7%) que apresentam o genótipo GG, obtiveram uma concentração de ≤ 20 UI/mL. Além disso, verificou-se que a maioria dos portadores da patologia e do genótipo GG (68,4%) eram do sexo feminino, quando comparado ao masculino. Com relação a dose de radiofármaco administrada, 78,9% dos pacientes, que apresentam o genótipo GG, receberam doses ≤ 150 mCi e apenas 21,1% deste grupo com o mesmo genótipo, receberam a dose >150 mCi. Nas três características estudadas, não foram vistas diferenças estatísticas significativas.

Tabela 4 - Estudo da associação entre a distribuição da antitireoglobulina (UI/mL), sexo e dose administrada (mCi) do radiofármaco nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo

		<i>CHGA Glu264Asp</i>		P	OR	IC
		GG	GA+AA			
Antitireoglobulina (UI/mL)	≤20	N	13	0,108 (a)	13	(0,77-219,12)
		%	86,7			
	>20	N	2			
		%	13,3			
Total		N	15			
		%	100			
Sexo	Feminino	N	13	0,999 (b)	1,08	(0,81 - 14,41)
		%	68,4			
	Masculino	N	6			
		%	31,6			
Total		N	19			
		%	100			
Dose administrada (mCi)	≤ 150	N	15	0,999 (b)	NA	NA
		%	78,9			
	>150	N	4			
		%	21,1			
Total		N	19			
		%	100			

(a) Teste qui quadrado; (b) Teste exato de fisher; NA= Não se aplica

Discussão

A cromogranina A (CHGA) pertence a família de proteínas dos graninos que são comuns nos tecidos nervosos endócrino, neuroendócrino, periférico e central, onde são tipicamente encontrados em grânulos secretores.¹² A CHGA, em plasma, é um biomarcador estabelecido de tumores neuroendócrinos, no qual possui diversas atividades biológicas, pois ativa biologicamente diversos peptídeos. Ela é usada como marcador diagnóstico e para monitorar a progressão ou regressão do tumor durante o tratamento.⁸ No estudo em questão, não se pode afirmar que houve uma relação da distribuição genotípica entre polimorfismo estudado em relação ao câncer de tireoide, dado que não houve diferença estatística entre os grupos caso-controle. Porém, observou-se que há associação entre a presença do alelo ancestral G e a susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide.

Em um estudo caso controle de Ma e seus colaboradores (2010) foi verificado dois tipos de polimorfismo do gene da *CHGA* na região promotora 415 T/C (rs9658635) e na região codante Glu264Asp. Foram incluídos no estudo 751 homens ao total, sendo deles, 435 pacientes com câncer de próstata e 316 saudáveis. Semelhante ao resultado do presente estudo, a análise relacionada ao câncer de próstata revelou associação significativa entre o alelo G do polimorfismo *CHGA* Glu264Asp e o risco deste tipo de neoplasia na população japonesa, sugerindo que o polimorfismo da *CHGA* Glu264Asp pode ser um marcador útil para estimar o risco de câncer de próstata. Em relação ao polimorfismo da *CHGA* na região promotora 415 T/C (rs9658635) não mostrou associação significativa entre os níveis de proteína CHGA com o ET-1 (Endotelina-1) e refere-se que esta falta de relação significativa deve-se a idade dos pacientes (homens com mais de 60 anos).¹³

A tireoglobulina é uma glicoproteína de alto peso molecular originada somente por células foliculares normais ou neoplásicas, e por virtude disso, é utilizada como marcador tumoral em neoplasias de tireoide. Entretanto, não há uma conformidade acerca do valor de tireoglobulina que sugerisse a presença do câncer diferenciado de tireoide, apresentando valores variados na literatura, entre qualquer nível sérico detectado até 3ng/mL, por meio de ensaios de quimioluminescência.¹⁴ Acerca do Índice de Massa Corpórea (IMC) um estudo de coorte-retrospectivo chinês realizado

por Wu e seus colaboradores (2017), no período de 2010 a 2015, analisou 823 pacientes que apresentavam CPT submetidos a tireoidectomia total ou lobectomia. Foi constatado que o aumento do IMC estava associado ao metástases linfonodais (LNMs) de pacientes com CPT e outras características invasivas, incluindo grande tamanho do tumor, invasão extra-tireoidiana e multifocalidade.¹⁵ Porém, neste estudo, não foi observado uma associação entre a presença do polimorfismo na região codante do gene *CHGA* Glu264Asp ao aumento das concentrações de tireoglobulinas e IMC.

