



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

VINÍCIUS GUIMARÃES PESSOA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE *IL1B* EM PACIENTES PORTADORES
DE CÂNCER DE TIREOIDE.**

BRASÍLIA, 2018

VINÍCIUS GUIMARÃES PESSOA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE *IL1B* EM PACIENTES PORTADORES
DE CÂNCER DE TIREOIDE.**

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jamila Reis de Oliveira
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA, 2018

PP475a Pessoa, Vinícius Guimarães
Análise do Polimorfismo no gene IL1B em pacientes portadores de Câncer de Tireoide / Vinícius Guimarães Pessoa, orientador Jamila Reis de Oliveira; co-orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva. -- Brasília, 2018.
61 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2018.

1. Câncer de Tireoide. 2. Radioisótopos do Iodo. 3. Interleucina-1 beta. 4. Polimorfismo Genético. I. Oliveira, Jamila Reis de , orient. II. Silva, Izabel Cristina Rodrigues da , co-orient. III. Título.

VINÍCIUS GUIMARÃES PESSOA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE *IL1B* EM PACIENTES PORTADORES
DE CÂNCER DE TIREOIDE.**

BANCA EXAMINADORA



Dr. Jamila Reis de Oliveira
Professora Adjunta - FCE
Universidade de Brasília

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Jamila Reis de Oliveira
(Universidade de Brasília - FCE)



Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva
(Universidade de Brasília - FCE)

Rafael Martins de Moraes
(Universidade de Brasília)

Lígia Canongia de Abreu Cardoso
(Centro Universitário Planalto do Distrito Federal - UNIPLAN)

BRASÍLIA, 2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, e por me dar a cada novo dia, uma nova oportunidade para superar obstáculos e me tornar uma pessoa melhor.

Aos meus pais Ana Cristina e Valteir Pessoa, agradeço a educação que moldou meu caráter, além de toda dedicação, amor, carinho, suporte e apoio que foram determinantes para que eu chegasse até aqui.

Agradeço a minha querida irmã Viviane Guimarães por toda amizade, amor, preocupação e por estar sempre a disposição para ajudar no que fosse preciso.

Aos meus grandes e velhos amigos Clédson Emídio e Nelson Dantas, agradeço pelos conselhos, cumplicidade e por estarem sempre presentes em momentos importantes da minha vida.

Agradeço também aos amigos que fiz na faculdade, em especial Victor Hugo Queiroz, Filipe Rhaony, Pedro Peixoto, Caroline Fratelli, Suzana Cristina, Samara Betina, Victor Botelho, Lucas Farias, Andresa Augusta e Jéssica Caroline. Sem vocês, a faculdade não teria sido a mesma, obrigado pelo companheirismo e por compartilharem e superarem comigo os desafios da graduação.

A minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Jamila Reis de Oliveira e Co-orientadora, Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva, agradeço a confiança, paciência, atenção, encorajamento e orientação para que o presente trabalho fosse concluído. Pessoas a quem tenho profunda admiração, respeito e gratidão.

Ao Farmacêutico Rafael Martins e a Biomédica Lígia Canongia por aceitarem o convite para compor a banca de avaliação do presente trabalho.

Ao Dr. Alaor Barra e a Prof^a Dr^a Silvana Funghetto fica o agradecimento por possibilitarem a realização das análises desse trabalho.

Por fim, a todos os Professores da Universidade de Brasília, colegas de Laboratório e preceptores de estágio que fizeram parte da minha vida acadêmica e me auxiliaram a construir cada degrau na longa caminhada da graduação.

Sumário

RESUMO.....	6
ABSTRACT	7
LISTA DE TABELAS	8
LISTA DE GRÁFICOS.....	9
REVISÃO BIBLIGRÁFICA.....	10
Câncer de Tireoide	10
Epidemiologia do Câncer de Tireoide	12
Tratamento do Câncer de Tireoide	13
Interleucina 1BETA (IL-1 β)	15
O Polimorfismo <i>IL1-B</i> -511	16
JUSTIFICATIVA	16
OBJETIVOS	17
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
ARTIGO.....	22
RESUMO	23
ABSTRACT.....	24
1. INTRODUÇÃO	25
2. MATERIAL E MÉTODO	27
2.1. Cálculo da amostra e descrição.....	27
2.2. Comitê de ética, critérios de inclusão e exclusão	27
2.3. Extração de DNA e genotipagem	27
2.4. Parâmetro inflamatório	29
2.5. Características clínicas dos indivíduos	29
2.6. Análise estatística.....	29
3. RESULTADOS.....	30
3.1. Frequência genotípica e alélica do polimorfismo <i>IL1B</i> -511 no estudo caso-controle.....	30

3.2. Níveis séricos da IL-1 β , genotipagem e suas correlações com as características clínicas dos portadores de PCT submetidos a iodoterapia.....	30
4. DISCUSSÃO	35
5. CONCLUSÃO	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38
ANEXOS	41
Anexo 1: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa.....	41
Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Grupo Caso).....	49
Anexo 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Grupo Controle).....	53
Anexo 4: Dados Clínicos dos prontuários dos pacientes.....	57
Anexo 5: Normas da revista científica de escolha para publicação – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML).....	58

RESUMO

O Carcinoma Papilífero de Tireoide (CPT) é a mais comum entre as neoplasias tireoidianas. A inflamação constitui um importante componente no microambiente tumoral, e marcadores moleculares para vias inflamatórias têm obtido destaque na compreensão da biologia das neoplasias, o que favorece o diagnóstico e tratamento. Dentre estes marcadores, a IL-1 β é uma citocina diretamente relacionada com a resposta imune da inflamação. Os objetivos do presente trabalho foram associar a presença do SNP IL1B (-511) - rs16944 à susceptibilidade ao CPT, bem como comparar níveis séricos da citocina antes e sete dias após a Iodoterapia, juntamente com outras características clínicas dos pacientes. Trata-se de um estudo caso-controle, no qual foram obtidas amostras de sangue de 52 indivíduos (26 em cada grupo). A genotipagem foi realizada por meio da estratégia PCR-RFLP. Os níveis séricos de IL-1 β foi medido por meio de kit para ensaio imunoenzimático (ELISA). Testes para médias e estudos de associação foram executados considerando-se um nível de significância de 5%. Não houve diferença estatística com relação a distribuição genotípica entre indivíduos caso e controle, e estes grupos não diferiram em relação às dosagens de citocina. Porém, os níveis de citocina aumentaram significativamente após a Iodoterapia, sendo que os portadores do genótipo CC apresentaram maior produção da proteína, mas este aumento não estava correlacionado com a dose de radiofármaco administrada. O polimorfismo *IL1B* (-511) não foi associado à susceptibilidade ao CPT, porém os níveis séricos da citocina elevaram-se com o tratamento da iodoterapia, e esta elevação foi genótipo dependente.

Palavras-Chave: Câncer de Tireoide. Radioisótopos do Iodo. Interleucina-1 beta. Polimorfismo Genético.

ABSTRACT

Papillary carcinoma of the thyroid (PCT) is the most common thyroid neoplasm. Inflammation is an important component in the tumor microenvironment, and molecular markers for inflammatory pathways have been highlighted in the understanding of the biology of neoplasias, which favors diagnosis and treatment. Among these markers, IL-1 β is a cytokine directly related to the immune response of inflammation. The objective was to Associate the presence of IL1B SNP (-511) - rs16944 to the susceptibility to PCT, and compare serum cytokine levels before and seven days after Iodotherapy, along with other clinical characteristics of the patients. It is a case-control study in which blood samples were obtained from 52 individuals (26 in each group). Genotyping was performed using the PCR-RFLP strategy. Serum IL-1 β levels were measured by immunoenzymatic assay kit (ELISA). Tests for averages and association studies were performed considering a significance level of 5%. There was no statistical difference regarding the genotypic distribution between case and control subjects, and these groups did not differ in relation to the cytokine dosages. However, cytokine levels increased significantly after iodotherapy, whereas patients with the CC genotype showed higher protein production, but this increase was not correlated with the dose of radiopharmaceutical administered. The IL1B (-511) polymorphism was not associated with PCT susceptibility, but serum cytokine levels were elevated with iodine treatment, and this elevation was dependent genotype.

Keywords: Thyroid Cancer. Radioisotopes of iodine. Interleukin-1 beta. Genetic Polymorphism.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuições genóticas e alélicas dos portadores de CPT e controle.....	30
Tabela 2: Níveis séricos de $Il1-\beta$ segundo o genótipo, nos diferentes grupos de estudo.....	32
Tabela 3: Estudo da correlação entre a dose administrada do radiofármaco e os níveis séricos da citocina.....	33
Tabela 4: Medianas, intervalos da mediana e P-valores das medidas de Tireoglobulina, TSH e IMC nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo.....	34
Tabela 5: Estudo da associação entre Distribuição da Antitireoglobulina, sexo e dose do radiofármaco administrada nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo.....	34

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Níveis séricos de $IL1-\beta$ nos diferentes grupos de estudo.....	32
--	----

REVISÃO BIBLIGRÁFICA

Câncer de Tireoide

Tireoide é o nome dado a glândula endócrina de origem endodérmica situada na região cervical anterior à laringe, sendo constituída de dois lóbulos laterais que são unidos por um istmo. Tal glândula se encontra anterolateralmente à traqueia e ao esôfago. Ela se desenvolve precocemente na porção cefálica do tubo digestivo, e tem como função sintetizar os principais hormônios controladores da taxa metabólica do corpo humano, sendo esses a triiodotironina e tiroxina, popularmente conhecidos como T3 e T4, respectivamente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2005; TORTORA; NIELSEN, 2013).

A glândula tireoide é em sua maior parte, formada por estruturas saculares esféricas microscópicas, denominadas folículos. A estrutura dos folículos é basicamente constituída por células foliculares, sendo que dessas, muitas se estendem até o lume folicular. As células foliculares podem variar seu formato de cúbico baixo a escamoso quando inativas, entretanto a influência do TSH, além de fazer com que essas células passem a secretar hormônios ativamente, promove uma mudança estrutural, onde as mesmas se tornam cúbicas ou colunares baixas. Os folículos tireoidianos são responsáveis por armazenar uma substância secretora denominada colóide, a qual é constituída em sua maioria por tireoglobulina. Em condições normais, em que os níveis de Iodo se encontram dentro dos parâmetros, a glicoproteína em questão possui importante papel na síntese dos hormônios T3 e T4 (TORTORA; NIELSEN, 2013; CARVALHO et al., 1987).

