



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

**HUGO BIM BATISTA**

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE BCL2 – 938 C > A EM PACIENTES  
PORTADORES DE CARCINOMA ESPINOCELULAR DE BOCA.**

**BRASÍLIA, 2019.**

HUGO BIM BATISTA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE BCL2 – 938 C > A EM PACIENTES  
PORTADORES DE CARCINOMA ESPINOCELULAR DE BOCA.**

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

**Orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jamila Reis de Oliveira**

**Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Izabel Cristina Rodrigues da Silva**

BRASÍLIA, 2019.

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

Batista, Hugo Bim  
BB333a Análise do polimorfismo no gene BCL2 -938 C > A em  
pacientes portadores de carcinoma espinocelular de boca /  
Hugo Bim Batista; orientador Jamila Reis de Oliveira; co  
orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva. -- Brasília,  
2019.  
61 p.

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

1. Polimorfismo. 2. bcl2. 3. câncer de boca. I. Oliveira,  
Jamila Reis de, orient. II. Silva, Izabel Cristina  
Rodrigues da, co-orient. III. Título.

HUGO BIM BATISTA

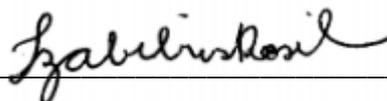
**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE BCL2 – 938 C > A EM PACIENTES  
PORTADORES DE CARCINOMA ESPINOCELULAR DE BOCA.**

**BANCA EXAMINADORA**



---

Orientadora: Profª Drª Jamila Reis de Oliveira  
(FCE/UnB)



---

Co-orientadora: Profª Drª Izabel Cristina Rodrigues da Silva  
(FCE/UnB)



---

Prof. Dr. Eliziário Cesar Rodrigues da Silva  
(HRAN/SES/DF - UNIP)



---

Ms. Aline Ribeiro Barros  
(FCE/UnB)

BRASÍLIA, 2019.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico a Deus, à minha família e aos meus amigos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, Kátia Bim e Erivaldo Batista, e a minha avó, Conceição Bim, por terem me suportado durante todos esses anos de curso, principalmente no último semestre, no qual quase surtamos juntos. O suporte de vocês foi fundamental para eu chegar aqui e, é claro, ir mais longe. Muito obrigado!

Devo deixar registrado aqui o nome dos outros membros da minha família que também foram importantes para a formação desse campeão vos fala: Kleber Bim, Thatiane Gomes, Ana Priscila, Ana Beatriz, Thiago Lima, Francidalva Barboza e Letícia Barboza.

Obrigado a Gabriela Soares, Ingrid Maria e Izabel Cordeiro por terem me aceitado no grupo de Epidemiologia, pois assim podemos fundar o melhor bonde que já existiu nessa universidade. Apesar de sempre faltar nos eventos, saibam que eu sinto um carinho enorme por vocês. Muito Chiquinho para nós.

Obrigado Gabriel Seixas, Kelly Sousa, Samuel Parreira e Stefany Ingrid, meus amigos de Farmácia. Apesar de algumas vezes termos nos desesperados em algumas matérias, conseguimos zerar a graduação.

Sou eternamente grato pela professora Jamila Reis e Izabel Rodrigues por terem me acolhido e me orientado. Aprendi muito com essas mulheres. Vocês foram incríveis e trabalhar com vocês superou as minhas expectativas. Espero que outros estudantes tenham a honra que eu tive.

E não poderia faltar: agradeço a Deus a oportunidade maravilhosa de cursar em uma das melhores universidades federais da Brasil e de ter conhecido pessoas incríveis.

## EPÍGRAFE

“Qualquer célula viva carrega consigo as experiências de um bilhão de anos de experimentação por seus ancestrais. Você pode esperar poder explicá-la em poucas e simples palavras.”

- Max Delbrück, geneticista, 1966.

## RESUMO

**Introdução:** O carcinoma espinocelular de boca (CEC) é a sexta neoplasia maligna mundial, acometendo, principalmente, o lábio inferior, língua e assoalho bucal. Sua incidência é maior em homens e os fatores de risco que desempenham maior influência no seu desenvolvimento são o álcool e o cigarro. O gene *bcl2* possui ação anti-apoptótica, cuja proteína age na membrana externa mitocondrial. É localizado no cromossomo 18q21.3 e o seu polimorfismo *bcl2* -398 C > A (SNP) está associado com o aumento da transcrição desse gene e com o desenvolvimento de alguns tumores malignos. **Objetivo:** Analisar o polimorfismo *bcl2* -398 C > A (SNP) em pacientes portadores de CEC que fazem acompanhamento no Hospital Regional da Asa Norte (HRAN) e associá-lo ao risco de desenvolvimento da doença e as variáveis dos pacientes. **Metodologia:** Para a genotipagem das amostras, foi realizada uma PCR-RFLP seguida por uma digestão através da enzima de restrição *BclI*. Posteriormente, foi realizada uma eletroforese em gel de agarose 4% com brometo de etídio. A confirmação da amplificação foi feita através de luzes ultravioletas em um transiluminador. **Resultados:** Os 8 participantes do estudo apresentavam histórico de consumo de álcool e hábito de fumar. Não houve associação estatística entre o polimorfismo no gene *bcl2* -938 A > C (SNP). **Conclusão:** O polimorfismo no gene *bcl2* -938 A > C (SNP) não está envolvido com o risco de desenvolvimento de CEC de boca.

Palavras-chave: Polimorfismo; *bcl2*; câncer de boca.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Classificação para tumores malignos nos lábios e na cavidade oral.....	15
Tabela 2 – Frequência das variáveis demográficas e clínicas dos participantes da pesquisa.....	25
Tabela 3 – Associação do polimorfismo do gene <i>bcl2</i> -938 C > A com o carcinoma espinocelular de boca.....	27
Tabela 4 – Distribuição genotípica de acordo com as variáveis demográficas e clínicas. ....	28

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABT	Venetoclax
CEC	Carcinoma espinocelular de boca
DF	Distrito Federal
ERO	Espécies reativas de oxigênio
HPV	<i>human papillomavirus</i> (Vírus do papiloma humano)
HRAN	Hospital Regional da Asa Norte
HW	Hardy-Weinberg
INCA	Instituto Nacional do Câncer
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em cadeia da polimerase)
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> (Polimorfismo de comprimento de fragmento)
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> (Polimorfismo de nucleotídeo único)
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UVA	Ultravioleta A

## SÚMARIO

1. Introdução.....	12
2. Revisão Bibliográfica .....	12
2.1. Carcinoma espinocelular de boca (CEC) .....	12
2.2. Gene BCL2, expressão e polimorfismo .....	16
3. Justificativa .....	20
4. Objetivos.....	21
4.1. Objetivo Geral .....	21
4.2. Objetivos específicos .....	21
5. Metodologia .....	21
5.1. Revisão de literatura .....	21
5.2. Cálculo Amostral .....	22
5.3. Amostra e estratégias de Biologia Molecular .....	22
5.4. Participantes da Pesquisa.....	22
5.5. Termo de Consentimento .....	22
5.6. Procedimentos Técnicos Laboratoriais .....	23
5.7. Análise estatística .....	24
6. Resultados.....	24
7. Discussão .....	29
8. Conclusão.....	31
9. Referências.....	32
10. Anexo 1 - Ficha de identificação dos participantes da pesquisa .....	38
11. Anexo 2 – Termo de consentimento livre e esclarecido .....	41
12. Anexo 3 – Aprovação no comitê de ética .....	45

## **1. Introdução**

O Carcinoma espinocelular (CEC) de boca, conhecido também por carcinoma epidermóide e carcinoma escamocelular, é uma neoplasia maligna que se desenvolve no epitélio de revestimento, presente na mucosa oral, e que possui diversas formas clínicas e de crescimento (DEUSDEDIT, 2016). Pode ocorrer em quaisquer regiões, porém as mais acometidas são lábio inferior, língua e assoalho bucal, sendo que assoalho bucal e língua possuem o pior prognóstico em decorrência do maior risco de desenvolverem metástases cervicais (CARLI et al., 2009).

O desenvolvimento da tumorigênese ocorre principalmente por alterações na proliferação e apoptose das células. Tais processos são controlados por genes pró e anti-apoptóticos responsáveis por manter a homeostasia dos tecidos, renovando as células de acordo com as necessidades (YANG et al., 2016; GOLDAR et al., 2015). A família de proteínas BCL2 é um grande grupo responsável por regular o processo de apoptose, possuindo membros pró e anti-apoptóticos (RENNER et al., 2017).

O gene *bcl2*, membro da família de mesmo nome, codifica uma proteína anti-apoptótica localizada na membrana externa mitocondrial que impede a saída do Citocromo C e a ativação das caspases que resulta em morte celular por apoptose (KÜNKELE et al. 2013).

Polimorfismos genéticos são variações genéticas não letais que ocorrem em mais de 1% da população (TARDIN et al., 2009). Entre os diversos polimorfismos que ocorrem nessa região, o mais estudado é o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) que ocorre na posição -938 C > A (rs2279115) na região promotora P2, aumentando a sua atividade e, conseqüentemente, diminuindo a transcrição e a expressão do gene, auxiliando na imortalização da célula cancerosa (RENNER et al., 2017).

## **2. Revisão Bibliográfica**

### **2.1. Carcinoma espinocelular de boca (CEC)**

O câncer de boca ocupa a sexta posição na classificação dos cânceres mais frequentes mundialmente (ALVES, 2011). De acordo com as estimativas do INCA (Instituto Nacional de Câncer), para o biênio de 2018-2019 no Brasil, serão 11.200 novos casos em homens e 3.500 novos casos em mulheres, ocupando a décima segunda posição. Para o Distrito Federal (DF), serão, de aproximadamente, 130 e 50 novos casos para homens e mulheres, respectivamente (INCA, 2017).

Das neoplasias malignas que acometem a cavidade bucal, 95% são CEC, enquanto que os outros 5% correspondem aos linfomas, sarcomas, melanomas e tumores de glândulas salivares (DEUSDEDIT, 2016). Por esse motivo, o termo “câncer de boca” tende a ser usado como sinônimo de CCE (MARKOPOULOS, 2012).

Os principais fatores de risco são o etilismo e o tabagismo, os quais estão relacionados com a duração, frequência e intensidade das exposições. Quando associados, o risco é potencializado (SÜSLÜ et al., 2013). Outros fatores que podem estar presentes são infecção por HPV, exposição à radiação UVA solar (DEUSDEDIT, 2016), bem como alimentação e higienização (TEIXEIRA et al., 2009). A hereditariedade parece não possuir uma associação importante com a tumorigênese do câncer bucal (CARLI et al., 2009).

Apesar de a prevalência de CEC ser maior nos homens, nos últimos anos, a taxa de CEC de boca começou a crescer entre as mulheres, principalmente pelo aumento de consumo de bebidas alcoólicas e tabaco em indivíduos desse gênero. Entretanto, estudos mostram que houve uma diminuição na relação homem-mulher, que pode ser explicada pela mudança dos hábitos de vida considerados tóxicos/prejudiciais a saúde do paciente. Mudanças sociais e geográficas são fatores que podem estar envolvidos com essa redução (ALVES et al., 2017).

O CEC é considerado uma doença de pessoas idosas, com a maioria dos casos ocorrendo entre os 60 e 70 anos. Todavia começaram a ser relatados um aumento no número de casos em pacientes jovens (com idade inferior a 40 anos). Os fatores de risco convencionais possuem uma atuação diminuída nesse grupo. Tal aumento, então, é explicado pela influência nutricional e biológica, por exemplo, infecção pelo HPV, cuja fisiopatologia ainda não elucidada (LEITE et al., 2018).

Embora a cavidade oral tenha um acesso facilitado, o diagnóstico, geralmente, é feito de forma tardia, quando o arsenal terapêutico está reduzido. Daí a importância de um diagnóstico precoce através de exames clínicos para avaliar a presença de lesões potencialmente malignas, as principais são: eritroleucoplasia, leucoplasia, eritroplasia, queilite actínica, líquen plano, fibrose submucosa e lúpus eritematoso discóide (PATRICIO, 2010).

A leucoplasia é a lesão mais comum; seguida pela eritroplasia, na qual 90% dos casos apresentam displasia epitelial severa ou carcinoma *in situ*; queilite actínica, patologia que acomete os lábios, com prevalência de, 0,45 - 2,4%, estando associado a longos períodos de exposição à luz solar (AM FERREIRA et al., 2016).

O prognóstico do CEC depende do estadiamento clínico apresentado no momento do diagnóstico. Nos países desenvolvidos, o câncer de boca é diagnosticado ainda no início enquanto que, em países emergentes, o diagnóstico é feito em serviços públicos de saúde em estágios avançados. Nos estádios III e IV, a sobrevivência de 5 anos ocorre em 40% dos casos e essa taxa é inferior a 10% em cânceres irresssecáveis (ANDRADE et al., 2014).