O presente estudo demonstrou uma relação estatística significativa, no qual o genótipo GG é associado com o aumento dos níveis séricos de TSH. No estudo realizado por Ma e seus colaboradores (2010), o polimorfismo alélico da Glu264Asp na região do exon 6 causou a mudança na proteína de *CHGA* de 264 aminoácidos mudando de glutâmico para ácido aspártico. A pancreastatina, está localizado nessa região codificadora de *CHGA*, sendo esta responsável pela inibição da liberação de insulina estimulada por glicose das ilhotas pancreáticas.¹³ Existe uma relação entre a resistência à insulina e a função da tireoide (principalmente os níveis de TSH).¹⁶ Uma hipótese é que a resistência à insulina seria um fator de risco para o desenvolvimento de câncer diferenciado da tireoide, pois a leptina interfere no feedback negativo no eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireoide (HPT) elevando, assim, a secreção de TSH.¹⁷ A leptina pode regular a expressão e secreção do hormônio liberador de tireotrofina (TRH) através da mediação da entrada do núcleo arqueado para os neurônios TRH no núcleo paraventricular (PVN). Além disso, o eixo HPT também é indiretamente regulado por ações da leptina na via da melanocortina, como hormônio estimulador de alfa-melanócitos (-MSH) aumentando a liberação TRH, e consequentemente de TSH.¹⁸

Níveis mais altos de TSH têm sido associados não apenas a frequência aumentada, mas também com um estágio mais agressivos de câncer de tireoide.¹⁹ É importante ressaltar que a Cromogranina A também é secretada por neoplasias endócrinas que produzem Hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), Hormônio folículo-estimulante (FSH), somatotropina (GH), Hormônio luteinizante (LH) e o TSH.²⁰

Em um estudo realizado por Mosca e seus colaboradores (2014), verificou se existe a associação entre os níveis séricos de TSH com o risco de câncer diferenciado de tireoide e se estes teriam relação com a agressividade da doença. Eles realizaram um estudo em que analisaram 1180 pacientes brasileiros que realizaram

tireoidectomia total ou lobectomia, sendo 57,9% devido a doenças benignas e 42,1% a neoplasias malignas de tireoide, no período de janeiro de 2010 a abril de 2013, no serviço de cirurgia de Cabeça e pescoço do HC-FMUSP. Foi demonstrado que a associação entre os níveis de TSH estratificado nos pacientes com doenças benignas e com neoplasias malignas demonstrou uma associação estatisticamente significativa ($p < 0,0001$), que permite inferir que pacientes com valor de TSH sérico maior de 1,16 $\mu\text{IU/mL}$ tem maior risco de serem portadores de câncer diferenciado de tireoide do que aqueles que tem níveis de TSH menor ou igual a este valor.²¹

Os anticorpos anti tireoglobulina são produzidos por células imunes, principalmente por linfócitos que reagem contra auto antígenos da tireoide e se infiltram progressivamente na glândula da tireoide.²² O iodo radioativo (I^{131}) desempenha um papel importante no tratamento do câncer de tireoide. Ele é utilizado juntamente com a tireoidectomia para eliminar o possível câncer residual. O I^{131} funciona inserindo-se nas células da tireoide, por meio de transportadores de iodeto de sódio, e emitindo raios beta de comprimento de onda curta, causando assim, morte celular aguda.⁷ As doses administradas de iodo radioativo de 100mCi são utilizadas em pacientes que apresentam baixo risco ou em pacientes que apresentam o risco intermediário, no qual fazem dialise e apresentam comprometimento nos linfonodos. Já a dose de 150mCi é utilizada em pacientes de risco intermediário, enquanto que as doses de 200mCi são em pacientes de alto risco.²⁰ No estudo em questão, observou-se que não há associação entre o polimorfismo da *CHGA* Glu264Asp com concentrações de antitiroglobulinas e de doses administradas de iodo radioativo, visto que, não houve diferença estatística significativa entre os grupos de genótipos dos pacientes com esta patologia.

Em relação ao sexo, o câncer diferenciado de tireoide é marcadamente mais comum em mulheres que em homens.²³ Essa diferença também foi encontrada neste estudo, pois constatou-se um maior número de mulheres no grupo de pacientes portadores da patologia quando comparado aos homens.

Conclusão

Neste estudo de polimorfismo da região codante do gene *CHGA* Glu264Asp, o alelo selvagem foi associado com o maior risco a susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide na população brasileira estudada.

Associações foram encontradas entre este polimorfismo e a concentração sérica de TSH. Os indivíduos portadores do CPT era predominantemente feminina, conforme registrado na literatura e a maioria dos participantes, eram expostos a dose baixas e intermediária do radiofármaco.

A análise genética pode ser um método favorável ao diagnóstico da patologia, entretanto, facilita a compreensão de doenças que afetam a população. Logo, esse tipo de estudo pode providenciar a identificação de fatores de risco, sejam genéticos ou ambientais, para determinados grupos de indivíduos, colaborando, na implantação de novas formas de diagnóstico precoce e na melhora da qualidade de vida dos pacientes.