Há considerável frequência no que diz respeito a nódulos tireoidianos, que podem representar diversas doenças desta glândula. Embora tais nódulos sejam geralmente benignos, se faz necessário excluir a hipótese de malignidade, representada pelo câncer da tireoide. Tal condição, que é sobretudo rara, vem sofrendo um aumento na sua incidência, e seu prognóstico pode variar de bom a ruim. Se tratado de forma correta, propicia ao paciente uma boa expectativa de vida, porém, a evolução clínica incerta de determinados tipos de carcinoma pode levar o paciente a óbito em poucos meses (ROSÁRIO et al., 2013).

De acordo com o INCA (Instituto Nacional do Câncer), o câncer da tireoide pode ser considerado o mais comum entre as neoplasias da região da cabeça e do pescoço. Este pode ser dividido basicamente em dois grandes grupos: Carcinomas

Diferenciados e Carcinomas Pouco Diferenciados. Há ainda a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS) que determina critérios e discrimina os tumores da tireoide em epiteliais, não epiteliais, miscelâneas, metástases de outros tumores e lesões pseudotumorais (HEDINGER et al., 1989).

Os dois exemplos mais comuns de malignidades tireoidianas são o Carcinoma Papilífero e Folicular, os quais mostram diferenciação histológica evidente, e por esse motivo também são chamados de Carcinomas Diferenciados da Tireoide. Células para-foliculares que produzem calcitonina são responsáveis por um outro tipo de neoplasia da glândula em questão, o chamado Carcinoma Medular da Tireoide, sendo já considerado um subtipo não diferenciado da patologia. Há também o mais raro entre os carcinomas da tireoide, o qual não possui diferenciação histológica alguma, e recebe o nome de Carcinoma Indiferenciado ou Anaplásico (MACIEL, 1998).

O Carcinoma Papilífero compreende a forma mais comum de câncer tireoidiano, sendo geralmente associado a exposição prévia à radiação ionizante. Lesões solitárias ou multifocais no interior da tireoide podem ser formas de manifestação desse tipo de neoplasia. As lesões frequentemente são císticas e podem conter áreas de fibrose e calcificação. O diagnóstico definitivo se dá por meio de microscopia, onde se baseia nas características nucleares da célula. Se manifestam geralmente como massa indolor no pescoço ou no interior da tireoide (KUMAR et al., 2013).

O Carcinoma Folicular ocorre com menos frequência, se comparado ao papilífero, compreendendo 5 a 15 % dos cânceres tireoidianos. Tem maior ocorrência em áreas com deficiência dietética de iodo. Com relação a sua morfologia, as células características desse tipo de neoplasia da tireoide são compostas por células uniformes, que formam pequenos folículos, podendo ser um tipo de carcinoma amplamente ou minimamente invasivo, onde no primeiro caso pode ocorrer infiltração no parênquima tireoidiano e até em tecidos conjuntivos extratireoidianos. Através da corrente sanguínea, essa neoplasia tende a metastatizar por meio da corrente sanguínea para os pulmões, ossos e fígado (KUMAR et al., 2013).

Considerados tumores indiferenciados do epitélio folicular tireoidiano, os Carcinomas Anaplásicos correspondem a menos de 5% das neoplasias malignas da tireoide. Sua taxa de mortalidade se aproxima a 100%, e isso se dá pelo fato de ser

um tumor agressivo que vem geralmente acompanhado por mal prognóstico. Geralmente, sua forma de manifestação consiste em massas volumosas que possuem um crescimento rápido além da tireoide chegando a alcançar estruturas adjacentes do pescoço, crescimento esse que independe do tratamento empregado. Metástases que atingem locais distantes são comuns, porém as causas de óbito geralmente são o comprometimento das estruturais vitais do pescoço em decorrência do crescimento rápido do tumor (KUMAR et al., 2013).

Carcinomas Medulares da Tireoide derivam de células parafoliculares, sendo consideradas neoplasias neuroendócrinas. Podem se manifestar como lesões múltiplas ou nódulo único. Depósitos amiloides provenientes de moléculas alteradas de calcitonina podem estar presentes no estroma adjacente e lesões maiores geralmente contem áreas de necrose e hemorragia. Ao Microscópio, as células características do Carcinoma Medular geralmente são poligonais a fusiformes (KUMAR et al., 2013). O Carcinoma Medular pode apresentar duas formas, a Esporádica e a Hereditária, sendo que a primeira se apresenta como uma malignidade unifocal e lateral, já a segunda se distribui de forma multifocal e multicêntrica (PUÑALES et al., 2004)

Os carcinomas de tireoide classificados como diferenciados (CDT) são geralmente curáveis, sobretudo quando diagnosticados com antecedência. O tratamento considerado adequado, permite ao paciente um bom prognóstico com longa sobrevida, que em boa parte dos casos é similar a um indivíduo que nunca teve nenhum tipo de neoplasia (WARD et al., 2004).

Epidemiologia do Câncer de Tireoide

A prevalência de câncer de tireoide vem aumentando nas últimas décadas, sendo as causas para tal aumento, ainda em discussão (GERMANO, 2016). Embora sua incidência também venha aumentando, a mortalidade é estável ou decrescente, pois avanços nos estudos de biologia molecular possibilitam diagnósticos precisos do câncer de tireoide, além de informações importantes acerca do desenvolvimento de doenças tireoidianas (ANDRADE et al., 2016).

O Instituto Nacional do Câncer estimou para o ano de 2016 no Brasil, 6.960 novos casos de Câncer de Tireoide, sendo 1.090 desses novos casos para o sexo masculino e 5.870 para o sexo feminino, o que gera um risco de 1,08 casos a cada 100 mil homens e 5,70 casos a cada 100 mil mulheres. Ainda de acordo com a

estatística do INCA, a incidência dessa neoplasia é cerca de duas vezes maior em mulheres do que em homens, o que pode ser explicado por fatores hormonais. Exemplos de alterações como a deficiência crônica e excesso nutricional no organismo podem levar a um maior risco no desenvolvimento da doença, sobretudo para as mulheres, uma vez que tais alterações levam a hiperplasia e alterações dos elementos foliculares.

Para o ano de 2018, foram estimados 1.570 novos casos de Câncer de Tireoide para o sexo masculino e 8.040 para o feminino, com risco estimado de 1,49 casos a cada 100 mil homens e 7,57 casos a cada 100 mil mulheres (INCA, 2018).

No estudo de DOS SANTOS, L. M. S., (2016) foi feito um levantamento epidemiológico respeito da evolução temporal da mortalidade por câncer de tireoide no Brasil no período de 2000 a 2012. Resultados informaram um total de 6.914 óbitos por carcinoma de tireoide durante o período estudado, de forma que 2.212 casos correspondem ao sexo masculino e 4.702 correspondem ao sexo feminino. Observou-se ainda que o número de óbitos em mulheres com carcinoma de tireoide aumentou significativamente se comparado com anos anteriores, onde no ano de 2000 o coeficiente de mortalidade observado foi de 0,32 óbitos a cada 100 mil mulheres e no ano de 2012 houve aumento do mesmo coeficiente para 0,43 óbitos a cada 100 mil mulheres. De maneira geral, a mortalidade por câncer de tireoide aumentou, segundo o estudo.

Recidivas podem ser bastante frequentes, apesar de bom prognóstico inicial. Estima-se que 20% dos pacientes apresentarão recorrência na própria tireoide, ou em gânglios cervicais e de mediastino; 5 a 10% desenvolverão metástase em outros órgãos e tecidos, como pulmões, ossos e cérebro. Após o tratamento inicial, é necessário acompanhar os CDT's para detectar possíveis recorrências, e assim possibilitar tomadas de decisões necessárias a mudança do curso da doença (CAETANO et al., 2016).

Tratamento do Câncer de Tireoide

De acordo com o Instituto Nacional do Câncer, a escolha do tratamento varia com o tipo histológico e estadiamento clínico dos tumores malignos da tireoide. Para Carcinomas Diferenciados da Tireoide, deve ser levada em consideração a análise dos fatores de risco. Caso esteja enquadrado como baixo risco, as medidas a serem tomadas são a retirada parcial de um lobo tireoidiano (Lobectomia) e a retirada do

Istmo (Istmectomia). Já para os Carcinomas Diferenciados considerados de alto risco, opta-se pela Tireoidectomia Total, podendo ser complementada com Iodoterapia ou com Radioterapia, em casos de tumores não captantes de Iodo. Já para os Carcinomas Indiferenciados, as medidas possíveis são a Tireoidectomia Total e Traqueostomia, podendo a Radioterapia também ser empregada em caso de tumores irresssecáveis. O tratamento de escolha para carcinoma medular geralmente consiste também na Tireoidectomia Total, em conjunto com o Esvaziamento Seletivo do compartimento central. Caso sejam detectados linfonodos cervicais metastáticos, deve se proceder com o esvaziamento cervical seletivo (INCA/MS PROCEDURES, 2002).

Os carcinomas papilares e foliculares, ou Cânceres Diferenciados de Tireoide (CDT), figuram entre as neoplasias malignas com maior índice de cura, estimando-se que 85% dos pacientes a obtenham. O tratamento mais utilizado, e considerado como primeira escolha para esses dois tipos de malignidade consiste na retirada cirúrgica da glândula tireoide, clinicamente denominada Tireoidectomia, posteriormente complementada com ablação pelo Rádiofarmaco I^{131} , também chamado Iodo Radioativo (CAETANO et al., 2016).

Através do tratamento com Iodo, se faz possível a remissão permanente do tumor em pacientes, uma vez que o I^{131} entra na célula folicular e produz ação destrutiva nas células alvo (GRAF, 2005).

O objetivo do tratamento com Iodo Radioativo consiste em diminuir a mortalidade e recorrência dos Carcinomas Diferenciados de Tireoide por meio da erradicação de focos tumorais micro ou macroscópicos. Geralmente administra-se 30 a 150mCi de I^{131} para ablação de remanescentes glandulares e entre 150 a 250mCi no tratamento de metástases glandulares. O Sistema de Co-Transporte Sódio-Iodo (NIS) permite que células neoplásicas mantenham, ao menos parcialmente, capacidade de retenção de Iodo, o que permite a ação do fármaco em questão (SAPIENZA et al., 2005).

Após administração do I^{131} , a energia da radiação ionizante se perde, o que compromete estruturas químicas em toda a célula alvo, causando sérios danos sobre a molécula de DNA e gerando como consequências a disfunção e a morte celular (ROBBINS; SCHLUMBERGER, 2005).