A região afetada pelo tumor também está associada ao prognóstico do paciente: o lábio, por ser um local de fácil acesso, possui uma detecção e um diagnóstico precoce, gerando um prognóstico melhor, ao contrário das neoplasias malignas localizadas dentro da cavidade oral e que possuem proximidade com vasos linfáticos e sanguíneos, além de um difícil acesso. Outros fatores associados são: o grau de diferenciação celular e a presença/ausência de HPV. Tumores menos diferenciados apresentam maior risco de desenvolverem metástases cervicais; pacientes HPV positivos possuem prognósticos melhores por possuírem mutações limitadas (MORO et al., 2018).

O sistema de estadiamento TNM é utilizado amplamente para descrever o comportamento do tumor, no qual cada sigla corresponde, respectivamente, a extensão do tumor, acometimento de linfonodos regionais e presença de metástases a distância. Entretanto, esse método apresenta falhas para determinar o prognóstico, por esse motivo deve ser analisado em conjunto com as características histológicas (ALVES, 2011). A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o

uso da gradação histopatológica, que utiliza como parâmetros: pouco, moderadamente e bem diferenciados (LOURENÇO, 2007).

Tabela 1 – Classificação para tumores malignos nos lábios e na cavidade oral.

Definição	
TX	O tumor primário não pode ser avaliado.
T0	Sem evidência de tumor primário.
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> .
T1	Tumor $\leq 2$ cm em sua maior dimensão.
T2	Tumor $2 < x \leq 4$ cm em sua maior dimensão.
T3	Tumor $> 4$ cm em sua maior dimensão.
T4	Tumor $> 4$ cm e com invasão dos tecidos adjacentes.
<hr/>	
NX	Linfonodos regionais não podem ser avaliados
N0	Ausência de metástases nos linfonodos regionais.
N1	Metástase em apenas um linfonodo homolateral, com $\leq 3$ cm em sua maior dimensão.
N2	Metástase somente em um linfonodo homolateral com $3 < x \leq 6$ cm em sua maior dimensão; ou em linfonodos homolaterais múltiplos, nenhum acima de 6 cm em sua maior dimensão; linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum acima de 6 cm em sua maior dimensão.
N3	Metástase $> 6$ cm em sua maior extensão no linfonodo.
<hr/>	
MX	A presença de metástase à distância não pode ser avaliada.
M0	Ausência de metástase à distância.
M1	Presença de metástase a distância.

Adaptado de TNM: Classificação de Tumores Malignos, 6ª edição.

O tratamento depende da extensão do tumor, entretanto, para os casos de neoplasias em estados iniciais, a escolha de tratamento preconizada é o cirúrgico e a utilização de radioterapia (RT) (BRENER et al., 2007). De acordo com Tam et al. (2017), 20% dos pacientes apresentaram recidivas (locais, regionais ou metástases a distancia) 24 meses após o tratamento inicial, além de uma série de morbidades provocadas pelo tratamento cirúrgico. A quimioterapia, geralmente, é utilizada como tratamento adjuvante ou paliativo sem alteração na sobrevida do paciente.

## 2.2. Gene BCL2, expressão e polimorfismo

O gene *bcl2*, caracterizado pela sua função anti-apoptótica, foi relatado pela primeira vez em linfomas foliculares não Hodgkin de linfócitos B através da translocação t(14;18)(q32;q21). Tal translocação, presente em 70-85% dos linfomas foliculares, proporciona uma justaposição do gene *bcl2* ao gene JH de cadeia pesada da imunoglobulina (IgH) provocando uma superexpressão da proteína *bcl2* (MONTOVANI et al., 2010). O aumento na expressão de *bcl2* é percebido, frequentemente, em células do sangue, por exemplo, linfócitos (HIGASHIYAMA, 1996).

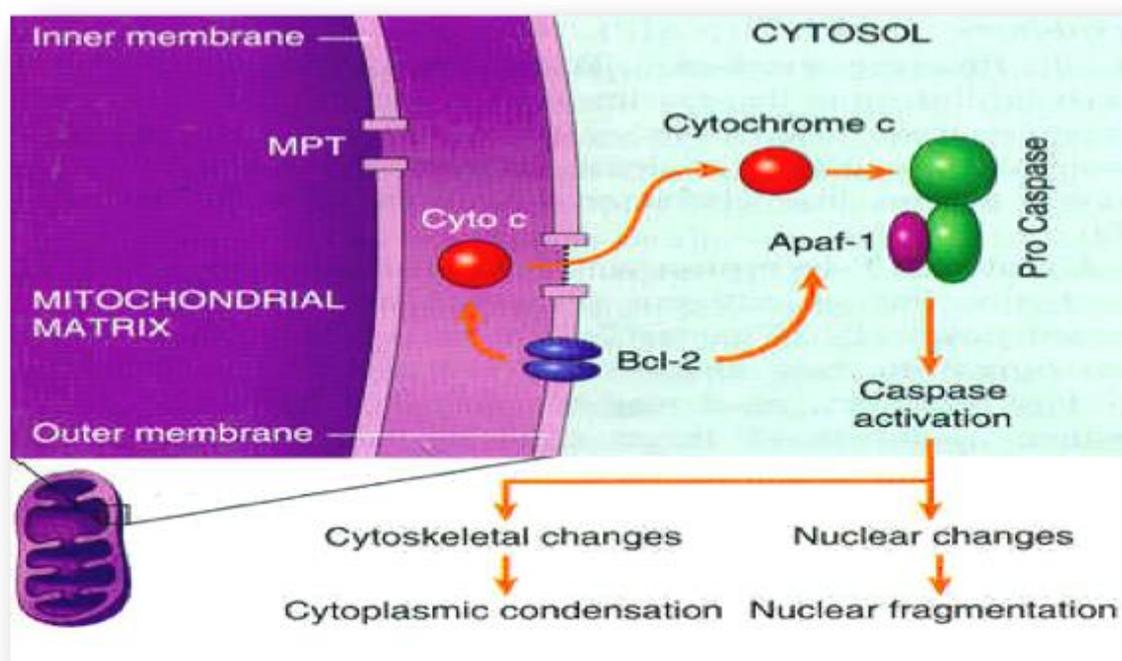


Figura 1 – Esquema da ação da proteína BCL2. Fonte: Robbins & Cotran Patologia – Bases Patológicas das Doenças. 10ª edição.

O gene *bcl2* está localizado no cromossomo 18q21.3 e é composto por 3 exons e 2 regiões promotoras (P1 e P2) que possuem funções distintas: o segundo promotor regula negativamente o primeiro, diminuindo a expressão do gene (ZHANG et al., 2011). A super-expressão desse gene está associada com cânceres agressivos e/ou resistentes ao tratamento com antineoplásicos, sendo considerado um alvo terapêutico promissor para o desenvolvimento de novas drogas (GOLDAR et al., 2015).

A proteína *bcl2* é expressa em vários tipos celulares, sobretudo as células de “vida longa”, por exemplo, linfócitos de memória e neurônios. Tal expressão tem como função realizar a manutenção de células precursoras presentes na membrana basal de vários tecidos, como o tecido epitelial presente na pele, próstata e cólon (HOCKENBERY et al., 1991).

O aumento da expressão de *bcl2* nas displasias (estágios iniciais da carcinogênese) seguida pela sua diminuição quando ocorre o estabelecimento do câncer sugere que a proteína tem um papel fundamental na tumorigênese, mantendo a célula imortal para acúmulo de mutações e quando o tumor se instala, se torna redundante ter altas concentrações da proteína quando há produção de novas proteínas anti-apoptóticas (SINGH et al., 1998).

Arya, Singh e Daniel (2016), estudando câncer oral através de imunohistoquímica encontraram associação estatística entre o aumento da expressão de *bcl2* com células cancerosas pouco diferenciadas e bem diferenciadas. Também houve associação entre o aumento da expressão de *bcl2* com a displasia moderada e neoplasias do tipo proliferativo, sugerindo a participação dessa proteína na tumorigênese/carcinogênese e em um prognóstico desfavorável para os pacientes, assim como ocorre em linfomas de células B. Não foi encontrada associação entre o aumento de expressão e o local de desenvolvimento do tumor.

Zhang et al. (2008) não estabeleceu uma associação entre o aumento na expressão de *bcl2* no carcinoma espinocelular de boca a sobrevivência dos pacientes, tamanho do tumor, gradação histopatológica, acometimento de linfonodos e metástases e histórico de consumo de álcool e hábito de fumar. Tais achados são similares ao estudo de Arya, Singh e Daniel (2016), apenas divergindo em relação

ao hábito de fumar. Porém, já foi estabelecido para outros tumores, por exemplo, carcinoma de células escamosas de laringe, associação entre o aumento da expressão com o fenótipo agressivo e localização anatômica, além de ser um regulador negativo para a implementação bem sucedida da radioterapia, enquanto que para o CCE não há um consenso (CHRYSOVERGIS et al., 2019).

Há, na literatura, dados antagônicos em relação à sobrevida dos pacientes com o aumento na expressão de *bcl2*, sugerindo uma ação específica nos diferentes tecidos: a superexpressão de *bcl2* está associada em baixa sobrevida em pacientes que possuem leucemia linfocítica crônica de células B, por exemplo, enquanto que em câncer colorretal a sobrevida é maior (ÖFNER et al., 1995; FADERL et al., 2002).

O aumento nos níveis de proteína *bcl2* não necessita, exclusivamente, da translocação t(14;18)(q32;q21). Esse aumento ocorre em uma variedade de tecidos, em desenvolvimento ou adultos, por exemplo, mama, tireóide e próstata (DEROSSI et al., 2003). Entretanto, de acordo com Montovani et al. (2010), a presença da mutação *bcl2/JH* estava presente em 12,5% dos casos de carcinoma espinocelular de boca e de faringe.

A taxa de expressão de *bcl2* varia de acordo com o grau histopatológico do CCE, concluindo que o gene *bcl2* possui um papel fundamental no processo de tumorigênese (SUTARIYA et al., 2016). Além do mais, a expressão também varia de acordo com a topografia da doença (SUDHA et al., 2011), entretanto, os estudos apresentam resultados divergentes em relação a essas características.

Um dos principais polimorfismos que ocorrem no gene *bcl2* é o SNP -938 C > A (rs2279115) na região promotora P2. Esse polimorfismo provoca uma diminuição na função reguladora de P2, conseqüentemente, ocorrendo um aumento na transcrição do gene. Por ser um gene antiapoptótico, a super-expressão da proteína pode provocar um acúmulo de mutações que levam a formação de uma geração de células cancerosas. Tal polimorfismo está associado à progressão da leucemia linfocítica crônica, carcinomas na orofaringe, na próstata, entre outros (NUCKEL et al., 2007; LEHNERDT et al., 2009; KIRAZ et al., 2016). Bachmann et al. (2007; 2011) relataram uma associação entre a presença do alelo A e a sobrevida dos pacientes.

Zhang et al. (2011) concluíram que o genótipo homocigoto AA, em pacientes chinesas portadoras de câncer de mama, está associado a uma suscetibilidade e a um risco maior de desenvolvimento do carcinoma, além de está associado com a presença de nódulos a um melhor prognóstico. Entretanto, não esteve associado com o aumento da expressão, discordando de Nüchel et al. (2007).

Li et al. (2013), estudando o polimorfismo SNP -938 C > A, em tumores localizados no sistema nervoso central, não encontrou significância estatística entre a presença do polimorfismo e o hábito de fumar e o consumo de bebidas alcoólicas. Foi demonstrado que pacientes que possuíam glioblastoma em estágio 4 apresentavam uma frequência maior no genótipo homocigoto AA, correlacionando como marcador de prognóstico e desenvolvimento da neoplasia, além disso, o genótipo AA e o alelo A estavam associados a um risco e uma suscetibilidade maior de desenvolvimento do tumor, assim como para carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (CHEN et al., 2007), câncer de esôfago etc (LIU et al., 2011). Todavia, Lehnerdt et al. (2009) não associou o polimorfismo SNP -938 C > A com o risco de desenvolvimento de câncer de células escamosas orofaríngeo.

Chen et al. (2007), estudando cânceres de cabeça e pescoço, observaram associação entre o risco de desenvolvimento do tumor com consumo de álcool e o hábito de fumar. Associando com o polimorfismo do gene *bcl2* -398 C > A, não houve significância estatística para o risco de desenvolvimento do tumor.

Em câncer de células pequenas pulmonares, Yang et al. (2015) perceberam que o genótipo homocigoto mutante AA estava significativamente mais baixo no grupo caso e que o alelo A, com relação ao risco, seria fator de proteção para o desenvolvimento da patologia. Também foi possível associar o polimorfismo e o risco desenvolvimento da neoplasia com a idade, gênero e características clínicas dos indivíduos. Foi observada uma associação estaticamente significante entre os genótipos AC e AA e a diminuição do risco em indivíduos maiores e menores de 57 anos de idade para ambos os sexos, principalmente para estágios mais limitados.