Referências

1. Vecchia CL, Malvezzi M, Bosetti C, Garavello W, Bertuccio P, Levi F, et al. Thyroid cancer mortality and incidence: A global overview. *International Journal of Cancer*. 2014 10;136(9):2187 – 2195.
2. Jung K, Won Y, Kong H, Lee ES. Cancer statistics in Korea: incidence, mortality, survival, and prevalence in 2015. *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association*. 2018 04;50(2):303 – 303.
3. Lim H, Devesa SS, Sosa JÁ, Check D, Kitahara CM. Trends in Thyroid Cancer Incidence and Mortality in the United States, 1974-2013. *JAMA*. 2017 4;317: 1338 – 1348
4. BRASIL. Ministério da Saúde - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. *Rev. Brasileira.De.Cancerologia [Internet]*. 30º de março de 2018 [citado 18º de novembro de 2019];64(1):119-20. Disponível em: <https://rbc.inca.gov.br/revista/index.php/revista/article/view/115>

5. Sanabria A, Kowalski LP, Shah JP, Nixon IJ, Angelos P, Williams MD, et al. Growing incidence of thyroid carcinoma in recent years: Factors underlying overdiagnosis. *Head & neck*. 2017 12;40:855 – 866.
6. Kitahara CM, Schneider AB, Brenner AV. Thyroid cancer. *Cancer epidemiology and prevention*. 2018;4:839– 860.
7. Nguyen QT, Lee EJ, Huang MG, Park YI, Khullar A, Plodkowski RA. Diagnosis and treatment of patients with thyroid cancer. *American health & drug benefits*. 2015 5;8:30 – 40.
8. Broedbaek K, Hilsted L. Chromogranin A as biomarker in diabetes. *Biomarkers in medicine*. 2016 9;10:1181 – 1189.
9. Gut P, Czarnywojtek A, Fischbach J, B ł aczyk M, Ziemnicka K, Wrotkowska E, et al. Chromogranin A unspecific neuroendocrine marker. Clinical utility and potential diagnostic pitfalls. *Archives of medical science : AMS*. 2016 3;12:1 – 9.
10. D'amico MA, Ghinassi B, Izzicupo P, Manzoli L, Baldassarre AD. Biological function and clinical relevance of chromogranin A and derived peptides. *Endocrine connections*. 2014 3;3:R45 – 54.
11. NCBI et al. CHGA chromogranin A [Homo sapiens (human)] p. Online. Disponivel em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1113>. Acesso em: 19/11/2019.
12. Bottoni P, Michele TD, Scatena R. A Critical Approach to Clinical Biochemistry of Chromogranin A. *Advances in experimental medicine and biology*. 2015 11;867:317 – 23.
13. Ma Z, Tsuchiya N, Yuasa T, Huang M, Obara T, Narita S. et al. Clinical Significance of polymorphism and expression of chromogranin a and endothelin-1 in prostate cancer. *The journal of urology*. 2010 7;184: 1182-8.
14. Mayrhofer BF, Santos C, Cristine G, Montani G, Mazzo I. Utilização dos Hormônios Calcitonina, Catecolaminas E Tireoglobulina Como Marcadores Tumorais: Uma Revisão Bibliográfica. *Caderno Saúde e Desenvolvimento*. 2017 abr/jul;11(6):59 – 69.
15. Wu C, Wang L, Chen W, Zou S, Yang A. Associations between body mass index and lymph node metastases of patients with papillary thyroid cancer: A retrospective study. *Medicine*. 2017 3;96:e6202 –.
16. de Souza LL, Guedes EP, Teixeira PFDS, Moreira RO, Godoy-Matos AF, Vaisman M. Serum TSH levels are associated with cardiovascular risk factors in overweight and obese adolescents. *Jornal de pediatria*. 2016 6;92:532 – 8.
17. Gursoy A. Rising thyroid cancer incidence in the world might be related to insulin resistance. *Medical hypotheses*. 2009 9;74:35 – 6.

18. Bétry C, Challan-Belval MA, Bernard A, Charrié A, Draï J, Laville M, et al. Increased TSH in obesity: Evidence for a BMI-independent association with leptin. *Diabetes & metabolism*. 2014 12;41:248 – 51.
19. Michèle d'Herbomez, Bauters C, Cortet-Rudelli C, Dewailly D, DoCao C, Wémeau J. Biomarqueurs em endocrinologie. *La Presse Médicale*. 2014 January;43(1):40– 56.
20. Louthan O. Chromogranin a in physiology and oncology. *Folia biologica*. 2011 11;57:173 – 81.
21. de Moraes Mosca L, da Silva CA, Yoon HS, Aisawa RK, Araújo Filho VJF, Matos LL, et al. The association of serum TSH with the risk of well-differentiated thyroid cancer and its relation with disease aggressiveness. *Rev bras cir cabeça pescoço*. 2014 jul a set;43(3):127 – 131.
22. Bueno F, Falcone MGG, Peñaloza MA, Abelleira E, Pitoia F. Dynamics of serum antithyroglobulin antibodies in patients with differentiated thyroid cancer. *Endocrine*. 2019 10;.
23. Prado Júnior LM, Marino FM, Prado LM, Mosci K, Navarrete B, Agrizzi L, et al. Análise epidemiológica de portadores de câncer diferenciado de tireóide tratados com iodoterapia. *Revista de Medicina e Saúde de Brasília*. 2012 Out;1(3):131 – 136.