A tratamento com o Iodo Radioativo geralmente não é utilizado para Carcinomas Indiferenciados da Tireoide, uma vez que células anaplásicas não são

capazes de captar Iodo, o que ocorre diante da impossibilidade na expressão da proteína NIS por essas células. A escolha da melhor estratégia terapêutica para o Carcinoma Anaplásico esbarra na dificuldade da realização de estudos com essa finalidade, uma vez que se trata de um tumor muito agressivo e com baixa incidência (CARVALHO; GRAF, 2005).

Interleucina 1BETA (IL-1 β)

Citocina é o nome dado a um grupo de moléculas proteicas, glicosiladas ou não, que possuem papel importante no sistema imunológico, onde atuam no envio de sinais estimulatórios, modulatórios e/ou inibitórios. Sua síntese geralmente ocorre após estimulação antigênica, fazendo com que em condições normais, atuem em baixas concentrações (VARELLA; FORTE, 2001).

A interleucina-1 (IL-1) é um polipeptídeo, pertencente ao grupo das citocinas, que é considerado como o principal agente mediador na resposta imune contra inflamação, infecção bacteriana e lesões teciduais, onde pode atuar de maneira pleiotrópica em vários tipos celulares, entre eles, queratinócitos, macrófagos, mastócitos, células da glia e fibroblastos (BRADDOCK; QUINN, 2004).

Entre as interleucinas pertencentes a família IL-1, estão a IL-1 α , IL-1 β e IL-1Ra (SIMS; SMITH, 2010). Essas citocinas possuem diferenças com relação a sua função imunológica, uma vez que existem as pró inflamatórias, representadas por IL-1 α e IL-1 β , além das anti-inflamatórias representadas pela IL-1RA. A IL-1RA atua como um antagonista competitivo de receptores IL-1 tipo 1 (IL-1RI), portanto quando ocupa tais receptores suprime a reação inflamatória que seria mediada por IL-1 α e/ou IL-1 β (DINARELLO, 2009).

Inicialmente, a IL-1 β é sintetizada por macrófagos, monócitos e células dendríticas, entretanto sua produção também pode ocorrer por linfócitos B e células NK. A IL-1 β é sintetizada na forma de precursora inativa, ativada pela caspase-1 e secretada por via não convencional. Pode atuar de forma parácrina ou sistêmica (WEBER et al., 2010).

Em doenças caracterizadas pela ocorrência de processo inflamatório agudo ou crônico, a IL-1 β juntamente com as outras citocinas pró-inflamatórias pode induzir o organismo a criar uma série de respostas, entre elas a febre, aumento da síntese proteica pelo fígado, aumento na liberação de corticosteroides, alteração da

atividade cerebral das monoaminas, hiperalgesia entre outros (HEINRICH et al., 1990; Watkins et al., 1995).

A IL-1 β também é responsável por induzir a ativação transcripcional do gene NF- κ B para expressão de moléculas de adesão e citocinas. A expressão de moléculas de adesão endotelial também aumenta, o que facilita a agregação de outras células inflamatórias no endotélio. Indiretamente, a IL-1 β aumenta a expressão de macrófagos, fator de crescimento derivado de plaqueta e fator de crescimento de fibroblastos, associados a processos inflamatórios de algumas doenças, como por exemplo a Arteriosclerose (FRANCISCO et al., 2006).

O polimorfismo *IL1-B* -511

A Interleucina IL1 β é codificada pelo gene *IL1B*, envolvida em respostas imunológicas, proliferação e diferenciação celular, apoptose e doenças autoimunes (DINARELLO, 1996).

O gene da *IL1B* é localizado no cromossomo 2q 14, e polimorfismos foram descritos na região promotora (-511: C/T), TATA Box (-31:T/C) e exon 5 (3953: C/T), possivelmente relacionados com a produção de IL1 β (MURAKI et al, 2004).

O genótipo rs16944 é utilizado para se referir ao SNP na região promotora do gene da IL-1 β , que integra a família de citocinas envolvidas na resposta inflamatória. O rs16944 vem sendo associado a múltiplas doenças como a esquizofrenia (SHIRTS et al., 2006); Osteoartrite (MEULENBELT et al., 2004); Diabetes (LUOTOLA et al., 2009); Rinossinusite Crônica (ENDAM et al., 2010); Oftalmopatia de Graves (LIU et al., 2010); Glaucoma Angular (MOOKHERJEE et al., 2010); Adenocarcinoma Gástrico (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2012) e Câncer de Mama (REINERTSEN et al., 2012).

JUSTIFICATIVA

O surgimento de tecnologias de sequenciação de alto rendimento a partir da ocorrência de novas anormalidades moleculares permitiu a evolução do conhecimento acerca do diagnóstico molecular do câncer de tireoide. Marcadores moleculares do câncer de tireoide são encontrados em mais de 70% de carcinomas diferenciados e a compreensão dos seus diversos mecanismos moleculares é favorável a novas perspectivas para o seu diagnóstico e tratamento (ANDRADE et al., 2016). Diante disso, a citocina pró-inflamatória em estudo, a IL-1 β , é um

importante mediador da inflamação que afeta a proliferação e diferenciação celular (JAHID, 2017) e vem sendo associada no surgimento de câncer (PERSSON et al., 2010).

OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi identificar a distribuição do polimorfismo do gene *IL1B* (-511) C/T em portadores do câncer da tireoide que foram submetidos ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I131). O estudo também procurou investigar a possível associação deste polimorfismo com os níveis séricos da citocina IL1- β bem como com as características clínicas dos participantes da pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, Luis Jesuino O. et al . Protein molecular modeling of genetic markers for thyroid cancer. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Rio de Janeiro , v. 52, n. 5, p. 324-337, Oct. 2016.
- BRADDOCK, M.; QUINN, A. Targeting IL-1 in inflammatory disease: new opportunities 432 for therapeutic intervention. London, England. Nature, 2004.
- CAETANO, Rosângela et al . Custo-efetividade do uso da tomografia de emissão de pósitrons na detecção de recorrência do câncer diferenciado de tireoide. **Physis**, , v. 26, n. 1, p. 331-356, Mar. 2016.
- CANSANÇÃO, Isaac Farias et al. Association of Polymorphisms in IL1 β -511C> T, IL1RN 86 bp VNTR, and IL6-174G> C Genes with Clinical Dengue Signs and Symptoms in Brazilian Dengue Patients. **Viral immunology**, v. 29, n. 6, p. 372-376, 2016.
- CARVALHO, D. P.; ROSENTHAL, D.; BREITENBACH, M. M. Analysis of thyroglobulins 27S and 19S and their hormonal content in human thyroid glands. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 20, n. 3-4, p. 415-418, 1987.
- CARVALHO, Gisah A. de; GRAF, Hans. Carcinoma indiferenciado de tireóide. **Arq Bras Endocrinol Metabol**, p. 719-724, 2005.
- DINARELLO, Charles A. Biologic basis for interleukin-1 in disease. **Blood**, v. 87, n. 6, p. 2095-2147, 1996.

- DINARELLO, Charles A. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. **Annual review of immunology**, v. 27, p. 519-550, 2009.
- DOS SANTOS, Livia Maria Silva. Evolução temporal da mortalidade por câncer de tireoide no Brasil no período de 2000 a 2012. **Brazilian Journal of Clinical Analysis**, v. 48, n. 2, p. 133-7, 2016.
- ENDAM, Leandra Mfuna et al. Association of IL1A, IL1B, and TNF gene polymorphisms with chronic rhinosinusitis with and without nasal polyposis: a replication study. **Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery**, v. 136, n. 2, p. 187-192, 2010.
- FRANCISCO, Gemma; HERNÁNDEZ, Cristina; SIMÓ, Rafael. Serum markers of vascular inflammation in dyslipemia. **Clinica chimica acta**, v. 369, n. 1, p. 1-16, 2006.
- GARCÍA-GONZÁLEZ, María Asunción et al. Prognostic role of host cyclooxygenase and cytokine genotypes in a Caucasian cohort of patients with gastric adenocarcinoma. **PloS one**, v. 7, n. 9, p. e46179, 2012.
- GERMANO, Carla Maria Ramos et al. Possíveis novos determinantes da qualidade de vida de pacientes com câncer de tireoide tratado: um estudo qualitativo. **Ciênc. saúde coletiva**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 8, p. 2451-2462, Aug. 2016.
- GRAF, Hans. Carcinoma de tireóide pouco diferenciado: Novas considerações terapêuticas. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 49, n. 5, p. 711-718, 2005.
- HEDINGER, Christoph; DILLWYN WILLIAMS, E.; SOBIN, Leslie H. The WHO histological classification of thyroid tumors: a commentary on the second edition. **Cancer**, v. 63, n. 5, p. 908-911, 1989.
- HEINRICH, Peter C.; CASTELL, Jose V.; ANDUS, Tilo. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochemical journal**, v. 265, n. 3, p. 621, 1990.
- INCA. **Estimativa 2018-Incidência de câncer no Brasil**. [s.l: s.n.].
- INCA/MS PROCEDURES. Thyroid cancer. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 2, p. 181–185, 2002.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA, 2016.
- JAHID, Mohd et al. Association of polymorphic variants in IL1B gene with secretion of IL-1 β protein and inflammatory markers in north Indian rheumatoid arthritis patients. **Gene**, 2017.

- JUNQUEIRA, L. C. et al. Glândulas Endócrinas. **Histologia Básica**, v. 10, p. 407-408, 2004.
- KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. **Robbins patologia básica**. Elsevier Brasil, 2013.
- LIU, Yu-Huei et al. Association of Interleukin-1 β (IL1B) Polymorphisms with Graves' Ophthalmopathy in Taiwan Chinese Patients. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 51, n. 12, p. 6238-6246, 2010.
- LODISH, Harvey; ZIPURSKY, S. Lawrence. Molecular cell biology. **Biochemistry and Molecular Biology Education**, v. 29, p. 126-133, 2001.
- LUOTOLA, Kari et al. Association of variation in the interleukin-1 gene family with diabetes and glucose homeostasis. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 94, n. 11, p. 4575-4583, 2009.
- MACIEL, Rui. Carcinoma diferenciado da tiróide (papilífero e folicular): diagnóstico e conduta. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 42, n. 4, p. 299-305, 1998.
- MANNU, C. et al. Comparison of different DNA extraction methods from peripheral blood cells: advice from the Fondazione Italiana Linfomi Minimal Residual Disease Network. **Leuk Lymphoma**, p. 1-11, Mar 11 2015. ISSN 1029-2403 (Electronic) 1026-8022 (Linking).
- MEULENBELT, Ingrid et al. Association of the interleukin-1 gene cluster with radiographic signs of osteoarthritis of the hip. **Arthritis & Rheumatology**, v. 50, n. 4, p. 1179-1186, 2004.
- MOOKHERJEE, Suddhasil et al. Association of IL1A and IL1B loci with primary open angle glaucoma. **BMC medical genetics**, v. 11, n. 1, p. 99, 2010.
- MURAKI, Y. et al. Polymorphisms of IL-1 beta gene in Japanese patients with Sjögren's syndrome and systemic lupus erythematosus. **The Journal of Rheumatology**, v. 31, n. 4, p. 720-725, 2004.
- PERSSON, Christina et al. Polymorphisms in inflammatory response genes and their association with gastric cancer: A HuGE systematic review and meta-analyses. **American journal of epidemiology**, p. kwq370, 2010.
- PUÑALES, Marcia K. et al. Carcinoma medular de tireóide: aspectos moleculares, clínico-oncológicos e terapêuticos. **Arq. bras. endocrinol. metab**, v. 48, n. 1, p. 137-146, 2004.