Assim como para o câncer de células pequenas pulmonares, Pan et al. (2015) encontraram que o alelo A também é fator de proteção para o risco de desenvolvimento do carcinoma esofágico de células escamosas, principalmente

entre aqueles que não possuem hábito de fumar e de ingerir bebidas alcoólicas. Não foi encontrada associação entre a suscetibilidade e os sexos dos indivíduos.

Em carcinomas de células renais, não foi encontrada associação entre o polimorfismo e os fatores clínicos dos pacientes, como estadiamento do tumor e classificação TNM. Os principais efeitos da presença do genótipo homozigoto mutante foram o aumento da expressão da proteína *bcl2*, diminuição da apoptose e aumento da proliferação celular. Indivíduos que apresentam o alelo A e carcinoma de células renais possuem um aumento na sobrevida global, além de possuírem um bom prognóstico, entretanto, não foi estabelecido nenhum risco associado à suscetibilidade do tumor (Hirata et al., 2009).

A presença do genótipo homozigoto CC, em indivíduos portadores de câncer de próstata, age como um marcador associado com a recidiva após a realização da prostatectomia radical, podendo ser um fator preditivo. Não foi encontrada nenhuma associação entre o polimorfismo e o risco de desenvolver o tumor. Alguns estudos associam o polimorfismo rs2279115 com a escala de Gleason, estadiamentos elevados e refratários ao tratamento hormonal, até mesmo com a progressão da doença, porém os resultados ainda são discordantes (Hirata et al., 2009).

A proteína BCL2 pode ser usada como um alvo terapêutico eficiente. A combinação de ABT-199 (venetoclax), medicamento usado no tratamento de linfomas, e quimioterapia (geralmente cisplatina) possui uma grande eficácia no tratamento de CEC. O ABT-199 é um potente inibidor da *bcl2*, provocando danos à mitocôndria, que pode ser medida através da quantificação de EROs, ATP, entre outros; potencializando os efeitos de fármacos antineoplásicos. Não atua de maneira seletiva, porém provoca mais danos nas células cancerosas do que nas células saudáveis (XIONG, 2016).

### **3. Justificativa**

Nos últimos anos, o tratamento de CEC evoluiu, entretanto a sobrevida dos pacientes diagnosticados manteve-se constante, igual a 5 anos aproximadamente (MARKOPOULOS, 2012). Também representa um grande problema de saúde

pública em decorrência dos altos índices de mortalidade e morbidade. As maiores taxas de mortalidade estão presentes nas regiões sudeste e sul do país (DEUSDEDIT, 2016). Além disso, tumores com características clínicas e histopatológicas semelhantes apresentam comportamentos agressivos diferentes, inclusive estando associado a uma resposta negativa ao tratamento com radioterapia e/ou quimioterapia por inibir a apoptose induzida (POPOVIC et al., 2007).

Portanto o estudo do CEC, associado ao polimorfismo do gene *bcl2* -938 C > A, poderá fornecer informações que auxiliarão no diagnóstico precoce, através da formação de marcadores tumorais e moleculares capazes de prever o curso da doença, auxiliando na definição do prognóstico e do tratamento, diminuindo as morbidades provocadas.

## **4. Objetivos**

### **4.1. Objetivo Geral**

- Analisar o polimorfismo no gene *bcl2* -938 C > A em participantes portadores do CEC de boca com suas diferentes manifestações clínicas em pacientes do ambulatório de Estomatologia do Hospital Regional da Asa Norte (HRAN) que apresentam lesão bucal compatível com hipótese de diagnóstico de CEC e que foram confirmados posteriormente.

### **4.2. Objetivos específicos**

- Associar o polimorfismo com o risco de desenvolvimento de CEC de boca;
- Executar as estratégias de biologia molecular (PCR e digestão enzimática) para estudo do polimorfismo no gene *bcl2* e investigar possíveis associações clínicas.

## **5. Metodologia**

### **5.1. Revisão de literatura**

Os instrumentos de pesquisa utilizados foram: Scielo Brasil, Periódicos Capes, MedLine, Lilacs e Biblioteca Virtual em Saúde. O período de acesso foi de agosto de 2018 até agosto de 2019.

## **5.2. Cálculo Amostral**

Foi utilizado o *software* Roasoft para calcular o valor de n mínimo para uma significância estatística 95%. Para isso, foi utilizado o valor da população do DF, estimada em 3 milhões de pessoas, e o número da incidência de câncer de boca para o ano seguinte igual a 160 pessoas/100 mil habitantes no DF, segundo o INCA. O valor mínimo de amostras para nível de significância de 95% para o CEC foi de três pacientes.

## **5.3. Amostra e estratégias de Biologia Molecular**

As amostras de sangue venoso sofreram extração do material genético que, em seguida, foi submetido à estratégia PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism Polymerase Chain Reaction) para estudo da distribuição dos SNPs. Os produtos formados sofreram ação da enzima de restrição *BccI*. Com os novos produtos, foi realizada uma eletroforese em gel de agarose.

## **5.4. Participantes da Pesquisa**

### **Critérios de inclusão dos pacientes**

Casos: Foram analisados pacientes ambulatoriais do setor de Estomatologia do Hospital Regional da Asa Norte (HRAN) que apresentaram lesões bucais compatíveis com a hipótese de diagnóstico de CEC, confirmadas posteriormente. Maiores de 18 anos e que aceitaram participar da pesquisa. Foram preenchidas fichas clínicas com dados demográficos dos participantes.

Controle: Foram analisados 30 pacientes saudáveis do sexo masculino maiores de 18 anos que fazem parte do banco de controle do laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ceilândia e que aceitaram fazer parte da pesquisa.

## **5.5. Termo de Consentimento**

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi obtido de todos os participantes do presente estudo, caso possuíssem condições de compreender e assinar o TCLE. Projeto encontra-se aprovado pelo Comitê de Ética (CAAE:

58398716.1.0000.0030) e com fomento pela FAPDF (edital 04/2017 – demanda espontânea).

### **5.6. Procedimentos Técnicos Laboratoriais**

As amostras de sangue total dos participantes portadores do câncer da boca foram coletadas por punção venosa, cerca de 5 mL, com material adequado, novo e descartável, no HRAN. Após a coleta, o material foi mantido em recipiente contendo gelo, até o transporte para a Universidade de Brasília (UnB), no campus da Faculdade de Ceilândia (FCE) no laboratório de Análises Clínicas, onde foram estocados e ocorreram os processamentos das amostras.

O DNA genômico foi extraído de leucócitos presentes no sangue utilizando o método *Salting Out* (MILLER et al, 1988) através de Kit comercial (IllustraTMBloodgenomicPrep Mini Spin, GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) seguindo as recomendações do fabricante. A quantidade de DNA genômico foi determinada através do equipamento Nanovue Plus (GE Healthcare, UK) por meio de leitura espectrofotométrica nas densidades óticas (DO) 260 e 280nm. A pureza do material genômico foi considerada adequada quando a razão destas densidades óticas (A260/A280) for maior ou igual a 1,8. O DNA genômico de cada paciente foi armazenado em microtubo de 1,5 mL estéril e congelado à -20°C. O DNA extraído foi descongelado para se proceder com os exames de polimorfismo genético, que foi realizado pelo método PCR (Reação em cadeia da Polimerase) qualitativo, onde análise de polimorfismos se dará com o uso de enzimas de restrição, de acordo com a região gênica de foco deste estudo.

A genotipagem do polimorfismo SNP -938 C > A foi realizada através da técnica de PCR-RFLP. As sequências dos iniciadores utilizados foram: 5'-CTGCCTTCATTTATCCAGCA-3', do *forward*, e 5'-GGCGGCAGATGAATTACAA-3', do *reverse*. Em cada PCR, foram utilizados 25µL de solução reagente, contendo: 4µL de DNA genômico (2,5ng/µL); 12,5µL de Tampão 10x Taq; 3,8µL de MgCl<sub>2</sub> (0,5 a 5mM); 10µL de dNTP (20 a 200uM); 5µL de cada oligo (0,1 a 0,5mM); 2µL de Taq DNA Polimerase (0,5 a 2,5U); e 66,8µL de água miliq. A PCR foi realizada nas seguintes condições: 94°C por 5min; 35 ciclos de 94°C por 30s, 60°C por 30s, 72°C por 30s, e extensão de 72°C por 10min.

Após a PCR, 10µL de cada amostra sofreu digestão pela enzima de restrição *BccI* durante 2 horas. Em seguida, as amostras foram submetidas a uma eletroforese em gel de agarose com brometo de etídio a 4%. A confirmação da amplificação foi feita através de luzes ultravioletas em um transiluminador. O genótipo homocigoto selvagem (CC) produziu duas bandas de 189 e 111pb; o genótipo heterocigoto (CA) produziu três bandas de 111, 189 e 300pb; e o genótipo homocigoto mutante (AA) produziu apenas uma banda de 300pb.

### **5.7. 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 nos pacientes com CEC de boca 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 Oddsratio (OR) das frequências alélicas e genotípicas, com intervalo de confiança (IC) de 95%. O programa estatístico utilizado foi o SPSS (versão 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

## **6. Resultados**

Os dados demográficos e os clínicos estão presentes na Tabela 2. As 8 amostras analisadas pertencem à homens com média de idade igual a 57,75 anos ( $\pm 7,0$ ). A maioria dos participantes é parda com histórico de consumo de bebidas alcoólicas. A totalidade da amostra apresentou-se como tabagista. A maioria dos casos de CEC foi diagnosticada na língua. Em relação ao sistema TNM, a maior parte dos tumores foi classificada em T2 e T4a, N1e M0. Avaliando a histopatologia, as neoplasias malignas foram classificadas em invasivo bem diferenciado e moderadamente diferenciado.

Tabela 2 – Frequência das variáveis demográficas e clínicas dos participantes da pesquisa.

Variáveis		Contagem	Porcentagem
Cor/Raça	Pardo	5	83,3 %
	Branco	1	16,7 %
Tabaco	Sim	8	100,0 %
Álcool	Sim	6	75 %
	Não	2	25 %
Localização	Língua (Superfície ventral inferior)	4	50 %
	Gengiva, alvéolos inferiores	1	12,5 %
	Lábio inferior	1	12,5 %
	Assoalho	1	12,5 %
	Língua (bordo posterior)	1	12,5 %
Status T	T2	2	40,0 %
	T3	1	20,0 %
	T4a	2	40,0 %
Status N	N0	2	40,0 %
	N1	3	60,0 %
Status M	M0	2	66,7 %
	MX	1	33,3 %

Histopatologia	Invasivo bem diferenciado	1	50,0 %
	Moderadamente diferenciado	1	50,0 %
Estádio	II	1	33,3 %
	III	1	33,3 %
	IV	1	33,3 %

A tabela 3 traz as informações sobre a genotipagem e o risco de desenvolvimento de CEC. A distribuição dos genótipos no grupo controle estava em equilíbrio HW ( $P = 0,583$ ). O genótipo heterozigoto CA foi o mais encontrado, presente em 50 % da amostra, enquanto que os genótipos homozigotos CC e AA obtiveram a mesma frequência, 25 % cada. Não houve associação estatística genotípica e alélica em relação ao desenvolvimento de CEC.

A tabela 4 expõe a distribuição genotípica em relação às variáveis clínicas. Percebe-se que os genótipos CA e AA são mais frequentes em indivíduos pardos que consomem álcool e apresentam hábito de fumar. Esses genótipos parecem estar envolvidos com a localização do tumor, com a classificação TNM e com o estadiamento clínico do paciente.

Tabela 3 – Associação do polimorfismo do gene *bcl2* -938 C > A com o carcinoma espinocelular de boca.

<i>bcl2</i> 938C>A	Grupos				P valor	OR (IC 95 %)
	CEC		Controle			
	N	%	N	%		
CC	2	25,0	14	46,7		
CA	4	50,0	12	40,0	0,497	NA
AA	2	25,0	4	13,3		
Total	8	100,0	30	100,0		
CC	2	25,0	14	46,7		
CA + AA	6	75,0	16	53,3	0,426	0,38 (0,06- 2,20)
Total	8	100,0	30	100,0		
C	8	50,0	40	66,7		
A	8	50,0	20	33,3	0,219	0,50 (0,16- 1,53)
Total	16	100,0	60	100,0		

Tabela 4 – Distribuição genotípica de acordo com as variáveis demográficas e clínicas.