ANEXOS

Anexo 1 - Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa – Câncer de Tireoide

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INFLUÊNCIA DE ALTERAÇÕES EM PADRÕES MOLECULARES NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES PORTADORES DO CÂNCER DA TIREOIDE SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM O RADIOFÁRMACO IODETO DE SÓDIO

Pesquisador: Rafael Martins de Moraes

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 2

CAAE: 57382416.6.0000.0023

Instituição Proponente: INSTITUTO DE MEDICINA NUCLEAR E ENDOCRINOLOGIA DE BRASÍLIA LTDA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.965.528

Apresentação do Projeto:

A tireoide é a maior glândula endócrina presente no corpo humano. Possui a função de sintetizar os hormônios tireoidianos (T3 e T4), que são extremamente importantes em diversas funções corporais. O câncer de tireoide (tireoide) é responsável por apenas <1% de todos os cânceres humanos, porém, é a neoplasia endócrina mais frequente. É subdividido em quatro principais tipos: papilar; folicular; medular e anaplásico. Dentro desse contexto, as alterações genéticas têm papel decisivo no aparecimento de várias neoplasias humanas. Mutações e polimorfismos são duas alterações genéticas frequentes. Deste modo, em alguns casos o polimorfismo genético pode aumentar a suscetibilidade às patologias e há um aumento significativo de danos ao DNA em pacientes que possuem câncer de tireoide.

METODOLOGIA: consiste na coleta de sangue em tubos contendo EDTA como anticoagulante. Serão recrutados 441 participantes da pesquisa no grupo Caso e 200 participantes da pesquisa no grupo Controle. O DNA genômico será extraído de leucócitos presentes no sangue utilizando o método Salting Out. Os exames de polimorfismo genético, que será realizado pelo método PCR qualitativo. Em seguida, a análise de polimorfismo se dará com o uso de enzimas de restrição, a

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

depende da região gênica a ser analisada. Serão analisados os polimorfismos dos genes P53, XRCC1, ERCC2/XPD, NOS3, TNFA, PDE, GP1BA, IFNG, PDC1D, SOD2, GST, NIS, CYP, PLA, VEGF, MNSOD, ILs e APOs, SOD3, BAX, BCL2 e TERT. A mensuração de TGF-Beta, TNF-Alfa e interleucinas será realizada pelo método ELISA, de acordo com as especificações do kit de alta sensibilidade R&D Systems Quantikine, nas amostras de sangue e saliva. A avaliação das proteínas p53, Bax, Bcl-2, TGF-, IL-10 e hTERT será realizada em todas as amostras de CECs em ambas as células neoplásicas e células do infiltrado inflamatório. Além do sangue, informações relacionadas ao prontuário do paciente do grupo caso também serão coletadas, tais como: tempo de tratamento, dose, outros exames complementares.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO: foram apresentados.

SOBRE AS FORMAS DE RECRUTAMENTO: para os participantes do grupo controle, o recrutamento se dará na sala de coleta de amostras no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ceilândia (FCE). O material biológico (sangue) dos participantes serão estocados na FCE da Universidade de Brasília (UnB), sob a guarda da pesquisadora Izabel Cristina Rodrigues da Silva e do pesquisador Rafael Martins de Moraes na extração do DNA das amostras, além das realizações dos exames para verificação dos polimorfismos genéticos.

METODOLOGIA DE ANÁLISE DE DADOS: será feita por meio das análises das frequências alélicas e genóticas serão estimadas, usando-se o programa SPSS versão 20.0, por contagem direta, sendo essas expressas como porcentagem do número de alelos. Além disso, será aplicado o teste do qui-quadrado e o Odds Ratio (OR), de forma a comparar as distribuições das frequências e também fazer possíveis associações com os alelos, genótipos e haplótipos entre os 2 grupos avaliados (caso e controle).

Objetivo da Pesquisa:

O Objetivo Primário será "Determinar a prevalência de polimorfismos genéticos e dosar a concentração de proteínas séricas em pacientes portadores do câncer da tireoide que serão submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I131) e comparar com o grupo sadio no acompanhamento, tratamento, prognóstico e estadiamento da doença, em um estudo prospectivo e de caso controle".

E os Objetivos Secundários serão "Avaliar a influência entre o polimorfismo dos genes P53, XRCC1, ERCC2/XPD, NOS3, TNFA, PDE, GP1BA, IFNG, PDC1D, SOD2, GST, NIS, CYP, PLA, VEGF, MNSOD, ILs e APOs, SOD3, BAX, BCL2 e TERT, no tratamento e prognóstico em participantes com câncer de tireoide submetidos a dose terapêutica com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (131I); Correlacionar a imunexpressão das proteínas MnsOD, Bax, Bcl-2 e hTERT nas lesões de tireoide relatadas no

Endereço: SEPN 707/07 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar
Bairro: Setor Universitário **CEP:** 70.790-075
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3966-1511 **E-mail:** cep.uniceub@uniceub.br