- REINERTSEN, Kristin V. et al. Fatigued breast cancer survivors and gene polymorphisms in the inflammatory pathway. **Brain, behavior, and immunity**, v. 25, n. 7, p. 1376-1383, 2011.
- ROBBINS, Richard J.; SCHLUMBERGER, Martin J. The evolving role of 131I for the treatment of differentiated thyroid carcinoma. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 46, n. 1 suppl, p. 28S-37S, 2005.
- ROSÁRIO, Pedro Wesley et al. Nódulo tireoidiano e câncer diferenciado de tireoide: atualização do consenso brasileiro. **Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia. São Paulo. Vol. 57, n. 4 (jul. 2013), p. 240-264**, 2013.
- SAPIENZA, Marcelo Tatit et al. Tratamento do carcinoma diferenciado da tireoide com iodo-131: intervenções para aumentar a dose absorvida de radiação. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 49, n. 3, p. 341-349, 2005.
- SHIRTS, Brian H. et al. Association study of IL10, IL1 β , and IL1RN and schizophrenia using tag SNPs from a comprehensive database: suggestive association with rs16944 at IL1 β . **Schizophrenia research**, v. 88, n. 1, p. 235-244, 2006.
- SIGURDSON, Alice J. et al. DNA damage among thyroid cancer and multiple cancer cases, controls, and long-lived individuals. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 586, n. 2, p. 173-188, 2005
- SIMS, J.E & SMITH, D.E. The IL-1 Family: Regulators of Immunity. Seattle, Washington, USA. Nature Reviews | Immunology. February, 2010.
- TORTORA, Gerard J.; NIELSEN, Mark T. **Princípios de Anatomia Humana** . Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2000.
- VARELLA, Pedro PV; FORTE, Wilma C. Neves. Citocinas: revisão. **Rev bras alergologia imunopatol**, v. 24, p. 146-154, 2001.
- VIANNA, Débora Modelli et al. The histological rarity of thyroid cancer. **Brazilian journal of otorhinolaryngology**, v. 78, n. 4, p. 48-51, 2012.
- VIRMOND, Marina Barreiros et al. Fenotipagem forense pelo DNA através de SNPs. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 5, n. 2, p. 37-47, 2016.
- WAITS, Lisette P.; STORFER, Andrew. Basics of population genetics: quantifying neutral and adaptive genetic variation for landscape genetic studies. **Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications**, p. 35-57, 2016.
- WARD, Laura S. et al. Câncer diferenciado da tiroide: fatores prognósticos e tratamento. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, 2004.

WATKINS, Linda R.; MAIER, Steven F.; GOEHLER, Lisa E. Cytokine-to-brain communication: a review & analysis of alternative mechanisms. **Life sciences**, v. 57, n. 11, p. 1011-1026, 1995.

WEBER, Axel; WASILIEW, Peter; KRACHT, Michael. Interleukin-1 (IL-1) pathway. **Sci. Signal.**, v. 3, n. 105, p. cm1-cm1, 2010.

ARTIGO

Título: O impacto do polimorfismo genético e níveis de IL1-Beta na susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide em pacientes submetidos a iodoterapia.

Autores: Vinícius G. Pessoa ¹, Rafael M. de Moraes¹, Alaor B. Sobrinho², Renata de S. Freitas¹, Izabel Cristina R. da Silva¹, Calliandra Maria de S. Silva¹, Silvana S. Funghetto¹, Jamila R. de Oliveira¹, Otávio T. Nóbrega¹.

Afiliações:

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

***Autor Correspondente:**

Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Email: belbiomedica@gmail.com

Endereço: Centro Metropolitano, conjunto A, lote 01, Brasília - DF. CEP: 72220-275

RESUMO

INTRODUÇÃO: O Carcinoma Papilífero de Tireoide (CPT) é a mais comum entre as neoplasias tireoidianas. A inflamação constitui um importante componente no microambiente tumoral, e marcadores moleculares para vias inflamatórias têm obtido destaque na compreensão da biologia das neoplasias, o que favorece o diagnóstico e tratamento. Dentre estes marcadores, a IL-1 β é uma citocina diretamente relacionada com a resposta imune da inflamação.

OBJETIVOS: Associar a presença do SNP *IL1B* (-511) - rs16944 à susceptibilidade ao CPT, bem como comparar níveis séricos da citocina antes e sete dias após a Iodoterapia, juntamente com outras características clínicas dos pacientes.

MATERIAL E MÉTODO: Trata-se de um estudo caso-controle, no qual foram obtidas amostras de sangue de 52 indivíduos (26 em cada grupo). A genotipagem foi realizada por meio da estratégia PCR-RFLP. Os níveis séricos de IL-1 β foi medido por meio de kit para ensaio imunoenzimático (ELISA). Testes para médias e estudos de associação foram executados considerando-se um nível de significância de 5%.

RESULTADOS: Não houve diferença estatística com relação a distribuição genotípica entre indivíduos caso e controle, e estes grupos não diferiram em relação às dosagens de citocina. Porém, os níveis de citocina aumentaram significativamente após a Iodoterapia, sendo que os portadores do genótipo CC apresentaram maior produção da proteína, mas este aumento não estava correlacionado com a dose de radiofármaco administrada.

CONCLUSÃO: O polimorfismo *IL1B* (-511) não foi associado à susceptibilidade ao CPT, porém os níveis séricos da citocina elevaram-se com o tratamento da Iodoterapia, e esta elevação foi genótipo dependente.

Palavras-Chave: Câncer de Tireoide. Radioisótopos do Iodo. Interleucina-1 beta. Polimorfismo Genético.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Papillary carcinoma of the thyroid (PCT) is the most common thyroid neoplasm. Inflammation is an important component in the tumor microenvironment, and molecular markers for inflammatory pathways have been highlighted in the understanding of the biology of neoplasias, which favors diagnosis and treatment. Among these markers, IL-1 β is a cytokine directly related to the immune response of inflammation.

OBJECTIVE: Associate the presence of *IL1B* SNP (-511) - rs16944 to the susceptibility to PCT, and compare serum cytokine levels before and seven days after Iodotherapy, along with other clinical characteristics of the patients.

MATERIAL AND METHODS: It is a case-control study in which blood samples were obtained from 52 individuals (26 in each group). Genotyping was performed using the PCR-RFLP strategy. Serum IL-1 β levels were measured by immunoenzymatic assay kit (ELISA). Tests for averages and association studies were performed considering a significance level of 5%.

RESULTS: There was no statistical difference regarding the genotypic distribution between case and control subjects, and these groups did not differ in relation to the cytokine dosages. However, cytokine levels increased significantly after iodotherapy, whereas patients with the CC genotype showed higher protein production, but this increase was not correlated with the dose of radiopharmaceutical administered.

CONCLUSION: The *IL1B* (-511) polymorphism was not associated with PCT susceptibility, but serum cytokine levels were elevated with iodine treatment, and this elevation was dependent genotype.

Keywords: Thyroid Cancer. Radioisotopes of iodine. Interleukin-1 beta. Genetic Polymorphism.

1. INTRODUÇÃO

O Carcinoma Papilífero de Tireoide (CPT) compreende a forma mais comum de câncer tireoidiano, sendo geralmente associado a exposição prévia à radiação ionizante. Lesões solitárias ou multifocais no interior da tireoide podem ser formas de manifestação desse tipo de neoplasia. As lesões frequentemente são císticas e podem conter áreas de fibrose e calcificação. O diagnóstico definitivo se dá por meio de microscopia, onde se baseia nas características nucleares da célula ¹.

O tratamento mais utilizado para CPT, e considerado como primeira escolha, consiste na retirada cirúrgica da glândula tireoide, clinicamente denominada tireoidectomia, posteriormente complementada com ablação pelo rádiofarmaco Iodo¹³¹, também chamado Iodo Radioativo ². Por meio deste rádiofarmaco, se faz possível a remissão permanente do tumor na maioria dos pacientes, uma vez que em tumores diferenciados como o CPT, há uma manutenção das proteínas de captação de I¹³¹, possibilitando sua entrada na célula folicular e com consequente ação destrutiva nas células alvo ³.

Embora o câncer da tireoide seja considerado o mais comum entre as neoplasias da região da cabeça e do pescoço, estudos de levantamento retrospectivo mostram que a detecção inicial do carcinoma ocorre somente na identificação de metástases em linfonodos cervicais ⁴.

O surgimento de tecnologias de sequenciamento de alta *performance* a partir da ocorrência de novas anormalidades moleculares permitiu a evolução do conhecimento acerca do diagnóstico molecular de diversos cânceres. Marcadores moleculares do câncer de tireoide são encontrados em mais de 70% de carcinomas diferenciados e a compreensão dos seus diversos mecanismos moleculares é favorável a novas perspectivas para o seu diagnóstico e tratamento ⁵.

Neste sentido, marcadores moleculares para vias inflamatórias têm obtido destaque para a compreensão da biologia tumoral, dado que a inflamação é um componente importante do microambiente tumoral ⁶. Dentre os marcadores, citam-se as citocinas, que atuam no sistema imunológico para o envio de sinais estimulatórios, modulatórios e/ou inibitórios ⁷.

A interleucina-1 (IL-1) é um polipeptídeo considerado como o principal agente mediador na resposta imune contra inflamação. Entre as interleucinas pertencentes à família IL-1, estão a IL-1 α , IL-1 β e IL-1Ra ⁸. Essas citocinas possuem diferenças com relação a sua função imunológica, uma vez que existem as pró-inflamatórias,

representadas por IL-1 α e IL-1 β , além das anti-inflamatórias representadas pela IL-1RA ⁹.