		<i>bcl2</i> -938 C > A					
		CC		CA		AA	
		N	%	N	%	N	%
Cor/Raça	Pardo	0	0,0	3	75,0	2	100,0
	Branco	0	0,0	1	25,0	0	0,0
Tabaco	Sim	2	100,0	4	100,0	2	100,0
Álcool	Sim	2	100,0	2	50,0	2	100,0
	Não	0	0	2	50,0	0	0
Localização	Língua						
	(Superfície ventral inferior)	0	0,0	3	75,0	1	50,0
	Gengiva, alvéolos superiores	0	0,0	0	0,0	1	50,0
	Lábio inferior	0	0,0	1	25,0	0	0,0
Localização	Assoalho	1	50,0	0	0,0	0	0,0
	Língua (bordo posterior)	1	50,0	0	0,0	0	0,0
	T2	0	0,0	0	0,0	2	100,0
Status T	T3	0	0,0	1	50,0	0	0,0

	T4a	1	100,0	1	50,0	0	0,0
	N0	1	100,0	0	0,0 %	1	50,0
<i>Status N</i>	N1	0	0,0	2	100,0	1	50,0
	M0	0	0,0	1	100,0	1	100,0
<i>Status M</i>	MX	1	100,0	0	0,0	0	0,0
Histopatologia	Invasivo bem diferenciado	1	100,0	0	0,0	0	0,0
	Moderadamente diferenciado	0	0,0	1	100,0	0	0,0
Estádio	II	0	0,0	0	0,0	1	50,0
	III	0	0,0	0	0,0	1	50,0
	IV	0	0,0	1	100,0	0	0,0

## 7. Discussão

O CEC de boca é uma das neoplasias mais frequentes, acometendo mais homens com idade entre 51-60 anos. Os principais sítios de desenvolvimento são: língua, rebordo alveolar e palatos (CARLI et al., 2009). Entretanto, Teixeira et al. (2009) encontraram que os sítios mais frequentes são: assoalho de boca, língua e lábio. Os participantes da nossa pesquisa desenvolveram neoplasias malignas na língua, tanto na superfície dorsal quanto na ventral.

Todos os pacientes possuíam hábito de fumar e a maioria possuía histórico de consumo de bebidas alcoólicas. Ambos os fatores são considerados de risco tanto para o desenvolvimento de CEC quanto de outros tumores de cabeça e pescoço e já são bem estabelecidos na literatura (MARKOPOULOS, 2012).

Teixeira et al. (2009), verificaram que a maioria dos pacientes possuíam estadiamento III ou IV, que são estádios avançados. Este fato está associado com a dificuldade que a população tem ao acesso aos serviços públicos de saúde e por uma falha da atenção básica em rastrear e identificar esses indivíduos. Tal fato é

uma característica de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento (ANDRADE et al., 2014).

Em tumores de cabeça e pescoço, mama e outros tipos, os genótipos CA e AA foram mais frequentes, assim como os nossos resultados (Chen et al. 2007; Zhang et al. 2011). Todavia, HIRATA et al. (2009) encontraram o inverso em seu estudo com câncer de próstata: o genótipo homozigoto CC foi o mais frequente em relação aos genótipos CA e AA.

Kidd et al. (2006), após estudar o polimorfismo em 3 populações distintas com câncer de próstata, percebeu que o genótipo CA e AA estava mais frequente em americanos europeus do que em jamaicanos e americanos afrodescendente. No presente estudo, os genótipos CA e AA foram encontrados, em maioria, em pardos.

Zhang et al. (2011), estudando câncer de mama, não encontraram associação entre a presença do polimorfismo e o desenvolvimento da neoplasia. Entretanto, Chen et al. (2007), estudando o polimorfismo no gene *bcl2* -938 A > C (SNP) associado, simultaneamente, com outros polimorfismos (*bax* -248 G > A e TP53 Arg72Pro) em câncer de cabeça e pescoço localizados na cavidade oral, orofaringe, hipofaringe e laringe, não encontraram associação entre os polimorfismos e o risco de desenvolvimento de desenvolvimento de tumores, bem como os nossos resultados e Pan et al. (2015) também não encontraram associação entre a presença do no gene *bcl2* -938 A > C com o desenvolvimento de tumores malignos esofágicos. Entretanto, Liu et al. (2011) encontrou associação entre a presença do genótipo homozigoto AA com um risco aumentado para o desenvolvimento de câncer esofágico.

Analisando o tabagismo associado ao polimorfismo, avaliando a sua influência e suscetibilidade ao desenvolvimento de neoplasias malignas de cabeça e pescoço, pode-se constatar que, entre os não fumantes, os genótipos CA e AA possuíam menor risco de desenvolver o câncer do que o genótipo CC, enquanto que entre os fumantes, a presença dos genótipos CA e AA possuíam significativa associação em desenvolver cânceres (YANG et al, 2015). Em pacientes que possuem linfoma não Hodgkin, a frequência do genótipo homozigoto mutante AA era

superior a frequência dos genótipos CA + AA em pacientes tabagistas (WANG et al., 2013).

Para Wu et al. (2011), estudando o desenvolvimento precoce adenocarcinoma esofágico, perceberam que o polimorfismo C > A estava associado ao desenvolvimento de tumores precoces. De forma contraditória, o genótipo homozigoto mutante AA age como fator protetor para o desenvolvimento de câncer de pulmão de células pequenas, tanto para homens com idade de 57 anos ou menos e maiores de 57 anos (YANG et al, 2015). Assim como também age diminuindo o risco de desenvolver câncer de mama, quando comparado com o genótipo CC, segundo Barzegar, Moghaddam e Nikbakhsh (2017). Entretanto, estes autores não encontraram associação entre a idade das pacientes com o polimorfismo.

A dificuldade de retorno dos pacientes prejudicou a coleta de dados em relação ao sistema TNM e a análise histopatológica dos tumores. Entretanto, de acordo com a literatura, é possível associar o polimorfismo com o tipo de tumor. O genótipo homozigoto AA estava associado a tumores esofágicos pouco diferenciados, já para tumores mamários, foi encontrada associação com o tipo lobular e com o acometimento de linfonodos regionais (Liu et al. 2011; Zhang et al. 2011). Para Yang et al. (2015), considerando diversos estágios clínicos de tumores de cabeça e pescoço, concluíram que os genótipos CA e AA desenvolviam tumores limitados, mas não encontraram associação entre o polimorfismo e o desenvolvimento de tumores extensos. Pacientes com linfoma não Hodgkin que possuem genótipo homozigoto mutante AA possuem um risco maior de desenvolverem estadiamentos III ou IV do que estadiamentos I e II (WANG et al., 2013). Por outro lado, Barzegar, Moghaddam e Nikbakhsh (2017) não encontraram associação com nenhuma característica clínica, como sistema TNM e gradação histopatológica, de mulheres com câncer de mama e o polimorfismo.

## **8. Conclusão**

O gene *bcl2* possui ação anti-apoptótica, agindo na membrana mitocondrial. O polimorfismo no gene *bcl2* -938 A > C (SNP) está envolvido com o desenvolvimento de alguns tumores, entretanto, não está associado ao risco de desenvolvimento de

CEC de boca, porém está associado a um prognóstico ruim em decorrência da sua presença em tumores de estadiamento avançado, sugerindo a participação do gene *bcl2* no desenvolvimento de tumores mais agressivos, entretanto, é importante um novo estudo, com mais participantes e com a coleta completa de dados para que seja estabelecida uma associação entre a clínica do paciente e a presença do polimorfismo.

## 9. Referências

ALVES, Alessandro Menna et al . Demographic and Clinical Profile of Oral Squamous Cell Carcinoma from a Service-Based Population. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto , v. 28, n. 3, p. 301-306, June 2017 .

AMFERREIRA, et al. Prevalence and factors associated with oral potentially malignant disorders in Brazil's rural workers. **Oral Diseases**, [s.l.], v. 22, n. 6, p.536-542, 17 maio 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/odi.12488>.

ANDRADE, Silmara Nunes et al . Câncer de boca: avaliação do conhecimento e conduta dos dentistas na atenção primária à saúde. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio de Janeiro, v. 71, n. 1, jun. 2014.

ARYA, Vandana; SINGH, Subash; DANIEL, M. Jonathan. Clinicopathological correlation of Bcl-2 oncoprotein expression in oral precancer and cancer. **Journal Of Oral Biology And Craniofacial Research**, [s.l.], v. 6, n. 1, p.19-24, jan. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jobcr.2015.12.011>.

BARZEGAR, Ali; MOGHADDAM, Sepidehesfahani; NIKBAKHS, Novin. Study of the regulatory promoter polymorphism (-938C>A) of B-cell lymphoma 2 gene in breast cancer patients of Mazandaran province in Northern Iran. **Journal Of Research In Medical Sciences**, [s.l.], v. 22, n. 1, p.21, 2017. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/1735-1995.200269>.

BRASIL. Anne Karin da Mota Borges.Ministério da Saúde (Org.). **Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: Inca, 2017. Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/estimativa/2018/estimativa-2018.pdf>>. Acesso em: 29 set. 2018.

BRENER, Sylvie et al. Carcinoma de células escamosas bucal: uma revisão de literatura entre o perfil do paciente, estadiamento clínico e tratamento proposto. **Revbrascancerol**, v. 53, n. 1, p. 63-9, 2007.

CARLI, M. L. et al. Características clínicas, epidemiológicas e microscópicas do câncer bucal diagnosticado na Universidade Federal de Alfenas. **Rev Bras Cancerol**, v. 55, n. 3, p. 205-11, 2009.

CHEN, K. et al. Single-nucleotide polymorphisms at the TP53-binding or responsive promoter regions of BAX and BCL2 genes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. **Carcinogenesis**, [s.l.], v. 28, n. 9, p.2008-2012, 11 ago. 2007. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgm172>.

CHRYSOVERGIS, Aristeidis et al. Digital Analysis of BCL2 Expression in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. **Anticancer Research**, [s.l.], v. 39, n. 3, p.1253-1257, mar. 2019. International Institute of Anticancer Research. <http://dx.doi.org/10.21873/anticanres.13235>.

DEROSSI, DanielaRudgeri et al. Avaliação da expressão da proteína bcl-2 no carcinoma de mama: estudo em punção aspirativa por agulha fina; correlação com grau histológico em espécimes cirúrgicos correspondentes. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 3, p.229-235, 2003.

DEUSDEDIT, Mariane Barbosa et al. Análise da prevalência de carcinoma de células escamosas da cavidade bucal no Serviço de Estomatologia do Hospital Metropolitano Odilon Behrens em Belo Horizonte, Minas Gerais. **ArquioseemOdontologia**, v. 52, n. 4, 2016.

FADERL, S et al. Expression profile of 11 proteins and their prognostic significance in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). **Leukemia**, [s.l.], v. 16, n. 6, p.1045-1052, jun. 2002. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.leu.2402540>.

GOLDAR, Samira et al. Molecular Mechanisms of Apoptosis and Roles in Cancer Development and Treatment. **Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention**, [s.l.], v. 16, n. 6, p.2129-2144, 3 abr. 2015.Asian Pacific Organization for Cancer Prevention. <http://dx.doi.org/10.7314/apjcp.2015.16.6.2129>.

HIGASHIYAMA, Masahiko et al. Bcl-2 oncoprotein expression is increased especially in the portion of small cell carcinoma within the combined type of small cell lung cancer. **Tumor biology**, v. 17, n. 6, p. 341-344, 1996.

HIRATA, Hiroshi et al. Bcl2 -938C/A Polymorphism Carries Increased Risk of Biochemical Recurrence After Radical Prostatectomy. **Journal Of Urology**, [s.l.], v. 181, n. 4, p.1907-1912, abr. 2009.Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2008.11.093>.

HIRATA, Hiroshi et al. The bcl2 -938CC Genotype Has Poor Prognosis and Lower Survival in Renal Cancer. **Journal Of Urology**, [s.l.], v. 182, n. 2, p.721-727, ago. 2009. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1016/j.juro.2009.03.081>.

HOCKENBERY, David M. et al. BCL2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 88, n. 16, p. 6961-6965, 1991.

KIDD, L R et al. Germline BCL-2 sequence variants and inherited predisposition to prostate cancer. **Prostate Cancer And Prostatic Diseases**, [s.l.], v. 9, n. 3, p.284-292, 30 maio 2006.Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.pcan.4500884>.

KIRAZ, Yağmur et al. Major apoptotic mechanisms and genes involved in apoptosis. **Tumor Biology**, [s.l.], v. 37, n. 7, p.8471-8486, 9 abr. 2016.Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-016-5035-9>.

KÜNKELE, Annette et al. The BCL2-938 C > A promoter polymorphism is associated with risk group classification in children with acute lymphoblastic leukemia. **BMC cancer**, v. 13, n. 1, p. 452, 2013.

LEITE, Amanda Almeida et al. Oral squamous cell carcinoma: a clinicopathological study on 194 cases in northeastern Brazil. A cross-sectionalretrospectivestudy. **Sao Paulo Med. J.**, São Paulo , v. 136, n. 2, p. 165-169, Mar. 2018. <http://dx.doi.org/10.1590/1516-3180.2017.0293061217>.

LEHNERDT, G. F. et al. The regulatory BCL2 promoter polymorphism (-938C>A) is associated with relapse and survival of patients with oropharyngeal squamous cell

carcinoma. **Annals Of Oncology**, [s.l.], v. 20, n. 6, p.1094-1099, 5 fev. 2009. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdn763>.