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB



Continuação do Parecer: 1.965.528

laudo histopatológico; Comparar as concentrações plasmáticas de TNF- e Interleucinas dos participantes da pesquisa (grupo caso) com indivíduos sadios (grupo controle); Avaliar o background genético como acompanhamento no acompanhamento, tratamento, prognóstico e estadiamento da doença; Influência da iodoterapia (após o tratamento) nos genes citados anteriormente".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos foram descritos pelo pesquisador como sendo: A recomendação da sequência dos tubos é baseada na (CLSI H3-A6, Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipunctures; Approved Standard, 6th ed) e deve ser respeitada, para que não ocorra contaminação por aditivos nos tubos subsequentes (contaminação cruzada dos aditivos), quando há necessidade da coleta para diversos análises de um mesmo paciente. As medidas de segurança visam evitar injúrias tanto aos participantes como aos profissionais que farão o procedimento de coleta. Antes da coleta, o paciente será tranquilizado, agindo-se com honestidade, explicando passo-a-passo do procedimento, desde os equipamentos necessários até um possível desconforto no momento da coleta. Os critérios de avaliações de riscos e benefícios foram privados das Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML - 2014): coleta e preparo da amostra biológica para Coleta de sangue venoso, descritos a seguir: formação de hematoma: No momento da antes e após a coleta, existem alguns riscos e possíveis complicações, que poderão vir a acontecer. A formação de hematoma é a complicação mais comum em processos de punção venosa. É acometido devido à extravasamento do sangue para o tecido. Esse processo pode ocorrer durante ou após a punção. Quando acontece, o paciente pode sentir dor no local, e em alguns casos, a compressão de algum ramo nervoso. Punção arterial acidental: A punção acidental de uma artéria é outro risco. Porém, é um fato considerado raro, sabendo que a escolha do local e habilidade do profissional é preponderante para que isso seja evitado. A punção acidental arterial está associada principalmente à punções na veia basilíca, pelo fato de estar proximamente localizada a(à) artéria braquial. Caso ocorra, é necessário realizar uma pressão na região afetada, por pelo menos 5 minutos, além de obstruir o local da punção com maior eficiência. Infecção: Embora raro, existe a possibilidade da punção venosa de gerar alguma infecção no paciente, por isso, não deve ser desprezada. Por isso, é importante que antes da punção, haja a assepsia no ponto de aplicação. O uso de algodão embebido em álcool etílico comercial, álcool iodado ou antissépticos à base de iodo, são recomendados para tal. Quando mais rápido for desde o momento da assepsia até o momento da punção na pele do paciente, menor será o risco de infecções. Um adesivo curativo deverá ser colocado após a punção, permanecendo

Endereço: SEPN 707/07 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar
Bairro: Setor Universitário **CEP:** 70.790-075
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3966-1511 **E-mail:** cep.uniceub@uniceub.br

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB



Continuação do Parecer: 1.965.528

no paciente durante no mínimo 15 minutos. Lesão nervosa: Caso não ocorra sucesso na primeira tentativa de punção, a agulha deverá ser retirada, para que assim, uma segunda tentativa seja realizada. Isso evita que ocorra lesões em ramos nervosos próximos ao local da punção. Outra medida para que isso não ocorra, é orientar ao paciente, antes e durante a coleta, a não realizar movimentos bruscos. Dor: Geralmente, a dor gerada pela punção e retirada da agulha, é de fraca intensidade e suportável. Para que isso seja minimizado, acalmar e orientar o paciente antes e durante a coleta é adequado. Porém, medidas serão adotadas, visando também a segurança do profissional da saúde. Os equipamentos de proteção individual (EPIs) devem estar de acordo visando a proteção do profissional e do paciente. A principal forma de contaminação de agentes infecciosos é pelo contato. Todos as diretrizes para medidas de proteção e saúde dos trabalhadores devem estar de acordo com a Norma Regulamentadora Brasileira no 32 ou NR-32 (Segurança e Saúde no Trabalho em Serviços de Saúde), de 11 de novembro de 2005. Boas práticas individuais que pregam os Requisitos de Segurança no Laboratório Clínico também deverão ser tomadas, seguindo a norma ABNT NBR 14785:2001. O descarte de resíduos será feito de acordo com a RDC/Anvisa n. 306/2004.

E os Benefícios foram descritos pelos pesquisadores como sendo: Por se tratar de apenas uma coleta de sangue, através de punção de veia periferia, procedimento usual na prática clínica, os riscos referentes ao trabalho são mínimos. O anonimato dos pacientes é assegurado, pois o estudo tem enfoque nos dados e não nos pacientes individualmente. Os dados genéticos resultantes somente serão acessíveis aos pesquisadores do presente estudo e não serão dissociados dos indivíduos. Os benefícios do uso de dados genéticos humanos coletados no âmbito da pesquisa serão compartilhados entre a comunidade envolvida sob a forma de publicação de artigos científico sobre o assunto. Será oferecida a possibilidade de contato eletrônico (e-mail) a todos os participantes que desejarem, para que as possíveis descobertas de informações sejam repassadas, em forma de artigos científicos (modo como serão divulgados os resultados da presente pesquisa). Os benefícios deste estudo são maior conhecimento sobre os aspectos fisiopatológicos, diagnóstico, tratamento e prognóstico da doença do câncer da tireoide. Será oferecida a possibilidade de retorno das informações obtidas, bem como a descrição dos achados referentes aos polimorfismos genéticos de cada indivíduo analisado. Os participantes ou representantes legais terão acesso aos resultados mediante a sua solicitação à pesquisadora responsável, a qualquer momento, desde que as amostras já tenham sido processadas e analisadas. Esta solicitação poderá ser feita durante a assinatura do TCLE, por e-mail ou telefone, presentes no TCLE, e a pesquisadora agendará uma reunião para a entrega do resultado. Os resultados do

Endereço: SEPN 707/07 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar
Bairro: Setor Universitário **CEP:** 70.790-075
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3966-1511 **E-mail:** cep.uniceub@uniceub.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

presente estudo ficarão disponíveis aos participantes e aos profissionais da empresa Imagens Médicas de Brasília (IMEB).