Em doenças caracterizadas pela ocorrência de processo inflamatório agudo ou crônico, a IL-1 β juntamente com as outras citocinas pró-inflamatórias pode induzir o organismo a criar uma série de respostas, entre elas a febre, aumento da síntese proteica pelo fígado, aumento na liberação de corticosteroides, alteração da atividade cerebral das monoaminas, hiperalgesia entre outros ^{10, 11}.

O genótipo rs16944 é utilizado para se referir ao SNP (Polimorfismo de nucleotídeo único) na região promotora do gene da IL-1 β . O rs16944 vem sendo associado a múltiplas doenças como a esquizofrenia ¹²; Osteoartrite ¹³; Diabetes ¹⁴; Rinossinusite Crônica ¹⁵; Oftalmopatia de Graves ¹⁶; Glaucoma Angular ¹⁷; Adenocarcinoma Gástrico ¹⁸ e Câncer de Mama ¹⁹.

Com isto, o objetivo do estudo foi associar a presença polimorfismo *IL1B* (-511 C/T) à susceptibilidade ao carcinoma papilífero de tireoide (CPT) e descrever a diferença nos níveis séricos da citocina antes e depois da iodoterapia, além de outras características clínicas.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1. Cálculo da amostra e descrição

As amostras foram obtidas em um estudo de caso-controle com base hospitalar concluído em seis meses (junho a dezembro de 2017). Para isto, a amostra foi calculada estimando-se a prevalência de 1% de câncer de tireoide entre os tipos de câncer na população adulta, erro amostral de 5% e intervalo de confiança (IC) de 95%, em número de pacientes $n = 8450$, chegou-se a 12 participantes. Com a compensação de perdas, foi considerada uma amostra de 26 portadores de CPT. Com isto, este estudo foi composto por 26 indivíduos (16 mulheres e 10 homens; média de idade 48 anos \pm 13 anos). O grupo controle foi composto por 26 participantes (17 mulheres e 9 homens, média de idade 46 anos \pm 7 anos), sendo esse grupo constituído por indivíduos saudáveis, voluntários, pareados, que foram recrutados e também indivíduos saudáveis acompanhando os pacientes no departamento geral de pacientes ambulatoriais (OPD).

2.2. Comitê de ética, critérios de inclusão e exclusão

O consentimento informado foi obtido de todos os indivíduos antes da coleta de informações. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética institucional CAAE nº 57382416.6.0000.0023 (Anexo 1). Pacientes de ambos os sexos, idade maior que 18 anos, com diagnóstico de câncer da tireoide e que foram submetidos a iodoterapia no serviço de Medicina Nuclear Imagens Médicas de Brasília (IMEB) constituíram os critérios de inclusão para o grupo caso. Para o grupo controle, os critérios de inclusão foram indivíduos de ambos os sexos, que não possuíssem carcinoma, não submetidos a iodoterapia. Participantes foram excluídos em ambos os grupos se possuíssem idade inferior a 18 anos, se apresentassem diagnóstico de câncer da tireoide, porém não fossem eletivos a iodoterapia, que apresentassem grau de parentesco com pacientes do grupo caso, além dos que não aceitaram participar da pesquisa ou representantes legais que não consentiram em participar.

2.3. Extração de DNA e genotipagem

As amostras foram coletadas em sua totalidade por punção venosa para isolamento do DNA. O DNA foi extraído de sangue periférico com uso do PureLink® Genomic DNA Mini Kit da empresa Invitrogen (catálogo #K1820-02, lote #19339891). A concentração de DNA foi determinada através da corrida

eletroforética em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio. O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/μL. Em seguida, o DNA diluído foi submetido à estratégia de PCR (*Polymorphism Polymerase Chain Reaction*) para estudo da distribuição dos SNPs. As sequências de oligonucleotídeos utilizadas para avaliar os polimorfismos foram respectivamente:

rs16944 F 5'-TGG-CAT-TGA-TCT-GGT-TCA-TC- 3'

rs16944 R 5'-GTT-TAG-GAA-TCT-TCC-CAC-TT-3'

As condições de termociclagem foram 94°C por 5 minutos (desnaturação inicial), seguida por 45 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, anelamento dos oligonucleotídeos a 55°C por 1 minuto e 72°C por 1 minuto para a extensão dos fragmentos. A extensão final foi realizada a 72°C por 7 minutos e resfriamento por 4 minutos. O equipamento utilizado foi o Termociclador Techne modelo TC-512.

Em cada reação foram utilizados 4,0μL de DNA genômico na concentração final de 2,5ng/μL; 2,5μL de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 0,5μL de MgCl₂ 50mM (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 0,5μL de desoxirribonucleotídeos trifostato (dNTPs; 2,5mM; (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil); 0,5μL de Taq-Polimerase, (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 5U/μL); 1,5μL de cada oligonucleotídeo forward e reverse (10μM, IDT technologies); completando com água Milli-Q para um volume final de 25μL por reação.

O produto da PCR em questão foi um fragmento de 304pb, posteriormente digerido com a enzima de restrição Aval (*New England Biolabs*, Inc. Beverly, MA, USA). O alelo 1 (C) cria novo sítio de restrição, e o fragmento de 304pb é clivado em dois de 190pb e 114pb; o alelo 2 (T) não é clivado pela enzima, e assim, o polimorfismo foi dividido em genótipo de clivagem, ou ancestral homozigoto(CC), heterozigoto (CT) e genótipo de não clivagem, ou homozigoto recessivo (TT). Para montagem do sistema de digestão foram utilizados: 10,0 μL da PCR; 2,0μL de tampão 10x NEB4 (Biolabs); 1 μL de enzima Aval (10U/μL), completando com água Milli-Q para um volume final de 20 μL por reação. O sistema foi mantido a 37°C por 3 horas.

Os produtos da digestão foram submetidos a uma corrida eletroforética em um gel de agarose a 3%, com brometo de etídio 0,1% em uma potência de 100W por 20 minutos.

2.4. Parâmetro inflamatório

Para quantificação da interleucina IL-1 β no soro dos pacientes, a amostra de sangue foi coletada em tubos livres de endotoxina e a análise foi executada com o uso do kit para ensaio imunoenzimático sanduíche da Life Technologies específico para IL-1 β humano, Human IL-1 β ELISA Kit (catálogo #KHC0011, lote #74788401A) conforme instrução do fabricante. De maneira sucinta, a amostra foi adicionada a poços que possuem o anticorpo primário contra a proteína de interesse (antígeno) adsorvidos no fundo da placa, em seguida foi adicionado anticorpo específico contra o antígeno e marcado com uma enzima (HRP – Peroxidase de raiz-forte) que reage com substrato incolor, produzindo um produto colorido proporcional à quantidade de proteína de interesse da amostra e passível de quantificação em 450/550 nm, a amostra foi comparada a uma curva padrão com concentrações conhecidas. Valores superiores a 2,08 pg/mL são considerados valores séricos elevados. Estes níveis séricos foram mensurados uma única vez no grupo controle, e no grupo caso, na admissão ao tratamento com radiofármaco e sete dias após o tratamento.

2.5. Características clínicas dos indivíduos

Dados dos prontuários dos pacientes foram anotados conforme a ficha presente no ANEXO 4

2.6. Análise estatística

A aderência ao equilíbrio Hardy-Weinberg para a frequência genotípica em controles foi analisada pelo teste do qui-quadrado com um grau de liberdade. As frequências genotípicas e alélicas dos pacientes portadores do câncer papilífero da tireoide que foram submetidos a iodoterapia foram comparadas ao grupo controle por meio do teste qui-quadrado em modelos recessivos e dominantes. A associação de características clínicas para cada genótipo foi analisada com o teste qui-quadrado e foi adotado o nível de significância de 5%. Também foram calculadas Odds ratio (OR) das frequências alélicas e genotípicas, com intervalo de confiança (IC) de 95%. O programa estatístico utilizado foi o SPSS (versão 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Para comparação de medias das dosagens da citocina, foi utilizada ANOVA ou teste t- de Student, ou a correlação de Pearson, observados os pressupostos de normalidade. Para a verificação das demais características clínicas e os genótipos, foi utilizada a estatística não paramétrica teste H de Kruskal-Wallis.

3. RESULTADOS

3.1. Frequência genotípica e alélica do polimorfismo *IL1B* -511 no estudo caso-controle.

As frequências genotípicas do polimorfismo *IL1B* -511 nos indivíduos sadios estavam em equilíbrio de *Hardy-Weinberg* ($P = 0,513$). A distribuição genotípica não se diferenciou significativamente entre indivíduos com câncer papilífero da tireoide e os sadios ($P = 0,651$), sendo que o número de indivíduos com os genótipos CC, CT e TT foram de 11, 13 e 2, respectivamente no grupo CPT e de 14, 11 e 1 no grupo controle. Além disso, a avaliação entre os alelos C e T foi analisada ($P = 0,387$; OR = 0,69; IC95% = 0,29 – 1,61). Pode-se concluir que a presença do polimorfismo rs16944 do gene *IL-1B* não foi associado à susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide (Tabela 1).

Tabela 1- Distribuições genotípicas e alélicas dos portadores de CPT e controle

		Grupo				P	OR (IC95%)
		CPT		Controle			
		N	%	N	%		
Genótipos	CC	11	42,3%	14	53,8%	0,651	NA
	CT	13	50,0%	11	42,3%		
	TT	02	7,7%	01	3,8%		
	Total	26	100,0%	26	100,0%		
Alelos	C	35	67,3	39	75,0	0,387	0,69 (0,29-1,61)
	T	17	32,7	13	25,0		
	Total	52	100,0	52	100,0		

NA: Não se aplica

3.2. Níveis séricos da *IL-1β*, genotipagem e suas correlações com as características clínicas dos portadores de PCT submetidos a iodoterapia

Os níveis séricos da *IL-1β* não diferiram estatisticamente entre os participantes do grupo controle e os pacientes portadores de CPT antes do tratamento com radiofármaco, porém, os níveis séricos da citocina aumentaram sete vezes mais após a iodoterapia ($104,28 \pm 32,25$ pg/mL) se comparados com os níveis antes do tratamento ($15,15 \pm 3,24$ pg/mL) ($P < 0,001$; Gráfico 1).