LI, Wei et al. Association of BCL2-938C>A genetic polymorphism with glioma risk in Chinese Han population. **Tumor Biology**, [s.l.], v. 35, n. 3, p.2259-2264, 28 nov. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-013-1299-5>.

LIU, Zhigang et al. The -938A/A genotype of BCL2 gene is associated with esophageal cancer. **Medical Oncology**, [s.l.], v. 29, n. 4, p.2677-2683, 21 dez. 2011. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s12032-011-0135-2>.

LOURENÇO, Simone de Queiroz Chaves et al. Classificações histopatológicas para o carcinoma de células escamosas da cavidade oral: revisão de sistemas propostos. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 53, n. 3, p. 325-33, 2007.

MARKOPOULOS, Anastasios K. Current aspectson oral squamouscell carcinoma. **The open dentistry journal**, v. 6, p. 126, 2012.

MONTOVANI, Jair et al. Detecção do Rearranjo da Proteína BCL2/JH em Carcinomas Epidermoides de Boca e Faringe. **Arq. Int. Otorrinolaringol**, São Paulo, v. 14, n. 3, p.288-293, 15 maio 2010. Trimestral.

MORO, Juliana da Silva et al. Oral and oropharyngeal cancer: epidemiology and survival analysis. **Einstein (São Paulo)**, [s.l.], v. 16, n. 2, p.1-5, 7 jun. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1679-45082018ao4248>.

NÜCKEL, Holger et al. Association of a novel regulatory polymorphism (-938C>A) in the BCL2 gene promoter with disease progression and survival in chronic lymphocytic leukemia. **Blood**, [s.l.], v. 109, n. 1, p.290-297, 7 set. 2006. American Society of Hematology. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2006-03-007567>.

ÖFNER, D et al. Immunohistochemically detectable bcl-2 expression in colorectal carcinoma: correlation with tumour stage and patient survival. **British Journal Of Cancer**, [s.l.], v. 72, n. 4, p.981-985, out. 1995. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.1995.446>.

PAN, Wenting et al. Functional BCL-2 regulatory genetic variants contribute to susceptibility of esophageal squamous cell carcinoma. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 5, n. 1, 1 jul. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep11833>.

PARK, Byunglae et al. Identification of variants in cyclin D1 (CCND1) and B-Cell CLL/lymphoma 2 (BCL2). **Journal Of Human Genetics**, [s.l.], v. 49, n. 8, p.449-454, 22 jul. 2004. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10038-004-0173-0>.

POPOVIC, B et al. Bcl-2 Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**, [s.l.], v. 1095, n. 1, p.19-25, 1 jan.2007. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1397.003>.

RENNER, Wilfried et al. BCL2 genotypes and prostate cancer survival. **Strahlentherapie Und Onkologie**, [s.l.], v. 193, n. 6, p.466-471, 10 abr. 2017. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00066-017-1126-9>.

SINGH, Baldev B et al. Immunohistochemical evaluation of bcl-2 oncoprotein in oral dysplasia and carcinoma. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, And Endodontology**, [s.l.], v. 85, n. 6, p.692-698, jun. 1998.Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1079-2104\(98\)90037-3](http://dx.doi.org/10.1016/s1079-2104(98)90037-3).

SÜSLÜ, Nilda et al. Carcinoma of the Oral Tongue: A Case Series Analysis of Prognostic Factors and Surgical Outcomes. **Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery**, [s.l.], v. 71, n. 7, p.1283-1290, jul. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joms.2013.01.018>.

SUDHA, V. M. et al. Role of bcl-2 oncoprotein in oral potentially malignant disorders and squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study. **Indian Journal of Dental Research**, v. 22, n. 4, p. 520, 2011.

SUTARIYA, Rakesh V.; MANJUNATHA, BhariSharanesha.Immunohistochemical study of p21 and Bcl-2 in leukoplakia, oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. **Journal of experimental therapeutics & oncology**, v. 11, n. 4, 2016.

TAM, Samantha et al. Estimating Survival After Salvage Surgery for Recurrent Oral Cavity Cancer. **Jama Otolaryngology–head & Neck Surgery**, [s.l.], v. 143, n. 7, p.685-690, 1 jul. 2017. American Medical Association (AMA). <http://dx.doi.org/10.1001/jamaoto.2017.0001>.

TARDIN, Oziel Marcio Araujo et al. Estudo de Polimorfismos Genéticos na Insuficiência Cardíaca (GenetIC): delineamento do estudo e metodologia. **Rev Socerj**, v. 22, n. 1, p. 36-42, 2009.

XIONG, Lei et al. BCL-2 inhibition impairs mitochondrial function and targets oral tongue squamous cell carcinoma. **Springerplus**, v. 5, n. 1, p. 1626, 2016.

YANG, Xinyu et al. Association of the functional BCL-2 rs2279115 genetic variant and small cell lung cancer. **Tumor Biology**, [s.l.], v. 37, n. 2, p.1693-1698, 27 ago. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s13277-015-3934-9>.

WANG, Wan-ling et al. Role of polymorphisms in BCL-2 and BAX genes in modulating the risk of developing non-Hodgkin lymphoma. **Leukemia & Lymphoma**, [s.l.], v. 55, n. 7, p.1602-1608, 6 nov. 2013. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.3109/10428194.2013.842992>.

WU, I-chen et al. Association between Polymorphisms in Cancer-Related Genes and Early Onset of Esophageal Adenocarcinoma. **Neoplasia**, [s.l.], v. 13, n. 4, p.386, abr. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1593/neo.101722>.

ZHANG, Mingbin et al. Prognostic significance of Bcl-2 and Bax protein expression in the patients with oral squamous cell carcinoma. **Journal Of Oral Pathology & Medicine**, [s.l.], v. 38, n. 3, p.307

-313, 15 ago.2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0714.2008.00689.x>.

ZHANG, Ning et al. BCL-2 (-938C > A) polymorphism is associated with breast cancer susceptibility. **Bmc Medical Genetics**, [s.l.], v. 12, n. 1, 1 abr. 2011. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2350-12-48>.

## 10. Anexo 1 - Ficha de identificação dos participantes da pesquisa

- 1) Nome do participante: \_\_\_\_\_
- 2) Nome do responsável legal (se houver): \_\_\_\_\_
- 3) Idade: \_\_\_\_ anos
- 4) Sexo: ( ) Masculino ( ) Feminino
- 5) Cor/Raça: ( ) Branca ( ) Parda ( ) Negra ( ) Sem informação
- 6) Tabaco: ( ) Sim ( ) Não Se sim, quantos maços por dia: \_\_\_\_
- 7) Álcool: ( ) Sim ( ) Não Se sim, quanto por dia: \_\_\_\_
- 8) Localização do tumor
  - ( ) Lábio
    - ( ) Lábio superior externo (borda do vermelhão)
    - ( ) Lábio inferior externo (borda do vermelhão)
    - ( ) Comissuras
  - ( ) Cavidade oral
    - ( ) Mucosa oral
      - ( ) Mucosa do lábio superior e inferior
      - ( ) Mucosa da bochecha (mucosa jugal)
      - ( ) Mucosa da bochecha (mucosa jugal)
      - ( ) Sulcos buco-alveolares, superior e inferior (vestíbulo da boca)
    - ( ) Gengiva, alvéolos superiores (rebordo alveolar superior)
    - ( ) Gengiva, alvéolos inferiores (rebordo alveolar inferior)
    - ( ) Palato duro
    - ( ) Língua
      - ( ) Superfície dorsal e bordas lateral anterior às papilas valadas
      - ( ) Superfície ventral (inferior)
    - ( ) Assoalho da boca
- 9) Tamanho do tumor primário
  - ( ) T1 Tumor com < 2 cm
  - ( ) T2 Tumor com > 2 até 4 cm
  - ( ) T3 Tumor com > 4 cm
  - ( ) T4a (lábio) Tumor que invade estruturas adjacentes: cortical ósseo, nervo alveolar inferior, assoalho da boca ou pele da face (queixo ou nariz).

( ) T4a (cavidade oral) Tumor que invade estruturas adjacentes: cortical ósseo, músculos profundos/extrínsecos da língua (genioglosso, hioglosso, palatoglosso e estiloglosso), seios maxilares ou pele da face.

( ) T4b (Lábio e cavidade oral): Tumor que invade o espaço mastigador, lâminas pterigóides ou base do crânio ou envolve artéria carótida interna.

Comprometimento de linfonodos regionais (N)

( ) Nx Os linfonodos regionais não podem ser avaliados

( ) N0 Ausência de metástases em linfonodos regionais

( ) N1 Metástase homolateral único, < 3 cm

( ) N2 Metástase em um único linfonodo homolateral, com mais de 3 cm e até 6 cm em sua maior dimensão, ou em linfonodos homolaterais múltiplos, nenhum deles com mais de 6 cm em sua maior dimensão; ou em linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum deles com mais de 6 cm em sua maior dimensão

( ) N2a Metástase Homolateral, único, > 3 até 6 cm

( ) N2b Metástase Homolateral, múltiplo, < 6 cm

( ) N2c Metástase Bilateral, contralateral, < 6 cm

( ) N3 Metástase > 6 cm

Nota: Os linfonodos de linha média são considerados linfonodos homolaterais.

Nota: A erosão superficial isolada do osso/alvéolo dentário por um tumor primário na gengiva não é suficiente para classificá-lo como T4.

10) Metástase à distância (M)

( ) Mx A presença de metástases à distância não pode ser avaliada

( ) M0 Ausência de metástases à distância

( ) M1 Presença de metástases à distância

11) Graduação histopatológica (G)

( ) Gx O grau de diferenciação não pode ser avaliado.

( ) G1 Bem diferenciado

( ) G2 Moderadamente diferenciado

( ) G3 Pouco diferenciado

( ) G4 Indiferenciado

12) Grupamento por estágio

( ) Estádio I = T1 N0 M0

- ( ) Estádio II = T2 N0 M0
- ( ) Estádio III = T1, T2 N1 M0 T3 N0, N1 M0
- ( ) Estádio IVA = T1, T2, T3 N2 M0 T4a N0, N1, N2 M0
- ( ) Estádio IVB = Qualquer T N3 M0 T4b Qualquer N M0
- ( ) Estádio IVC = Qualquer T Qualquer N M1

## 11. Anexo 2 – Termo de consentimento livre e esclarecido

O (a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto: “Estudo de padrões moleculares do câncer de boca em pacientes atendidos pelo SUS/DF”, sob responsabilidade da pesquisadora Prof<sup>a</sup> Jamila Reis de Oliveira. O nosso objetivo é pesquisar sobre o câncer de boca, através de testes feitos em laboratório, tentando encontrar alguma informação que possa melhorar o nosso conhecimento no diagnóstico e tratamento dessa doença.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe garantimos que seu nome não aparecerá, sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação e colaboração com essa pesquisa será: 1) permitindo que utilizemos uma parte da amostra que precisa ser retirada da lesão (área alterada), para diagnóstico da doença que o(a) Sr(a) está buscando diagnóstico e tratamento nesse hospital ou permitindo que utilizemos parte da gengiva que é removida no momento da cirurgia de retirada de um dente (exemplo o terceiro molar, conhecido como dente do siso); 2) participará através da coleta de aproximadamente 10ml de sangue, que será retirado apenas uma vez, com uso de uma agulha fina descartável, de um vaso sanguíneo periférico (geralmente no antebraço) e armazenado num tubo (como num exame de sangue de rotina); 3) através da coleta de saliva (aproximadamente 1ml), através do uso de uma espécie de cotonete na boca, durante cinco minutos, para estimular a produção da saliva e sua coleta num tubo de vidro; 4) informando questões referentes à sua saúde, com as quais será preenchido uma ficha clínica. Todos os procedimentos de coletas de amostras (sangue e saliva) ou de informações serão realizados num consultório adequado e reservado, no HRAN, evitando qualquer exposição e/ou constrangimento, em um único momento, com uma duração aproximada de 30 minutos. A amostra de tecido bucal será obtida após a cirurgia para diagnóstico (biópsia) ou da gengiva para remoção do siso, motivo pelo qual levou o (a) senhor(a) a procurar atendimento. Os procedimentos poderão ser realizados no mesmo dia, no entanto, a necessidade de retorno ficará a critério do Cirurgião-dentista responsável pelo procedimento cirúrgico (não tendo nenhuma relação com essa pesquisa).

Os possíveis riscos relacionados aos procedimentos da coleta de sangue podem incluir desmaio, dor e/ou hematoma (mancha roxa na pele). Raramente pode haver um pequeno coágulo sanguíneo ou infecção no local da picada da agulha. Os possíveis riscos associados aos procedimentos da coleta de saliva, podem ser representados por um breve incomodo na estimulação salivar, através da manipulação do “cotonete” na cavidade bucal. Esses possíveis riscos e/ou desconfortos serão minimizados por meio de um atendimento humanizado, cujos procedimentos serão realizados por profissionais capacitados, dedicados e responsáveis. Serão dadas orientações técnicas adequadas antes, durante e depois dos procedimentos para evitar os possíveis transtornos relatados.