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A Universidade de Brasília Faculdade de Ceilândia é Coparticipante da pesquisa.

Haverá a análise de prontuários dos participantes da pesquisa. Foram estabelecidos os critérios de inclusão e exclusão, assim como, os riscos e os benefícios. O orçamento foi apresentado e o cronograma está dentro do período de submissão ao CEP UniCEUB. Há, também, a descrição da metodologia de análise dos dados. O projeto apresenta mérito acadêmico e científico e representa importante contribuição para o entendimento das bases moleculares e citológicas do câncer da tireóide.

O pesquisador deve observar a regulamentação específica, Resolução no 340/04 do Conselho Nacional de Saúde que aprovar as Diretrizes para Análise Ética e Tramitação dos Projetos de Pesquisa da Área Temática Especial de Genética Humana:

quantos aos aspectos éticos, há que se garantir os seguintes elementos:

III.3 - As pesquisas envolvendo testes preditivos deverão ser precedidas, antes da coleta do material, de esclarecimentos sobre o significado e o possível uso dos resultados previstos.

III.4 - Aos sujeitos de pesquisa deve ser oferecida a opção de escolher entre serem informados ou não sobre resultados de seus exames.

III.5 - Os projetos de pesquisa deverão ser acompanhados de proposta de aconselhamento genético, quando for o caso.

III.6 - Aos sujeitos de pesquisa cabe autorizar ou não o armazenamento de dados e materiais coletados no âmbito da pesquisa, após informação dos procedimentos definidos na Resolução sobre armazenamento de materiais biológicos.

IV.1 - As pesquisas da área de genética humana devem ser submetidas à apreciação do CEP e, quando for o caso, da CONEP como protocolos completos, de acordo com o capítulo VI da Resolução CNS No 196/96 (substituída pela Resolução CNS no 466/12), não sendo aceitos como emenda, adendo ou subestudo de protocolo de outra área, devendo ainda incluir:

- a) justificativa da pesquisa;
- b) como os genes/segmentos do DNA ou do RNA ou produtos gênicos em estudo se relacionam com eventual condição do sujeito da pesquisa;
- c) explicitação clara dos exames e testes que serão realizados e indicação dos genes/segmentos do DNA ou do RNA ou de produtos gênicos que serão estudados;
- d) justificativa para a escolha e tamanho da amostra, particularmente quando se tratar de

Endereço: SEPN 707/907 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar
Bairro: Setor Universitário **CEP:** 70.790-075
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3966-1511 **E-mail:** cep.uniceub@uniceub.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

- população ou grupo vulnerável e de culturas diferenciadas (grupos indígenas, por exemplo);
- e) formas de recrutamento dos sujeitos da pesquisa e de controles, quando for o caso;
- f) análise criteriosa dos riscos e benefícios atuais e potenciais para o indivíduo, o grupo e gerações futuras, quando couber;
- g) informações quanto ao uso, armazenamento ou outros destinos do material biológico.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

* TCLE:

- Esse instrumento teve a sua formatação adequada conforme a solicitação do CEP UniCEUB: Como coparticipante, o CEP da UnB vai receber o projeto para análise, mas deve constar no TCLE os dados do CEP-UniCEUB, pois é o comitê que avalia o estudo submetido pela instituição proponente, INSTITUTO DE MEDICINA NUCLEAR E ENDOCRINOLOGIA DE BRASÍLIA LTDA.

- Foi acrescentada a informação da existência de grupo controle;

* Termo de concordância da instituição proponente - anexado a Plataforma Brasil;

* Folha de rosto com as devidas assinaturas do pesquisador principal, da instituição proponente e do patrocinador principal.

* Termo de guarda não contém as informações dos pesquisadores (nome, e-mail e telefone de contato).

* Termo de responsabilidade.

* Termo de responsabilidade e compromisso - apresentado através da Plataforma Brasil.

Recomendações:

O CEP-UniCEUB ressalta a necessidade de desenvolvimento da pesquisa, de acordo com o protocolo avaliado e aprovado, bem como, atenção às diretrizes éticas nacionais quanto aos incisos XI.1 e XI.2 da Resolução nº 466/12 CNS/MS concernentes às responsabilidades do pesquisador no desenvolvimento do projeto:

XI.1 - A responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais.