Ao executar o estudo da diferença das médias dos níveis da citocina nos diferentes genótipos, foi possível verificar a diferença estatística apenas no nível

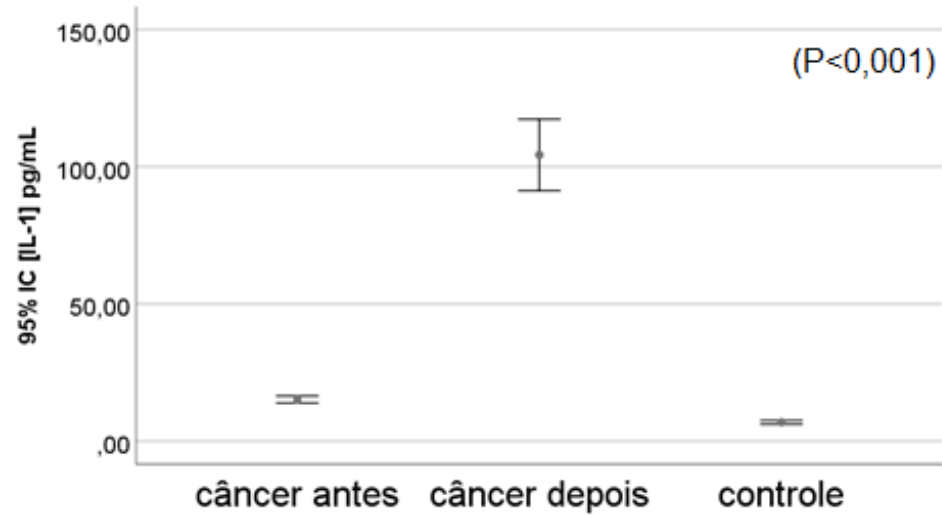
sérico de IL-1 β após a iodoterapia, sendo o genótipo CC associado a maior produção média da citocina sérica (tabela 2).

Tabela 2- Níveis séricos de IL1- β segundo o genótipo, nos diferentes grupos de estudo.

Grupo	IL-1 (pg/mL)	<i>IL1B</i> (-511)												P
		CC				CT				TT				
		Média	Desvio padrão	CL inferior 95,0% para média	CL superior 95,0% para média	Média	Desvio padrão	CL inferior 95,0% para média	CL superior 95,0% para média	Média	Desvio padrão	CL inferior 95,0% para média	CL superior 95,0% para média	
Câncer	Antes	15,81	3,66	13,35	18,27	15,08	2,86	13,35	16,82	11,96	2,27	-8,44	32,35	0,313
	Depois	123,33 a	28,56	104,15	142,52	94,78 b	27,14	78,38	111,18	61,21 b	11,62	-43,2	165,62	0,008*
Controle		6,8	1,9	5,7	7,9	6,83	1,69	5,69	7,97	7,72				0,966

* P < 0,05 - Letras diferentes denotam diferença estatística

Gráfico 1- Níveis séricos de IL-1B nos diferentes grupos de estudo



Por conseguinte, a análise de correlação da dose administrada e o nível sérico de IL1-B (Tabela 3), revelou independência entre essas variáveis, e somente foram correlacionados os níveis sérios de IL1- β dos portadores de CPT antes e após o tratamento com o radiofármaco, o que corrobora com a análise anterior. Assim, podemos afirmar que o aumento dos níveis séricos de IL-1 β após o tratamento, não foi dose-dependente do radiofármaco.

Tabela 3- Estudo da correlação entre a dose administrada do radiofármaco e os níveis séricos da citocina

		Correlações			
		Dose administrada (mCi)	[IL-1] pg/mL controle	[IL-1] pg/ antes iodoterapia	[IL-1] pg/mL depois iodoterapia
Dose administrada (mCi)	Correlação de Pearson	1	NA	-0,061	-0,092
	Sig. (2 extremidades)			0,766	0,656
	N	30		26	26
[IL-1] pg/mL controle	Correlação de Pearson	NA	1	-0,042	-0,068
	Sig. (2 extremidades)			0,838	0,743
	N		26	26	26
[IL-1] pg/ antes iodoterapia	Correlação de Pearson	-0,061	-0,042	1	,854**
	Sig. (2 extremidades)	0,766	0,838		0,000
	N	26	26	26	26
[IL-1] pg/mL depois iodoterapia	Correlação de Pearson	-0,092	-0,068	,854**	1
	Sig. (2 extremidades)	0,656	0,743	0,000	
	N	26	26	26	26

** . A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

NA: Não se aplica

Por fim, outras características clínicas dos pacientes foram relacionadas com o genótipo. Somente a dose administrada foi associada estatisticamente com a distribuição genotípica ($P < 0,05$), sendo que parece existir uma tendência a presença do alelo polimórfico T e as doses maiores administradas do radiofármaco (tabelas 4 e 5).

Tabela 4- Medianas, intervalos da mediana e P-valores das medidas de Tireoglobulina, TSH e IMC nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo

<i>IL1B</i> (-511)	[Tireoglobulina] ng/ml			[TSH] μ UI/mL			IMC (kg m ⁻²)		
	CL inferior 95,0% para mediana	Mediana	CL superior 95,0% para mediana	CL inferior 95,0% para mediana	Mediana	CL superior 95,0% para mediana	CL inferior 95,0% para mediana	Mediana	CL superior 95,0% para mediana
CC	0,77	1,8	9	14,27	77,28	117,23	24,34	30,47	38,22
CT	1,06	2,98	8,09	7,46	65,91	130,07	23,24	24,62	31,61
TT	31,99	113,5	195	17,65	69,33	121	23,67	24,95	26,22
P-Valor		0,118			0,935			0,223	

Tabela 5- Estudo da associação entre Distribuição da Antitireoglobulina, sexo e dose do radiofármaco administrada nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo.

<i>IL1B</i> (-511)	Antitireoglobulina (UI/mL)				Sexo				Dose administrada (mCi)									
	<20		>20		Feminino		Masculino		50		100		150		200		250	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
CC	6	40,0%	3	75,0%	7	43,8%	4	40,0%	1	100,0%	4	50,0%	6	42,9%	0	0,0%	0	0,0%
CT	8	53,3%	1	25,0%	7	43,8%	6	60,0%	0	0,0%	4	50,0%	8	57,1%	1	50,0%	0	0,0%
TT	1	6,7%	0	0,0%	2	12,5%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	0	0,0%	1	50,0%	1	100,0%
P-valor	0,445				0,451				0,008*									

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, verificou-se que presença polimorfismo *IL1B* (-511) não foi associada à susceptibilidade ao Carcinoma Papilífero da Tireoide.

A avaliação do polimorfismo -511 para a susceptibilidade ao câncer é bastante controversa na literatura, e depende do tipo de câncer avaliado. Uma metanálise executada por Xu e colaboradores ²⁰ apontou que o modelo dominante para este polimorfismo não está associado com a susceptibilidade para alguns tipos de câncer. No entanto, o modelo recessivo está associado ao carcinoma cervical e é fator protetor para o carcinoma hepatocelular. Além disso, o genótipo heterozigoto é fator de risco para subtipos específicos do carcinoma gástrico. Por outro lado, Yencilek et al ²¹ determinaram que o genótipo heterozigoto diminuiu o risco para o carcinoma prostático.

Em contrapartida, outros polimorfismos de *IL1B* foram avaliados para CPT, em uma população coreana. Os resultados encontrados sugeriram que um polimorfismo na região promotora (-31) é fator protetor no modelo recessivo, e diversos SNPs em regiões de intron constituíram: fatores protetores (rs 3136558 – modelo codominante e dominante), fatores de risco (rs 1143633, rs 1143643, rs 1143630 nos modelos codominante e dominante) e o rs 3136558 foi considerado fator de risco com o alelo recessivo ²².

O presente estudo possibilitou também verificar aumento da citocinas após a iodoterapia ($P < 0,001$), onde tal diferença foi associada estatisticamente com o genótipo CC.

Um estudo executado por Langmia e colaboradores ²³ identificou que os níveis plasmáticos de IL-1 β não diferiam conforme a distribuição genotípica de *IL1B*. Por outro lado, um estudo executado em pacientes portadores de artrite reumatoide no norte da Índia revelou que os níveis de IL-1 β eram diferenciados nos genótipos, sendo o genótipo CC associado a uma menor da citocina ²⁴, evidência inversa ao encontrado neste trabalho.

O aumento da expressão da citocina após exposição à radiação também já foi detectado por outros estudos. Neste sentido, o tratamento com radiação foi também observado ser indutor da produção de citocinas IL-1 β em camundongos submetidos ao tratamento com radiação X, conforme descrito por HONG e colaboradores ²⁵.

Além disso, como a produção de IL-1 β tem efeito positivo sobre o crescimento tumoral, Perrone e colaboradores ²⁶, sugerem, após as observações do efeito da

dose de radioterapia sobre os camundongos, que uma terapia para bloqueio da produção da citocina seria importante para uma adequada resposta ao tratamento pelo paciente. Também é digno de nota que o aumento de citocinas pró-inflamatórias esteja associado a comportamentos depressivos, conforme revisado por MILLER; MALETIC; RAISON ²⁷, o que impacta na qualidade de vida dos pacientes sob o tratamento com radiofármaco.

Por fim, variações na função tireoidiana são identificadas em indivíduos normais, e são evidenciados por pequenas alterações nos níveis séricos dos hormônios da tireoide e TSH, se comparadas a outros indivíduos. Fatores genéticos e ambientais podem ocasionar tais alterações ²⁸. Dentre os fatores ambientais, alterações no processo inflamatório têm destaque na associação com mudanças na função tireoidiana. Por exemplo, em pacientes portadores de glomerulonefrite foram identificados sinais laboratoriais de hipotireoidismo de diferentes graus de severidade acompanhados de aumento dos níveis de produção de citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-4, relacionadas à atividade com um elo humoral de imunidade adaptativa ²⁹. No entanto, no presente estudo, não foi observada associação entre o polimorfismo *IL1B*-(511) e os exames hormonais.