Todas as amostras coletadas para esse projeto serão encaminhadas para armazenamento e análise no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, onde ficará guardado sob a responsabilidade da Profa. Jamila Reis de Oliveira, por um período de 20 anos, após esse período todo material será incinerado. Todo o material armazenado será utilizado somente para verificar as análises moleculares referentes ao presente estudo, mediante a sua autorização. As amostras serão identificadas com um número e não com seu nome. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número, mantendo-se assim o sigilo e respeito à confidencialidade dos seus dados. Os trabalhos resultantes destas pesquisas mostrarão apenas os resultados e nunca seu nome ou qualquer outra informação que ponha em risco sua privacidade. Todas as informações, bem como resultados dos seus exames estarão sempre à sua disposição, bastando para isso entrar em contato com a pesquisadora responsável. Também terá o direito de retirar seu material biológico a qualquer momento se for da sua vontade. Toda nova pesquisa a ser feita com o material guardado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa e novamente seu consentimento será necessário.

Informamos que o(a) Senhor(a) pode se recusar a responder qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, isto é, não há pagamento por sua colaboração. O benefício principal da sua participação é possibilitar que no futuro, com os resultados alcançados com esta

pesquisa, o diagnóstico e o tratamento para esse tipo de câncer beneficiem outros pacientes.

Todas as despesas que o(a) sr.(a) (e seu acompanhante, quando necessário) tiver (relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) serão cobertas pelo pesquisador responsável.

Caso haja algum dano direto ou indireto decorrente de sua participação na pesquisa, o(a) sr.(a) deverá buscar ser indenizado, obedecendo-se as disposições legais vigentes no Brasil.

Se o Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para: Dr<sup>a</sup> Jamila Reis de Oliveira, na Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, pelos telefones: (61) 3377-0615 ou pelo celular (61) 99801-5110, disponível inclusive para ligação a cobrar. O contato também poderá ser feito através do e-mail: jamila@unb.br.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde (CEP/FS) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser esclarecidos pelo telefone (61) 3107-1947 ou do e-mail cepfs@unb.br ou cepfsunb@gmail.com, horário de atendimento de 10:00hs às 12:00hs e de 13:30hs às 15:30hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FS se localiza na Faculdade de Ciências da Saúde, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Além disso, como a Secretaria de Estado de Saúde é co-participante desta pesquisa, este projeto também foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da SES/DF. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante de pesquisa também podem ser obtidos por meio do telefone: (61) 3325-4955.

Caso concorde em participar, pedimos que assine este documento que foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o Senhor(a).

---

Nome/Assinatura/RG

---

Pesquisadora Responsável  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jamila Reis de Oliveira

Brasília, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

## 12. Anexo 3 – Aprovação no comitê de ética

### **PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

#### **DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Estudo de padrões moleculares do câncer de boca em pacientes atendidos pelo SUS/DF.

**Pesquisador:** Jamila Reis de Oliveira

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 58398716.1.0000.0030

**Instituição Proponente:** Faculdade de Ceilândia - FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE APOIO A PESQUISA DO DISTRITO FEDERAL FAPDF

#### **DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.544.422

#### **Apresentação do Projeto:**

” O câncer é uma doença de grande impacto mundial e está entre as causas de óbito mais frequentes no Brasil. O termo câncer de boca abrange um conjunto de neoplasias que acometem a cavidade bucal em suas mais variadas etiologias e aspectos histopatológicos. O carcinoma espinocelular (CEC) ou epidermoide de boca corresponde entre 90% a 95% dos casos de câncer na boca, ocupando uma posição de destaque por sua prevalência dentre os cânceres de cabeça e pescoço, sobretudo nos homens, e por sua elevada morbimortalidade. Devido a possível e desejável detecção precoce dessa neoplasia na rede básica de atendimento odontológico, associada à sua elevada letalidade, pacientes apresentando esse tipo de neoplasia maligna, representam um sério problema de saúde pública. O CEC é considerado uma doença multifatorial onde exposições múltiplas interagem com o perfil genético individual resultando em modulação do risco. Polimorfismos genéticos têm sido associados ao risco desenvolvimento de neoplasias malignas. Dessa forma, esse estudo pretende avaliar a associação entre o polimorfismo de genes reguladores do ciclo celular (como Bax, Bcl-2 e p53); genes de citocinas

imunossupressoras (como IL-10 e TGF-) e gene regulador da imortalização celular (como hTERT) e o CEC de boca. Adicionalmente, pretende-se analisar a imunoexpressão desses genes nas biópsias de lesões de CEC de boca, bem como correlacioná-las com os achados genéticos. O sangue e a saliva têm sido alvos de investigações objetivando encontrar possíveis biomarcadores que possa ser relacionados com a evolução clínica, prognóstico, diagnóstico diferencial, bem como resposta aos tratamentos em diversos tipos de cânceres. O presente projeto trata-se de um estudo de Caso-Controle prospectivo, através da investigação em pacientes atendidos no Setor de Estomatologia do Hospital Regional da Asa Norte /DF (HRAN), que é considerado centro de referência, para esse tipo de tumor, na rede de saúde pública do DF, bem como análise retrospectiva de amostras de CEC em blocos de parafina e seus respectivos prontuários. O objetivo desse estudo é avaliar parâmetros moleculares associados ao CEC de boca e associá-los à parâmetros clínico-patológicos. Em busca de biomarcadores para prognóstico no CEC de boca, serão avaliadas as concentrações plasmáticas e salivares de citocinas imunossupressoras (como IL-10 e TGF-), as quais serão comparadas com indivíduos saudáveis e correlacionadas com suas expressões nas lesões tumorais. Os parâmetros clínico-patológicos serão caracterizados com base no preenchimento de uma ficha de avaliação, contendo dados concernentes ao tumor, segundo o Sistema TNM de classificação dos tumores malignos, para determinação do estadiamento clínico (localização do tumor, tamanho, comprometimento de linfonodos regionais e metástase à distância) e gradações histopatológicas (segundo o grau de diferenciação celular). Dados epidemiológicos básicos do paciente (idade, sexo, raça/cor) e fatores de risco (uso de tabaco e álcool) também serão catalogados. Palavras-chave: Câncer de boca, Carcinoma espinocelular, polimorfismo genético, imunohistoquímica, marcadores tumorais..”

#### Hipótese:

“Com o presente estudo espera-se contribuir para o entendimento da tumorigênese do CEC, através da avaliação de um amplo perfil molecular, em pacientes atendidos em centro de referência da Secretaria de Estado de Saúde do DF, na expectativa da determinação de um ou mais biomarcador tumoral.

Além de contribuir para uma caracterização epidemiológica desse tipo de câncer diagnosticado em pacientes usuários do Sistema único de saúde do DF.”

**Metodologia:**

“Análise Prospectiva: Serão incluídos na pesquisa participantes mediante assinatura do TCLE, caso tenham condições de compreender e assiná-lo. Os que não apresentarem condições clínicas de compreensão para assinatura, será solicitada assinatura do responsável legal dos mesmos. Serão selecionados 300 pacientes, do ambulatório de Estomatologia do HRAN, que apresentarem lesão bucal compatível com hipótese de diagnóstico de CEC e posteriormente diagnóstico histopatológico confirmado, como grupo caso. Será preenchido uma ficha de identificação e de aspectos clínicos da lesão (baseados no Sistema TNM de estadiamento de tumores) (ANEXO 1). O grupo controle será composto por 300 pacientes saudáveis e que forem ser submetidos a cirurgia para extração de terceiro molar ou biópsia de lesão pigmentada da cavidade bucal. As amostras serão incluídas na pesquisa caso não apresentem nenhuma alteração histopatológica. Coleta das amostras biológicas: O material obtido da lesão durante a biópsia incisional será seccionado, sendo que um fragmento será armazenado em criotubos e imediatamente acondicionados em caixa com gelo e transportados para o Laboratório de Análises Clínicas da Unb/FCE onde será armazenado em freezer a -80°C e outro será fixada em solução de formol a 10% para posterior processamento em parafina. Após diagnóstico confirmado de CEC, os pacientes serão convidados a abster-se de comer, beber, fumar, ou de proceder procedimentos de higiene oral, pelo menos 1 hora antes da coleta de saliva. A amostra de saliva total será coletada por um período de 5 minutos usando um cotonete de algodão inserido na boca. A amostra de saliva será subsequentemente diluída em solução salina tamponada contendo inibidores da protease e 0,05% de Tween- 20 e será armazenada a 20°C até a análise. O sangue venoso, aproximadamente 10 mL com tubo VacuTainer contendo EDTA a 5%, dos participantes será colhido por um membro da equipe do projeto qualificado para tal procedimento. O material será mantido em recipiente contendo gelo, até o transporte para o laboratório, onde ocorrerão os processamentos das amostras. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO 2) será obtido de todos os participantes do presente estudo caso tenham condições de compreender e assinar o TCLE. Se os pacientes não apresentaram condições clínicas, será solicitado o TCLE do responsável legal dos pacientes. Antes da coleta do material, serão realizados esclarecimentos sobre o significado e o possível uso dos resultados previstos. Termo de Guarda de Material Biológico

O Termo de Guarda de Material Biológico (ANEXO 3) será obtido de todos os participantes do presente estudo. Aos sujeitos da pesquisa será dada a possibilidade de autorizar ou não o armazenamento de dados e materiais biológicos coletados no âmbito da pesquisa. Todo participante terá acesso a seus dados, assim como terá o direito de retirá-los do banco onde estarão armazenados, a qualquer momento. Análises laboratoriais: Os parâmetros imunológicos de concentração plasmática e salivar de citocinas imunossupressoras (como IL-10 e TGF-) serão avaliados pelo método ELISA. Para determinação do polimorfismo genético, o sangue será submetido à centrifugação, sendo o sobrenadante (plasma) estocado em frascos a -20°C. Os buffy coats (leucócitos já separados por centrifugação) serão congelados a -20°C, para posterior extração de DNA, cuja concentração será determinada por meio da corrida eletroforética em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídeo. O DNA obtido será estocado a -20°C até o momento da análise. Em seguida, a reação em cadeia da polimerase será realizada para os genes alvos. A imunohistoquímica será realizada visando detecção dos anticorpos primários relacionados ao controle do ciclo celular, à resposta inflamatória imunossupressora e à imortalidade celular (tais como: TGF-B1 anti-humano, IL10 anti-humana, p53 anti-humana, anticorpo policlonal anti-hTERT”

Critério de Inclusão:

“Grupo Caso: Serão selecionados 300 pacientes do ambulatório de Estomatologia do HRAN, que apresentarem lesão bucal compatível com hipótese de diagnóstico de Carcinoma espinocelular e posteriormente diagnóstico histopatológico confirmado. Os participantes deverão ser maior de idade e aceitar participar da presente pesquisa (com devida assinatura do TCLE).”

“Grupo Controle: Será composto por 300 pacientes que aceitarem participar da pesquisa; maiores de 18 anos; saudáveis e que forem submetidos a cirurgia

para extração de terceiro molar ou biópsia de lesão pigmentada da cavidade bucal. As amostras serão incluídas na pesquisa caso não apresentem nenhuma alteração histopatológica (com devida assinatura do TCLE).”

**Critério de Exclusão:**

“Grupo Caso e Controle: Pacientes menores de 18 anos e que apresentem sinais de morbidade significativa ou problemas de saúde como: doenças autoimunes, infecção pelo HIV, disfunção renal, cardiopatias, infecções ativas e

**Objetivo da Pesquisa:**

“Objetivo Primário:

Realizar estudo prospectivo no Setor de Estomatologia do Hospital Regional da Asa Norte /DF (HRAN), para avaliar parâmetros moleculares associados ao CEC de boca e associá-los à parâmetros clínico-patológicos.”

**Objetivo Secundário:**

“1- Avaliar a associação entre o polimorfismo de genes relacionados ao controle do ciclo celular, à resposta inflamatória imunossupressora e à imortalidade celular (como os genes Bax, Bcl-2; p53; IL-10, TGF- e hTERT) e o CEC de boca. 2- Analisar a imunexpressão de proteínas relacionadas ao controle do ciclo celular, à resposta inflamatória imunossupressora e à imortalidade celular (como os genes Bax, Bcl-2; p53; IL-10, TGF- e hTERT) nas lesões de CEC de boca. 3- Comparar as concentrações salivares e plasmáticas de citocinas imunossupressoras (como a IL-10 e TGF-) em pacientes com CEC de boca, com indivíduos saudáveis (grupo controle). 4- Correlacionar a expressão citocinas imunossupressoras (como a IL-10 e TGF-) salivar e plasmática com a sua expressão no tecido tumoral. 5- Contribuir para uma descrição epidemiológica dos casos de pacientes portadores de CEC bucal, atendidos no HRAN/SUS-DF.”