XI.2 - Cabe ao pesquisador:

- c) desenvolver o projeto conforme delineado;
- d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final;
- e) apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento;
- f) manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;

Endereço: SEPN 707/07 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

g) encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto; e

h) justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

- Resolução CNS n. 441/11, referente à análise ética de projetos de pesquisa que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas anteriores. Observação: O envio de relatórios deverá ocorrer pela Plataforma Brasil, por meio de notificação de evento. O modelo do relatório encontra-se disponível na página do UniCEUB

http://www.uniceub.br/Instituicao/pesquisa/ins030_pesquisacomitebio.aspx, em Relatório de Finalização e Acompanhamento de Pesquisa.

Para entrar em contato com o CEP-UniCEUB utilize o e-mail cep.uniceub@uniceub.br.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisa está apta a iniciar a coleta de dados, ressaltando que:

1) quando da ocorrência de procedimentos de descarte do material biológico armazenado deverá ser observada a regulamentação pertinente, Resolução CNS n. 441/11, item 11.II:

- O descarte do material biológico humano armazenado em Biobanco pode ocorrer: a) pela manifesta vontade do sujeito da pesquisa; b) devido à inadequação da amostra por critérios de qualidade; c) por iniciativa da instituição; e d) pela dissolução do Biobanco. III - Nas hipóteses previstas nas alíneas "c" e "d", são obrigatórias: a) a oferta formal do material armazenado a, no mínimo, duas instituições de pesquisa que possuam Biobanco e a apresentação comprovada da recusa; e b) a submissão da decisão institucional e da destinação do material biológico ao CEP, que as encaminhará para avaliação da CONEP.

2) No Termo de Guarda de Material Biológico inserir informações dos contatos dos pesquisadores (e-mail e telefone de contato), devendo uma via ficar com o participante (o representante legal), e, a outra, com o pesquisador responsável.

Considerações Finais a critério do CEP:

Protocolo previamente avaliado, com parecer n. 1.949.153, tendo sido homologado na 2ª Reunião Ordinária do CEP-UniCEUB de 2017, em 17 de fevereiro do mesmo ano.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: SEPN 707/07 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar
 Bairro: Setor Universitário CEP: 70.790-075
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3966-1511 E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB



Continuação do Parecer: 1.965.528

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_745986.pdf	19/01/2017 16:44:50		Aceito
Outros	Proponente.pdf	19/01/2017 16:43:59	Rafael Martins de Morais	Aceito
Outros	Coparticipante.pdf	19/01/2017 16:43:18	Rafael Martins de Morais	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	19/01/2017 16:42:41	Rafael Martins de Morais	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	GUARDA.pdf	19/01/2017 16:42:16	Rafael Martins de Morais	Aceito
Declaração de Pesquisadores	RESPONSABILIDADE_TERMOS.pdf	19/01/2017 16:40:47	Rafael Martins de Morais	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.pdf	19/01/2017 16:37:13	Rafael Martins de Morais	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	19/01/2017 16:33:48	Rafael Martins de Morais	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	19/01/2017 16:31:51	Rafael Martins de Morais	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 15 de Março de 2017

Assinado por:
Marília de Queiroz Dias Jacome
(Coordenador)

Endereço: SEPN 707/07 - Bloco 6, sala 6.110, 1º andar
Bairro: Setor Universitário **CEP:** 70.790-075
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3966-1511 **E-mail:** cep.uniceub@uniceub.br

Anexo 2 – Normas da revista científica de escolha para publicação – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML)

Instruções aos autores

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade contínua, é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). É indexado no Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), no Periodica e no Chemical Abstracts, além de ser integrante da base de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO). Destina-se à publicação de trabalhos científicos que contribuam para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial e aceita as seguintes categorias: artigos originais, de revisão, relatos de caso, comunicações breves e cartas aos editores. Os trabalhos podem ser submetidos nos idiomas português, inglês ou espanhol, mas o texto completo será publicado em inglês e português, com resumo em português e espanhol.

Análise dos trabalhos

O manuscrito recebido será enviado para, pelo menos, dois avaliadores independentes, pares científicos, de renome e com conhecimento específico na área contemplada pelo artigo. Após análise pelos avaliadores, o editor-chefe do JBPML entrará em contato com o autor principal comunicando os passos a serem seguidos na aceitação do trabalho para publicação ou sua eventual rejeição.

Ética

Estudos realizados com seres humanos, incluindo órgãos e/ou tecidos isoladamente, bem como prontuários clínicos ou resultados de exames clínicos, deverão estar de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Quando pertinente, o trabalho enviado deverá ser acompanhado de consentimento, por escrito, do paciente e de cópia da aprovação (certificado) do comitê de ética da

instituição onde foi realizada a pesquisa, em consonância com a Declaração de Helsinki, 1989.

Nos trabalhos experimentais envolvendo animais, devem ser respeitados os princípios éticos de experimentação animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e as normas estabelecidas no Guide for Care and Use of Laboratory Animals (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, Washington, D.C., 1996).

As drogas e substâncias químicas eventualmente utilizadas na realização do trabalho devem ser identificadas com precisão. Não devem ser utilizados nomes ou iniciais do paciente nem informados nomes comerciais, de empresas e/ou registros de hospitais.