5. CONCLUSÃO

O polimorfismo *IL1B* (-511) não foi associado ao câncer papilífero da tireoide na população brasileira estudada, nem aos níveis séricos basais da citocina, tanto nos controles quanto nos portadores de CPT. Apesar disso, foi possível identificar aumento da citocina após o tratamento com o radiofármaco iodeto de sódio. No grupo CPT, o genótipo CC foi associado com maiores níveis séricos da citocina após a Iodoterapia. Avaliar fatores genéticos e determinar os níveis circulantes de citocinas como IL-1 β pode servir como um método não invasivo promissor para diferenciar condições benignas de malignas da tireoide, além de auxiliar no tratamento e redução nas taxas de mortalidade.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins Basic Pathology. 9th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2013. 715-764 p.
2. Caetano R, Biz AN, Schluckebier LF. Custo-efetividade do uso da tomografia de emissão de pósitrons na detecção de recorrência do câncer diferenciado de tireoide. 2015;
3. Graf H. Carcinoma de tireóide pouco diferenciado: novas considerações terapêuticas. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2005;49(5):711–8.
4. Lenzi R, Marchetti M, Muscatello L. Incidental nodal metastasis of differentiated thyroid carcinoma in neck dissection specimens from head and neck cancer patients. *J Laryngol Otol.* 2017;131(4):368–71.
5. Andrade LJO, Oliveira GCM, Bittencourt AM v., Melo PRS. Protein molecular modeling of genetic markers for thyroid cancer. *J Bras Patol e Med.* 2016;1(October):324–37.
6. Mantovani A, Barajon I, Garlanda C. IL-1 and IL-1 regulatory pathways in cancer progression and therapy. *Immunol Rev* [Internet]. 2018;281(1):57–61. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/imr.12614>
7. Li L, Chen L, Zhang W, Liao Y, Chen J, Shi Y, et al. Serum cytokine profile in patients with breast cancer. *Cytokine* [Internet]. 2017;89:173–8. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2015.12.017>
8. Sims JE, Smith DE. The IL-1 family: Regulators of immunity. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2010;10(2):89–102. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nri2691>
9. Dinarello CA. Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. *Annu Rev Immunol* [Internet]. 2009;27(1):519–50. Available at: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.immunol.021908.132612>
10. Heinrich PC, Castell J V, Andus T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem J* [Internet]. 1990;265(3):621–36. Available at: <http://biochemj.org/lookup/doi/10.1042/bj2650621>
11. Watkins LR, Maier SF, Goehler LE. Cytokine-to-brain communication: A review & analysis of alternative mechanisms. *Life Sci.* 1995;57(11):1011–26.
12. Shirts BH, Wood J, Yolken RH, Nimgaonkar VL. Association study of IL10, IL1 β , and IL1RN and schizophrenia using tag SNPs from a comprehensive database: Suggestive association with rs16944 at IL1 β . *Schizophr Res.*

- 2006;88(1–3):235–44.
13. Meulenbelt I, Seymour AB, Nieuwland M, Huizinga TWJ, Van Duijn CM, Slagboom PE. Association of the Interleukin-1 Gene Cluster With Radiographic Signs of Osteoarthritis of the Hip. *Arthritis Rheum*. 2004;50(4):1179–86.
 14. Luotola K, Pääkkönen R, Alanne M, Lanki T, Moilanen L, Surakka I, et al. Association of variation in the interleukin-1 gene family with diabetes and glucose homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(11):4575–83.
 15. Endam LM, Cormier C, Bossé Y, Filali-Mouhim A, Desrosiers M. Association of IL1A, IL1B, and TNF Gene Polymorphisms With Chronic Rhinosinusitis With and Without Nasal Polyposis. *ARCH OTOLARYNGOL HEAD NECK SURG* [Internet]. 2010;136(2):187–92. Available at: 7326311
 16. Liu YH, Chen RH, Wu HH, Liao WL, Chen WC, Tsai Y, et al. Association Of interleukin-1 β (IL1B) polymorphisms with graves' ophthalmopathy in Taiwan Chinese Patients. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(12):6238–46.
 17. Mookherjee S, Banerjee D, Chakraborty S, Banerjee A, Mukhopadhyay I, Sen A, et al. Association of IL1A and IL1B loci with primary open angle glaucoma. *BMC Med Genet*. 2010;11(1).
 18. García-González MA, Nicolás-Pérez D, Lanás A, Bujanda L, Carrera P, Benito R, et al. Prognostic Role of Host Cyclooxygenase and Cytokine Genotypes in a Caucasian Cohort of Patients with Gastric Adenocarcinoma. *PLoS One*. 2012;7(9).
 19. Reinertsen K V., Grenaker Alnæs GI, Landmark-Høyvik H, Loge JH, Wist E, Kristensen VN, et al. Fatigued breast cancer survivors and gene polymorphisms in the inflammatory pathway. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2011;25(7):1376–83. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2011.04.001>
 20. Xu J, Yin Z, Cao S, Gao W, Liu L, Yin Y, et al. Systematic Review and Meta-Analysis on the Association between IL-1B Polymorphisms and Cancer Risk. *PLoS One*. 2013;8(5).
 21. Yencilek F, Yildirim A, Yilmaz SG, Altinkilic EM, Dalan AB, Bastug Y, et al. Investigation of Interleukin-1beta Polymorphisms in Prostate Cancer. *Anticancer Res*. 2015;35(11):6057–61.
 22. Ban JY, Kim MK, Park SW, Kwon KH. Interleukin-1 beta polymorphisms are associated with lymph node metastasis in korean patients with papillary thyroid carcinoma. *Immunol Invest*. 2012;41(8):888–905.

23. Langmia IM, Apal Sammy YD, Omar SZ, Mohamed Z. Impact of IL1B gene polymorphisms and interleukin 1B levels on susceptibility to spontaneous preterm birth. *Pharmacogenet Genomics*. 2016;26(11):505–9.
24. Jahid M, Rehan-UI-Haq, Chawla D, Avasthi R, Ahmed RS. Association of polymorphic variants in IL1B gene with secretion of IL-1 β protein and inflammatory markers in north Indian rheumatoid arthritis patients. *Gene* [Internet]. 2018;641:63–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2017.10.051>
25. Hong JH, Chiang CS, Tsao CY, Lin PY, McBride WH, Wu CJ. Rapid induction of cytokine gene expression in the lung after single and fractionated doses of radiation. *Int J Radiat Biol*. 1999;75(11):1421–7.
26. Perrone MS, Missiroli S, Previati M, Fiorica F, Pinton P, Carlotta G. Radiation Induces IL-1b Production and Promotes Activation of NLRP3 Inflammasome. *Int J Radiat Oncol* [Internet]. 2017;99(2):E613–4. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0360301617331322>
27. Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and Its Discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2009;65(9):732–41. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.11.029>
28. Knudsen N, Laurberg P, Rasmussen LB, Bülow I, Perrild H, Ovesen L, et al. Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(7):4019–24.

ANEXOS

Anexo 1: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

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

Pesquisador: Rafael Martins de Moraes

Área Temática: Genética Humana:

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

Versão: 2

CAAE: 57382416.6.0000.0023

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.965.528

Apresentação do Projeto:

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

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

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

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

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

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO: foram apresentados.

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

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

Objetivo da Pesquisa:

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

E os Objetivos Secundários serão "Avaliar a influência entre o polimorfismo dos genes P53, XRCC1, ERCC2/XPD, NOS3, TNFA, PDE, GP1BA, IFNG, PDC1D, SOD2, GST, NIS, CYP, PLA, VEGF, MNSOD, ILs e APOs, SOD3, BAX, BCL2 e TERT, no tratamento e prognóstico em participantes com câncer de tireoide submetidos a dose terapêutica com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (I131); Correlacionar a imunexpressão das proteínas MnSOD, Bax, Bcl-2 e hTERT nas lesões de tireoide relatadas no

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

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

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

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

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

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

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**

Continuação do Parecer: 1.965.528

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

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

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

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

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

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

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

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

* TCLE:

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

- Foi acrescentada a informação da existência de grupo controle;

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

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

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

* Termo de responsabilidade.

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

Recomendações:

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

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

XI.2 - Cabe ao pesquisador:

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

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

Bairro: Setor Universitário

CEP: 70.790-075

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

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

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

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

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

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

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

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

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

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

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

Considerações Finais a critério do CEP:

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

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

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

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

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

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 15 de Março de 2017

Assinado por:
Marilia de Queiroz Dias Jacome
(Coordenador)

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

Anexo 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Grupo Caso)



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB



IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA -
IMEB

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (GRUPO CASO)

INFLUÊNCIA DE ALTERAÇÕES EM PADRÕES MOLECULARES NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES PORTADORES DO CÂNCER DA TIREOIDE SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM O RADIOFÁRMACO IODETO DE SÓDIO (¹³¹I)

IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA - IMEB
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB

Pesquisador(a) responsável: Rafael Martins de Moraes e Izabel Cristina Rodrigues da Silva

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O texto abaixo apresenta todas as informações necessárias sobre o que será feito. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não lhe causará prejuízo.

O nome deste documento que você está lendo é Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso decida participar, você será solicitado a assiná-lo e receberá uma cópia do mesmo.

Antes de assinar, faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo).

Natureza e objetivos do estudo

- O objetivo específico deste estudo é avaliar a influência de alterações genéticas e concentrações de proteínas no sangue no tratamento de câncer de tireoide submetido ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I).
- Você está sendo convidado a participar exatamente por possuir idade maior que 18 anos, de ambos os sexos, é portador de câncer da tireoide e está em tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I) na empresa Imagens Médicas de Brasília (IMEB).

Procedimentos do estudo

- Sua participação consiste em assinar o TCLE, coletar cerca de 5 mL de sangue venoso com material adequado, novo e descartável, **A sua**

participação se dará por meio de coleta de sangue total venoso (cerca de 5mL), realizada por um profissional devidamente treinado, com um tempo estimado de 10 minutos para cada visita (a primeira antes da administração do Radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I), a segunda no dia do pós-dose e a terceira quando o Senhor(a) realizar a etapa o controle da doença).

- Será avaliada sua parte genética que está possivelmente relacionada com as alterações para o câncer e problemas na tireoide. Os resultados serão devolvidos pela prof Izabel Cristina Rodrigues da Silva, biomédica e geneticista, professora da UnB. Se houver alterações que comprometam sua saúde, você será encaminhado ao serviço de atendimento hospitalar.
- Para uma melhor compreensão do estudo, anotaremos do seu prontuário os exames bioquímicos complementares, tais como anti-tireoglobulina, anti-tireoide peroxidase, hemograma, tireoglobulina, TSH, imagens do leito tireoidiano/PCI e outros.
- Não haverá nenhuma outra forma de envolvimento ou comprometimento neste estudo.
- A pesquisa será realizada na Empresa IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA – IMEB e as análises laboratoriais no laboratório de análises clínicas da FCE/UnB

Riscos e benefícios

- Este estudo possui riscos, **entre eles mínimas formações de hematomas ou dor, possíveis infecções e em casos mais raros lesão nervosa e punção acidental arterial**
- Medidas preventivas serão tomadas durante a coleta para minimizar qualquer risco ou incômodo. São elas: os materiais de coleta serão adequados ao procedimento, novos e descartáveis. A sala de coleta deverá ser única e exclusivamente para coleta, permanecendo no local somente o paciente e o flebotomista, com exceções para participantes que necessitam a presença de algum acompanhante, além da sala estar prontamente higienizada. Caso ocorra alguma contaminação, o local deverá ser imediatamente desinfetado, comunicando ao superior imediato do acidente ocorrido.
- Caso esse procedimento possa gerar algum tipo de constrangimento, você não precisa realizá-lo.
- Os resultados desta pesquisa serão compartilhados, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade, com a comunidade científica envolvida sob a forma de publicação de artigos científicos sobre o assunto, além de contribuir para maior conhecimento sobre os aspectos fisiopatológicos, diagnóstico, tratamento e prognóstico da doença do câncer da tireoide.