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

De acordo com a pesquisadora:

“Riscos:

Os riscos físicos e inconvenientes para coleta da amostra da lesão não serão diferentes daqueles previstos durante os procedimentos normais para a obtenção de amostras biológicas necessária para o diagnóstico histopatológico

da doença. Os materiais utilizados nessa pesquisa serão aqueles considerados excedentes dos coletados através de uma biópsia incisional para o diagnóstico do CEC ou no caso do grupo controle, excedente de gengiva em casos de extração de terceiro molares ou fracionamento do tecido utilizado para diagnóstico de lesão pigmentada (como tatuagem por amálgama). Os riscos associados aos procedimentos da coleta de sangue podem incluir desmaio, dor e/ou hematoma (mancha roxa na pele). Raramente pode haver um pequeno coágulo sanguíneo ou infecção no local da picada da agulha. Os riscos associados aos procedimentos da coleta de saliva, podem ser representados por um breve incomodo na estimulação salivar, através da manipulação do “swab” na cavidade bucal. Os possíveis riscos e desconfortos descritos anteriormente, serão minimizados por meio de um atendimento humanizado, cujos procedimentos serão realizados por profissionais capacitados, dedicados e responsáveis. Dessa forma buscar-se-á o vínculo profissional propício para a confiança e entendimento dos benefícios da participação na pesquisa. Orientações técnicas adequadas serão fornecidas profilaticamente, específicas para cada procedimento, no intuito de evitar os possíveis riscos. Não haverá risco de perda de confidencialidade, uma vez que as informações coletadas das análises das amostras, bem como, os dados pessoais da ficha clínica serão mantidos de maneira confidencial e sigilosa. Os dados somente serão utilizados depois de anonimizados. Apenas os pesquisadores autorizados terão acesso aos dados pessoais, resultados de exames, bem como às informações do registro médico dos pacientes. Não haverá quaisquer custos ou despesas (gastos) ao paciente pela sua participação nessa pesquisa

**“Benefícios:**

A participação nesta pesquisa não oferecerá benefícios diretos ao participante (grupo caso ou controle), remuneração, nem quaisquer benefícios ou direitos financeiros sobre eventuais resultados decorrentes desta pesquisa. O benefício principal da participação na pesquisa é possibilitar que no futuro, com os resultados alcançados, o diagnóstico, prognóstico e/ou tratamento para esse tipo de câncer beneficiem outros pacientes.”

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisadora retirou da metodologia do projeto de pesquisa a análise dos prontuários paciente e dos blocos de parafina para fins assistencial do HRAN.

Alem disso, comunicou que o lapso temporal de resposta as pendencias desse comite ocorreram devido a intencao de concorrer a um edital da FAPDF como orgao de fomento. Os documentos protocolares da Plataforma Brasil foram atualizados. A carta resposta contem os esclarecimentos as solicitacoes deste CEP para a analise do projeto, conforme elencado no parecer consubstanciado no 1;744;626. postado em 26/09/2016.

A carta resposta contém os esclarecimentos às solicitações deste CEP para a análise do projeto, conforme elencado no parecer consubstanciado nº2492274 postado em 08/02/2018 .

### **Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Documentos analisados para emissão do presente parecer:

1. "PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_711767.pdf", postado em 23/02/2018;
2. "Carta\_resposta\_ao\_CEP\_segunda.pdf", postado em 20/02/2018;
3. "Projeto\_Cancer\_CEP\_corrigido\_pedencias\_editavel.docx", postado em 23/02/2018;
4. "TCLE\_projeto\_Cancer\_recorrigido.doc", postado em 20/02/2018.

### **Recomendações:**

Não se aplicam.

### **Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Análise das respostas às pendências emitidas no parecer consubstanciado Nº 2492274:

No documento "PB\_INFORMACOES\_BASICAS\_DO\_PROJETO\_711767.pdf", item "criterio de exclusao", pagina 5 de 8, le-se: "Grupo Caso e Controle: Pacientes que nao aceitarem participar da pesquisa; menores de 18 anos e que apresentem sinais de morbidade significativa ou problemas de saude como: doencas autoimunes, infeccao pelo HIV, disfuncao renal, cardiopatias, infeccoes ativas e hepatite. " Considerando que os criterios de exclusao constituem um subgrupo de individuos que apresentam caracteristicas ou motivos eticos e clinicos que podem interferir na qualidade dos dados, assim como na interpretacao dos resultados, a recusa do participante em assinar o TCLE nao consiste em criterio de exclusao em pesquisa e solicita-se correcao deste item no projeto.

RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: A solicitacao foi atendida e corrigida no

texto do projeto na pagina 16 (anexo projeto), bem como na plataforma.

ANALISE - parecer Nº 1.744.626: No referido paragrafo, le-se: “Grupo Caso e Controle: Pacientes menores de 18 anos e que apresentem sinais de morbidade significativa ou problemas de saude como: doencas autoimunes, infeccao pelo HIV, disfuncao renal, cardiopatias, infeccoes ativas e hepatite.”

PENDENCIA ATENDIDA.

1. A fonte de financiamento apresentado no arquivo “Planilha\_detalhada.doc” difere do informado no arquivo "PB\_INFORMACOES\_BASICAS\_DO\_PROJETO\_711767.pdf". Solicita-se uniformizar a informação nos arquivos e esclarecer a fonte financiadora.

RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: No momento inicial da avaliacao pretendia-se concorrer a um edital da FAPDF como orgao de fomento. No entanto, como nao havia aprovacao, foi informado como fonte de financiamento, o financiamento proprio. Essa pendencia fez com que ocorresse uma estagnada no presente processo, a fim de buscar fonte financiadora para o mesmo. No dia 27/11/2017 a FAPDF me comunicou por e-mail a seguinte informacao: a proposta intitulada “Estudo de padroes moleculares do cancer de boca em pacientes atendidos pelo SUS/DF”, protocolo no 16713.78.31275.26042017, submetida por V.Sa. ao Edital 04/2017 - SELECAO PUBLICA DE PROPOSTAS DE PESQUISA CIENTIFICA, TECNOLOGICA E INOVACAO DEMANDA ESPONTANEA FOI CONVOCADA PARA FINANCIAMENTO, considerando a decisao do Conselho Diretor da FAPDF, consignada na Ata 427, baseada na Clausula de Reserva do Edital, autorizando a convocacao de novos proponentes, tendo em vista a nao contratacao de propostas por pendencias documentais (documentos serao enviados em anexo como Universidade de Brasilia – UnB Faculdade de Ceilandia – FCE comprovacao desse fato novo – e-mail convocatorio e publicacao no Diario Oficial do GDF). Sendo assim, informo nesse item de pendencia, que a fonte financiadora foi alterada, inclusive com um novo valor (antes de 60.000,00 – agora 70.000,00) e os documentos reenviados para apreciacao desse Comite. Aproveito para justificar o lapso temporal e, sobretudo, a retomada desse processo. Saliento que foi alterado na plataforma, bem como novo documento de planilha de orcamento foi reenviada.”

ANALISE - parecer Nº 1.744.626: PENDENCIA ATENDIDA.

2. No arquivo "PB\_INFORMACOES\_BASICAS\_DO\_PROJETO\_711767.pdf", no

item Riscos, pagina 5 de 8, lê-se: "Os riscos associados aos procedimentos da coleta de sangue podem incluir desmaio, dor e/ou hematoma (mancha roxa na pele). Raramente pode haver um pequeno coágulo sanguíneo ou infecção no local da picada da agulha. Não ha riscos associados aos procedimentos da coleta de saliva, talvez um breve incomodo na estimulação salivar, através da manipulação do "swab" na cavidade bucal." Conforme item V, Res. CNS 466/2012, risco da pesquisa e a "possibilidade de danos a dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer pesquisa e dela decorrente", ainda sendo necessário estratégias de cuidados para minimizá-los. Solicita-se descrever os meios de minimizar os possíveis riscos e desconfortos que os participantes serão submetidos.

RESPOSTA: A solicitacao foi atendida na reformulacao do texto do item riscos no projeto (paginas 16 e 17). ANALISE: No referido paragrafo, le-se: " Os possiveis riscos e desconfortos descritos anteriormente, serao minimizados por meio de um atendimento humanizado, cujos procedimentos serao realizados por profissionais capacitados, dedicados e responsaveis. Dessa forma buscar-se-a o vinculo profissional propicio para a confianca e entendimento dos beneficios da participacao na pesquisa. Orientacoes tecnicas adequadas serao fornecidas profilaticamente, especificas para cada procedimento, no intuito de evitar os possiveis riscos."

PENDENCIA ATENDIDA.

3. Quanto ao documento "TCLE\_projeto\_Cancer.doc", postado em 04/08/2016" são listadas as seguintes pendências:

A escrita do TCLE deve ser clara e adequada, no que se refere a terminologia utilizada, verifica-se termos médicos muito técnico, exemplos: "aspectos moleculares do câncer de boca", "marcador que possa melhorar o diagnostico" e "fragmento da amostra da lesão", dificultando o entendimento e o consentimento dos participantes da pesquisa. Solicita-se adequar a terminologia para prestar informações com linguagem clara e acessível, utilizando-se termos mais apropriados a cultura, faixa etária, condição socioeconômica dos participantes da pesquisa (Res. CNS 466/2012, item VI.1, subitem.)

RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitacao atendida atraves da adequacao da terminologia utilizada no TCLE. Novo TCLE foi reenviado, buscando sanar todas as pendencias e solicitacoes desse parecer. Novo TCLE tambem foi incluido no projeto

como anexo 2 (paginas 26 e 27).

ANALISE - parecer Nº 1.744.626: No primeiro paragrafo do novo TCLE, le-se: "O (a) Senhor(a) esta sendo convidado(a) a participar do projeto: "Estudo de padroes moleculares do cancer de boca em pacientes atendidos pelo SUS/DF", sob responsabilidade da pesquisadora Profa Jamila Reis de Oliveira. O nosso objetivo e pesquisar sobre o cancer de boca, atraves de testes feitos em laboratorio, tentando encontrar alguma informacao que possa melhorar o nosso conhecimento no diagnostico e tratamento dessa doenca." PENDENCIA ATENDIDA.

No terceiro parágrafo, lê-se "A sua participação será através de um fragmento da amostra da lesão (que será retirada em parte para diagnostico da doença) ou de um fragmento de gengiva quando do momento da cirurgia de remoção de terceiro molar ou um fragmento de lesão pigmentada de boca, alem de sangue e saliva. Também será preenchida uma ficha clinica. " Solicita-se adicionar informações detalhadas, sobre os possíveis riscos (desmaio, hematomas, dor e outros), os meios de minimizá-los e a descrição dos procedimentos invasivos, bem como a duração e local que serão realizados. (Res. CNS 466/12 itens IV.3, subitem c).

RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitacao atendida atraves da insercao, no TCLE, de informacoes mais detalhadas sobre os possíveis riscos e descricao dos procedimentos que serao realizados.

ANALISE - parecer Nº 1.744.626: Nos referidos paragrafos, le-se: "A sua participacao e colaboracao com essa pesquisa sera: 1) permitindo que utilizemos uma parte da amostra que precisa ser retirada da lesao (area alterada), para diagnostico da doenca que o(a) Sr(a) esta buscando diagnostico e tratamento nesse hospital ou permitindo que utilizemos parte da gengiva que e removida no momento da cirurgia de retirada de um dente (exemplo o terceiro molar, conhecido como dente do siso); 2) participara atraves da coleta de aproximadamente 10ml de sangue, que sera retirado apenas uma vez, com uso de uma agulha fina descartavel, de um vaso sanguineo periferico (geralmente no antebraço) e armazenado num tubo (como num exame de sangue de rotina); 3) atraves da coleta de saliva (aproximadamente 1ml), atraves do uso de uma especie de cotonete na boca, durante cinco minutos, para estimular a producao da saliva e sua coleta num tubo de vidro; 4)

informando questões referentes a sua saúde, com as quais será preenchido uma ficha clínica. Todos os procedimentos de coletas de amostras ou de informações serão realizados num consultório adequado e reservado, evitando qualquer exposição e/ou constrangimento.”... e “Os possíveis riscos relacionados aos procedimentos da coleta de sangue podem incluir desmaio, dor e/ou hematoma (mancha roxa na pele). Raramente pode haver um pequeno coágulo sanguíneo ou infecção no local da picada da agulha. Os possíveis riscos associados aos procedimentos da coleta de saliva, podem ser representados por um breve incômodo na estimulação salivar, através da manipulação do “cotonete” na cavidade bucal. Esses possíveis riscos e/ou desconfortos serão minimizados por meio de um atendimento humanizado, cujos procedimentos serão realizados por profissionais capacitados, dedicados e responsáveis. Serão dadas orientações técnicas adequadas antes, durante e depois dos procedimentos para evitar os possíveis transtornos relatados.” Verifica-se pendência devido ausência de informação se todas os procedimentos serão realizados em uma única data e especificar o local das intervenções. Solicita-se descrever no TCLE o tempo total das intervenções e o local que serão realizados.