Responsabilidade da autoria e conflito de interesses

De acordo com as diretrizes elaboradas pelo International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), atualizada em 2013, a autoria deve ser validada para: a) concepção e projeto do trabalho ou aquisição, análise e interpretação dos dados; b) redação inicial do artigo ou revisão crítica do seu conteúdo; c) aprovação final da versão para publicação; d) responsabilidade para todos os aspectos do trabalho, garantindo que questões relacionadas com acurácia ou integridade de qualquer parte do trabalho sejam adequadamente investigadas e analisadas. Todos os autores listados no artigo devem preencher os quatro critérios de validação de autoria para serem designados como tal. Os participantes do trabalho que não preencherem os quatro critérios devem ser incluídos na seção de Agradecimentos (Acknowledgements). O autor principal deve especificar a contribuição de cada um nas diferentes etapas do estudo.

Do mesmo modo, o autor principal deve declarar ou negar a existência de possíveis conflitos de interesse. Caso exista algum conflito, ele deve ser especificado como nota no final do artigo.

Titulação

O nome dos autores deverá ser referido da seguinte forma: primeiro nome e último sobrenome serão grafados por extenso e nomes intermediários serão

abreviados. Acrescentar após o nome de cada autor seu respectivo ORCID. Deve-se inserir nos créditos apenas a Instituição onde cada autor atua. O nome da instituição será grafado em português ou no idioma do país sede da instituição, relacionado por número ao nome dos autores correspondentes.

RESUMOS E UNITERMOS

Independentemente do idioma no qual o trabalho foi escrito, devem constar dois resumos: um em português (Resumo) e outro em inglês (Abstract). Os resumos devem identificar os objetivos, os procedimentos e as conclusões do trabalho (máximo de 250 palavras para artigos originais e artigos de revisão; e máximo de 100 palavras para relatos de caso e comunicações breves).

Os unitermos, palavras que representam o assunto tratado no trabalho, devem ser em número de três a seis, utilizando o vocabulário controlado Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) da BIREME, acrescidos de outros termos, quando necessário. Devem ser apresentados em português e inglês.

Agradecimentos

Devem ser breves, diretos e dirigidos apenas à pessoa ou à instituição que contribuiu substancialmente para a elaboração do trabalho. Devem ser incluídos após as conclusões e antes das referências bibliográficas.

Estrutura do texto

Artigos originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original, inédita, que possam ser replicados ou generalizados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências.

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o

detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O Abstract (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir.

Comunicações breves

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3) estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências.

Arte na ciência

Nesta seção, serão aceitas manifestações artísticas relacionadas com a ciência e documentações científicas que possam ser consideradas como arte. Incluem-se, mas não esgotam as possibilidades, textos literários, poemas, fotografias, quadros e figuras.

Artigos de revisão

Serão aceitos apenas mediante convite.

Avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto, devem incluir conclusões e ter até 5 mil palavras. A organização do texto, com exceção de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos, exige-se um resumo estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

Artigos de atualização

São trabalhos descritivos e interpretativos com base na literatura recente sobre a situação global em que se encontra determinado assunto. Devem conter até 3 mil palavras. A estrutura do texto fica a critério do autor, mas deve haver um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês, além de referências bibliográficas.

Relatos de caso

São trabalhos de observações clinicolaboratoriais originais, acompanhados de análise e discussão. Devem conter até 1.500 palavras. A estrutura deve apresentar, no mínimo, os seguintes tópicos: Introdução, Relato(s) dos(s) caso(s) e Discussão. Incluir um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês.

Cartas aos editores

Inclui cartas que visam a discutir artigos recentes publicados na revista ou a relatar pesquisas originais ou achados científicos significativos. Cartas breves, com no máximo 500 palavras (incluindo referências, sem tabelas ou figuras), serão consideradas se estiver explícita a frase "para publicação".

Referências

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, e ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez no texto. Devem seguir as normas do Estilo Vancouver. Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de

referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

Exemplos:

• Artigos de periódicos (um só autor)

Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da 'política racial' do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.

• Artigos de periódicos (até seis autores)

Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.

• Artigos de periódicos (mais de seis autores)

Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-*H. pylori* antibodies in Brazilian blood donors. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.

• Artigo de periódico on-line

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.

• Livros no todo (dois autores)

Eyre HJ, Lange DP. *Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery*. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.

• Capítulos ou parte de livro editado por outro autor

Mendeenhal WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. *Cancer: principles and practice of oncology*. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.

• Parte de livro em meio eletrônico

São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: São Paulo (Estado). Entendendo o meio ambiente. São Paulo; 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>.

• Evento em meio eletrônico

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

• Tese ou dissertação

Silva MAL. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com doença falciforme. 2008. [dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.

• Citações no texto

Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

Tabelas e figuras

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993).

As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras. Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados

em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.

O SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png.

Abreviações e nomes de medicamentos

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não disponíveis para prescrição.

As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.

Contato com a secretaria do jbpml

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial

Tel.: +55 (21) 3077-1400

e-mail: jbpml@sbpc.org.br