Participação, recusa e direito de se retirar do estudo

- Sua participação é voluntária. Você não terá nenhum prejuízo se não quiser participar.
- Você poderá se retirar desta pesquisa a qualquer momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.
- Conforme previsto pelas normas brasileiras de pesquisa com a participação de seres humanos, você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo.

Confidencialidade

- Seus dados serão manuseados somente pelos pesquisadores e não será permitido o acesso a outras pessoas.
- Os dados e instrumentos utilizados (sangue coletado, exames de imagens, histopatológicos, laboratoriais e prontuário) ficarão guardados sob a responsabilidade dos pesquisadores **Rafael Martins de Moraes e Izabel Cristina Rodrigues da Silva** com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade, e arquivados por um período de 5 anos; após esse tempo serão destruídos.
- Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas. Entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Se houver alguma consideração ou dúvida referente aos aspectos éticos da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário de Brasília – CEP/UniCEUB, que aprovou esta pesquisa, pelo telefone 3966.1511 ou pelo e-mail cep.uniceub@uniceub.br. Também entre em contato para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo.

Eu, _____ RG _____, após receber a explicação completa dos objetivos do estudo e dos procedimentos envolvidos nesta pesquisa concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo.

Este Termo de Consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida ao senhor(a).

Brasília, ____ de _____ de _____.

Participante

Rafael Martins de Moraes, celular (61) 98568-7258 / telefone institucional (61) 3326-0033

Endereço dos(as) responsável(eis) pela pesquisa:**Instituição: IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA - IMEB****Endereço: SHLS 716 conj. L, Centro Clínico Sul – TORRE II Bloco: /Nº:
/Complemento: SALA T224****Bairro: /CEP/Cidade: Brasília – DF (CEP: 70770-550)****Telefones p/contato: Celular: (61) 98568-7258 / telefone institucional (61) 3326-0033****Endereço do(a) participante (a)****Domicílio: (rua, praça, conjunto):****Bloco: /Nº: /Complemento:****Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone:****Ponto de referência:**

Anexo 3: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Grupo Controle)



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB



IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA -
IMEB

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (GRUPO CONTROLE)

INFLUÊNCIA DE ALTERAÇÕES EM PADRÕES MOLECULARES NO PROGNÓSTICO DE PACIENTES PORTADORES DO CÂNCER DA TIREOIDE SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM O RADIOFÁRMACO IODETO DE SÓDIO (¹³¹I)

IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA - IMEB
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB

**Pesquisador(a) responsável: Rafael Martins de Moraes e Izabel Cristina
Rodrigues da Silva**

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O texto abaixo apresenta todas as informações necessárias sobre o que será feito. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não lhe causará prejuízo.

O nome deste documento que você está lendo é Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Antes de decidir se deseja participar (de livre e espontânea vontade) você deverá ler e compreender todo o conteúdo. Ao final, caso decida participar, você será solicitado a assiná-lo e receberá uma cópia do mesmo.

Antes de assinar, faça perguntas sobre tudo o que não tiver entendido bem. A equipe deste estudo responderá às suas perguntas a qualquer momento (antes, durante e após o estudo).

Natureza e objetivos do estudo

- O objetivo específico deste estudo é avaliar a influência de alterações genéticas e concentrações de proteínas no sangue no tratamento de câncer de tireoide submetido ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I) e comparar com indivíduos que não serão/não foram submetidos ao tratamento.
- Você está sendo convidado a participar exatamente por possuir idade maior que 18 anos, de ambos os sexos, não possuir registro de câncer e não ser submetido ao tratamento com o Radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I), não aparentados dos pacientes do grupo caso.

Procedimentos do estudo

- Sua participação consiste em assinar o TCLE, coletar cerca de 5 mL de sangue venoso com material adequado, novo e descartável. **A sua participação se dará por meio de coleta de sangue total venoso (cerca de 5mL), realizada por um profissional devidamente treinado, com um tempo estimado de 10 minutos.**
- Não haverá nenhuma outra forma de envolvimento ou comprometimento neste estudo.
- Será avaliada sua parte genética que está possivelmente relacionada com as alterações para o câncer e problemas na tireoide. Os resultados serão devolvidos pela prof Izabel Cristina Rodrigues da Silva, biomédica e geneticista, professora da UnB. Se houver alterações que comprometam sua saúde, você será encaminhado ao serviço de atendimento hospitalar.
- A pesquisa será realizada na Empresa IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA – IMEB e as análises laboratoriais no laboratório de análises clínicas da FCE/UnB

Riscos e benefícios

- Este estudo possui riscos, **entre eles mínimas formações de hematomas ou dor, possíveis infecções e em casos mais raros lesão nervosa e punção acidental arterial**
- Medidas preventivas serão tomadas durante a coleta para minimizar qualquer risco ou incômodo. São elas: os materiais de coleta serão adequados ao procedimento, novos e descartáveis. A sala de coleta deverá ser única e exclusivamente para coleta, permanecendo no local somente o paciente e o flebotomista, com exceções para participantes que necessitam a presença de algum acompanhante, além da sala estar prontamente higienizada. Caso ocorra alguma contaminação, o local deverá ser imediatamente desinfetado, comunicando ao superior imediato do acidente ocorrido.
- Caso esse procedimento possa gerar algum tipo de constrangimento, você não precisa realizá-lo.
- Com sua participação nesta pesquisa você poderá compartilhar entre a comunidade envolvida sob a forma de publicação de artigos científico sobre o assunto, além de contribuir para maior conhecimento sobre os aspectos fisiopatológicos, diagnóstico, tratamento e prognóstico da doença do câncer da tireoide.

Participação, recusa e direito de se retirar do estudo

- Sua participação é voluntária. Você não terá nenhum prejuízo se não quiser participar.
- Você poderá se retirar desta pesquisa a qualquer momento, bastando para isso entrar em contato com um dos pesquisadores responsáveis.
- Conforme previsto pelas normas brasileiras de pesquisa com a participação de seres humanos, você não receberá nenhum tipo de compensação financeira pela sua participação neste estudo.

Confidencialidade

- Seus dados serão manuseados somente pelos pesquisadores e não será permitido o acesso a outras pessoas.
- Os dados e instrumentos utilizados (sangue coletado, exames de imagens, histopatológicos, laboratoriais e prontuário) ficarão guardados sob a responsabilidade dos pesquisadores **Rafael Martins de Moraes e Izabel Cristina Rodrigues da Silva** com a garantia de manutenção do sigilo e confidencialidade, e arquivados por um período de 5 anos; após esse tempo serão destruídos.
- Os resultados deste trabalho poderão ser apresentados em encontros ou revistas científicas. Entretanto, ele mostrará apenas os resultados obtidos como um todo, sem revelar seu nome, instituição a qual pertence ou qualquer informação que esteja relacionada com sua privacidade.

Se houver alguma consideração ou dúvida referente aos aspectos éticos da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário de Brasília – CEP/UniCEUB, que aprovou esta pesquisa, pelo telefone 3966.1511 ou pelo e-mail cep.uniceub@uniceub.br. Também entre em contato para informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo.

Eu, _____ RG _____, após receber a explicação completa dos objetivos do estudo e dos procedimentos envolvidos nesta pesquisa concordo voluntariamente em fazer parte deste estudo.

Este Termo de Consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida ao senhor(a).

Brasília, ____ de _____ de _____.

Participante

Rafael Martins de Moraes, celular (61) 98568-7258 / telefone institucional (61) 3326-0033

Endereço do(a) participante (a) Domicílio: (rua, praça, conjunto): Bloco: /Nº: /Complemento: Bairro: /CEP/Cidade: /Telefone: Ponto de referência:
Endereço dos(as) responsável(eis) pela pesquisa: Instituição: IMAGENS MÉDICAS DE BRASÍLIA - IMEB Endereço: SHLS 716 conj. L, Centro Clínico Sul – TORRE II Bloco: /Nº: /Complemento: SALA T224 Bairro: /CEP/Cidade: Brasília – DF (CEP: 70770-550) Telefones p/contato: Celular: (61) 98568-7258 / telefone institucional (61) 3326-0033

Anexo 4: Dados clínicos dos prontuários dos pacientes

Ficha para Dose Terapêutica com Radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I)		
Nome:		
Sexo:		
Telefone para contato:		
e-mail:		
Idade:		
Sexo:	Masculino ()	Feminino ()
Indicação e CID:		
1) História Clínica		
Medicamentos em uso:		
Fumante:	Sim ()	Não ()
Pré-disposição:	Sim ()	Não ()
2) Exames Complementares		
Anti-tireoglobulina:		
Anti-tireoide peroxidase:		
B-HCG:		
Hemograma:		
Leito tireoidiano/PCI:		
Tireoglobulina:		
TSH:		
Outros:		
3) Histopatológico		
4) Ecografia		
5) Relacionado à Dose		
Dose sugerida de tratamento:		
Reposição hormonal:		
Uso do TSHrh		
Data da suspensão do hormônio:		
Início da dieta pobre em Iodo:		

Anexo 5: Normas da revista científica de escolha para publicação – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML)

Artigos de revisão

Serão aceitos apenas mediante convite.

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

Artigos originais

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

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O Abstract (resumo em inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências bibliográficas devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir:

Referências

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

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

Exemplos:

- Artigos de periódicos (um só autor) Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da 'política racial' do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.
- Artigos de periódicos (até seis autores) Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.
- Artigos de periódicos (mais de seis autores) Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-H. pylori antibodies in Brazilian blood donors. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.
- Artigo de periódico on-line Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em: <http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.
- Livros no todo (dois autores) Eyre HJ, Lange DP. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.
- Capítulos ou parte de livro editado por outro autor Mendenhall WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS,

Rosenberg SA , editors. Cancer: principles and practice of oncology. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.

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

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

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

- Citações no texto Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

Tabelas e figuras

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

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

Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.

- O SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png, e com resolução de no mínimo 300 dpi.
- O direito à privacidade do paciente não deve ser infringido. Imagens que eventualmente permitam a identificação pessoal somente poderão ser utilizadas com consentimento por escrito do paciente ou responsável, quando da submissão do manuscrito.

Abreviações e nomes de medicamentos

- As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não disponíveis para prescrição.
- As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.

Contato com a secretaria do JBPML

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial Tel.: +55 (21) 3077-1400. E-mail: jbpml@sbpc.org.br