NOVA RESPOSTA/ANÁLISE - parecer Nº 2.492.274: A solicitação foi atendida e corrigida TCLE, incluindo em seu quarto parágrafo, página 1, o seguinte texto: “Todos os procedimentos de coletas de amostras (sangue e saliva) ou de informações serão realizados num consultório adequado e reservado, no HRAN, evitando qualquer exposição e/ou constrangimento, em um único momento, com uma duração aproximada de 30 minutos. A amostra de tecido bucal será obtida após a cirurgia para diagnóstico (biópsia) ou da gengiva para remoção do siso, motivo pelo qual levou o (a) senhor (a) a procurar atendimento. Os procedimentos poderão ser realizados no mesmo dia, no entanto, a necessidade de retorno ficará a critério do Cirurgião-dentista responsável pelo procedimento cirúrgico (não tendo nenhuma relação com essa pesquisa).” O TCLE foi corrigido também no arquivo: Projeto\_corrigido\_pendencias\_19\_02\_18.pdf, no anexo 2.

PENDÊNCIA ATENDIDA.

O TCLE não traz informações adequadas sobre a quantidade a ser coletada do material biológico, o propósito da coleta, local e o tempo de armazenamento.

Solicita-se incluir as informações, relacionadas ao armazenamento, a utilização e ao destino final do material biológico (Port. No 2.201/2011, Art.4) RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitação atendida através da inserção, no TCLE, de informações mais detalhadas sobre quantidade de material biológico a ser coletado, armazenamento e destino do material biológico. Percebeu-se a necessidade de solicitação do termo de guarda de material biológico, o qual foi acrescentado ao projeto, com a devida justificativa. Termo de Guarda de Material Biológico foi anexado na plataforma, bem como no projeto (paginas 14 e 15 e como anexo 3 pg 28) .

ANALISE - parecer Nº 1.744.626: . Conforme a Res. CNS no 441/2011 e Portaria MS No 2.201/2011, as informacoes sobre coleta, armazenamento, processamento e descarte do material biologico devem constar no TCLE. Diante disso, solicita-se: (a) Nao utilizar o Termo de Guarda de Material Biologico; (b) Descrever de forma clara, concisa e completa, as informacoes relacionadas a coleta, armazenamento, utilizacao e destino final do material biologico. A saber, a natureza do material do material biologico que sera coletado (exemplo: sangue, urina, etc.), a quantidade, o proposito da coleta (analises que serao realizadas), o destino do material biologico apos o seu processamento (descarte ou armazenamento), o local e tempo de armazenamento. (c) Informar a possibilidade de utilizacao futura do material biologico e a necessidade de nova submissao de projeto de pesquisa ao CEP e a obtencao de novo consentimentodo participante de pesquisa; (d) Informar que o consentimento para a guarda e utilizacao do material biologico pode ser retirado a qualquer momento pelo participante de pesquisa.

NOVA RESPOSTA/ANALISE - parecer Nº 2.492.274: A solicitação foi atendida eliminando o Termo de Guarda de material biológico e incluindo seu conteúdo no TCLE (abrangendo as solicitações dos itens de “b” a “d”), com a inserção do parágrafo 6, página 2, com o seguinte texto: “Todas as amostras coletadas para esse projeto serão encaminhadas para armazenamento e análise no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, onde ficará guardado sob a responsabilidade da Profa. Jamila Reis de Oliveira, por um período de 20 anos, após esse período todo material será incinerado. Todo o material armazenado será utilizado somente para verificar as análises moleculares referentes ao presente estudo, mediante a sua autorização. As amostras serão identificadas com um número e não com

seu nome. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número, mantendo-se assim o sigilo e respeito à confidencialidade dos seus dados. Os trabalhos resultantes destas pesquisas mostrarão apenas os resultados e nunca seu nome ou qualquer outra informação que ponha em risco sua privacidade. Todas as informações, bem como resultados dos seus exames estarão sempre à sua disposição, bastando para isso entrar em contato com a pesquisadora responsável. Também terá o direito de retirar seu material biológico a qualquer momento se for da sua vontade. Toda nova pesquisa a ser feita com o material guardado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa e novamente seu consentimento será necessário.” O TCLE foi corrigido também no arquivo: Projeto\_corrigido\_pedencias\_19\_02\_18.pdf, no anexo 2, bem como o Termo de Guarda de Material Biológico, anexo 3, foi suprimido. Foi realizada a mesma correção na plataforma.

PENDÊNCIA ATENDIDA.

De acordo com Res.466/2012 itens II.21, ressarcimento e a “compensação material, exclusivamente de despesas do participante e seus acompanhantes, quando necessário, tais como transporte e alimentação”. Além disso, o item IV.3.g informa que o TCLE deve conter obrigatoriamente a “explicitação da garantia de ressarcimento e como serão cobertas as despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes”. Solicita-se descrever no TCLE a garantia de ressarcimento e a cobertura de todas as despesas tidas pelos participantes e seus os acompanhantes (quando necessário) decorrentes da pesquisa. Os custos com os ressarcimentos devem compor a planilha orçamentária.

RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitação atendida através da adequação do TCLE as exigências quanto ao ressarcimento, bem como inclusão de previsão na planilha orçamentária.

ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: No parágrafo: “Todas as despesas que o(a) sr.(a) (e seu acompanhante, quando necessário) tiver (relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) serão cobertas pelo pesquisador responsável.”

PENDÊNCIA ATENDIDA.

4.5 Solicita-se retirar a restrição de horário e acrescentar a possibilidade de ligação a cobrar.

RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitação atendida através da adequação do TCLE as exigências dessa pendência. ANÁLISE: A pesquisadora respondeu: "Solicitação atendida através da adequação do TCLE as exigências dessa pendência".

ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: Lê-se parágrafo: "Se o Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação a pesquisa, por favor telefone para: Dra Jamila Reis de Oliveira, na Faculdade de Ceilandia da Universidade de Brasília, pelos telefones: (61) 3377-0615 ou pelo celular (61) 99801-5110, disponível inclusive para ligação a cobrar. O contato também poderá ser feito através do e-mail: jamila@unb.br."

PENDÊNCIA ATENDIDA.

4. Considerando que segundo o pesquisador, "O sangue e a saliva tem sido alvos de investigações objetivando encontrar possíveis biomarcadores que possa ser relacionados com a evolução clínica, prognóstico, diagnóstico diferencial, bem como resposta aos tratamentos em diversos tipos de cânceres.", e que a propriedade do material biológico e SEMPRE do participante de pesquisa, esforços para consentir os pacientes cujos blocos de parafina com as amostras serão utilizados para análise devem ser realizados. Diante do exposto:

5. Considerando que segundo o pesquisador, "O sangue e a saliva tem sido alvos de investigações objetivando encontrar possíveis biomarcadores que possa ser relacionados com a evolução clínica, prognóstico, diagnóstico diferencial, bem como resposta aos tratamentos em diversos tipos de cânceres.", e que a propriedade do material biológico e SEMPRE do participante de pesquisa, esforços para consentir os pacientes cujos blocos de parafina com as amostras serão utilizados para análise devem ser realizados. Diante do exposto:

Solicita-se que seja apresentado TCLE para o contato com esses participantes. Contudo, tendo em vista a dificuldade de estabelecer contato com os pacientes, solicita-se a apresentação de termo de dispensa de TCLE para aqueles participantes que não possam ser localizados e contatados.

Solicita-se, ainda, apresentação de protocolo detalhado para estabelecimento

de contato com esses participantes de pesquisa e manutenção do sigilo e confidencialidade."

Ressalta-se a necessidade de armazenamento das amostras em parafina para re-teste clínico, caso seja necessário. A Sociedade Brasileira de Patologia recomenda que este material seja armazenado pelo menos 20 anos após a sua coleta no âmbito assistencial. Assim, o material não deve ser esgotado em uma pesquisa científica. Solicita-se apresentar declaração de compromisso quanto ao não esgotamento de material do acervo assistencial da instituição.

RESPOSTA/ANALISE - parecer Nº 2.492.274: Diante da dificuldade da busca retroativa de pacientes portadores de câncer, da possibilidade de não mais encontrá-los vivos, da delicada situação em contatar com os familiares, foi ponderado pela equipe executora do projeto e decidido retirar da pesquisa TODA a parte retrospectiva. A parte prospectiva do projeto é a porção de maior peso para os objetivos desejados. Assim, todas essas pendências, que compõem o item 5, tornam-se inexistentes. Foram removidas menções quanto ao aspecto retrospectivo em várias partes do projeto: resumo (páginas 2 e 3); Objetivos primários e secundários (pgs 12 e 13); Metodologia (pg 13).

PENDÊNCIA ATENDIDA.

6. No documento não editável "Folha\_de\_rosto\_atualizada\_01\_12\_2017.pdf" postado em 01/12/2017, os campos a serem preenchidos na folha de rosto não foram datados e assinados. Solicita-se o adequado preenchimento e assinatura com identificação dos signatários. RESPOSTA/ANALISE - parecer Nº 2.492.274: A folha de rosto está devidamente preenchida.

PENDÊNCIA ATENDIDA.

7. Quanto ao cronograma pesquisa apresentado no Arquivo "PB\_INFORMACOES\_BASICAS\_DO\_PROJETO\_711767.pdf" postado em 01/12/2017 solicita-se atualizar e acrescentar a informação de que a pesquisa será iniciada após aprovação dos Comitês de Ética da FEPECS e FS.

RESPOSTA/ANALISE - parecer Nº 2.492.274: A solicitação foi atendida e corrigida na plataforma, bem como foi incluído no projeto (arquivo: Projeto\_corrigido\_pendencias\_19\_02\_18.pdf), o item 15, na página 19.

PENDÊNCIA ATENDIDA

Todas as pendências foram sanadas.

Não há óbices éticos para a realização deste projeto.

### Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com a Resolução 466/12 CNS, itens X.1.- 3.b. e XI.2.d, os pesquisadores responsáveis deverão apresentar relatórios parcial semestral e final do projeto de pesquisa, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa. O início das atividades de coleta dos dados do projeto devem aguardar a aprovação do projeto pelo CEP da instituição coparticipante, se for o caso.

#### Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_711767.pdf	23/02/2018 13:13:09		Aceito
Outros	Carta_resposta_ao_CEP_segunda_editavel.doc	23/02/2018 13:12:31	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Cronograma	Cronograma_editavel.docx	23/02/2018 13:10:57	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Cancer_CEP_corrigido_pedencias_editavel.docx	23/02/2018 13:09:44	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	20/02/2018 11:53:04	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Cancer_CEP_corrigido_pedencias.pdf	20/02/2018 11:52:08	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Carta_resposta_ao_CEP_segunda.pdf	20/02/2018 11:44:48	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_projeto_Cancer_recorrigido.doc	20/02/2018 11:43:09	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Orçamento	Planilha_detalhada_atualizada.pdf	01/12/2017 18:33:03	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	DODF_226_27_11_2017_FOMENTO_APROVADO.pdf	01/12/2017 18:28:55	Jamila Reis de Oliveira	Aceito

Outros	Email_convocatorio_EDITAL_04_2017_DEMANDA_ESPONTANEA.pdf	01/12/2017 18:27:06	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	folhaDeRosto_01_12_17_editavel.pdf	01/12/2017 18:19:58	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_concordancia_Corparticipacao_HRAN_atualizado_editavel.doc	01/12/2017 18:17:41	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_concordancia_HRAN_01_12_2017_atualizado.pdf	01/12/2017 18:13:18	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_Aceite_HRAN_atualizado_editavel.doc	01/12/2017 18:12:45	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_aceite_HRAN_01_12_17.pdf	01/12/2017 18:11:03	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_aceite_da_FCE_atualizado.pdf	01/12/2017 17:46:16	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de	TERMO_DE_ACEITE_DA_FCE_editavel	01/12/2017	Jamila Reis de	Aceito

Instituição e Infraestrutura	I_atualizado.doc	17:45:48	Oliveira	
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_atualizada_01_12_2017.pdf	01/12/2017 16:44:58	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	cartaencaminhprojeto_editavel.doc	04/08/2016 09:21:07	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_Resp_Pesq_editavel.doc	04/08/2016 09:17:24	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Luiz_Alexandre.pdf	01/08/2016 20:27:22	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Jamila.pdf	01/08/2016 20:26:42	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Izabel.pdf	01/08/2016 20:26:07	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Eliziario.pdf	01/08/2016 20:25:05	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Diego.pdf	01/08/2016 20:24:11	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Aline.pdf	01/08/2016 20:22:16	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Carta_de_encaminhamento_assinada.pDf	01/08/2016 20:20:24	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_responsabilidade_assinado.pDf	01/08/2016 17:32:18	Jamila Reis de Oliveira	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**BRASÍLIA, 07 DE MAIO DE 2018**

---

**Assinado por:**

**Marie Togashi**

**(Cordenador)**