



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

ADARA RODRIGUES DAMASCENO CERQUEIRA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE NOS3 EM PACIENTES
PORTADORES DE CÂNCER DE TIREOIDE.**

BRASÍLIA, 2019

ADARA RODRIGUES DAMASCENO CERQUEIRA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE NOS3 EM PACIENTES
PORTADORES DE CÂNCER DE TIREOIDE.**

Monografia de Conclusão de Curso
apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de
Farmacêutica, 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, 2019

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

RC416a Rodrigues Damasceno Cerqueira, Adara
ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE NOS3 EM PACIENTES
PORTADORES DE CÂNCER DE TIRÓIDE / Adara Rodrigues
Damasceno Cerqueira; orientador Jamila Reis de Oliveira; co
orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva. -- Brasília,
2019.
46 p.

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

1. NOS3. 2. Polimorfismo. 3. Câncer de Tireoide. I. Reis
de Oliveira, Jamila, orient. II. Cristina Rodrigues da
Silva, Izabel, co-orient. III. Título.

ADARA RODRIGUES DAMASCENO CERQUEIRA

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE NOS3 EM PACIENTES
PORTADORES DE CÂNCER DE TIREOIDE.**

BANCA EXAMINADORA

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)

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

Rafael Martins de Moraes
(Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, 2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade de realizar o curso que eu amo em uma Universidade de grande reconhecimento, que me proporcionou muitas experiências e crescimento intelectual e pessoal.

Aos meus pais, Luciana e Márcio, por todos os anos que me acompanharam nas etapas da minha vida, no suporte para minha educação e no apoio em momentos difíceis.

A minha irmã Nicole, por toda ajuda e companhia durante todos os momentos da minha vida.

Ao meu namorado, Arthur, que me incentivou, apoiou nos momentos mais alegres até os mais tristes e nunca faltou amor em suas palavras.

Aos professores do colegiado de farmácia da Faculdade de Ceilândia – UnB, por todos os ensinamentos e por todo o esforço no crescimento do nosso curso.

Agradeço as minhas orientadoras, Prof^a Dra Jamila Reis de Oliveira e Prof^a Dra Izabel Cristina Rodrigues da Silva, por me proporcionarem tanto conhecimento além do ensino. Por toda atenção, incentivo, acompanhamento, confiança e dedicação que me foi dada desde o início.

À equipe do Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ceilândia – UnB, por toda troca de conhecimento, companherismo e parceria no dia a dia do laboratório, em especial Samara Betina, Renato Augusto, Pedro Peixoto, Vinícius Guimarães e Jenyffer Ribeiro.

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

À Fundação da Universidade de Brasília e FAP-DF (Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal) pelo apoio financeiro dado à esta pesquisa.

Por fim, a todos que, de alguma maneira estiveram presentes da construção do saber nestes anos de graduação e na concepção deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
LISTA DE TABELAS	3
LISTA DE SIGLAS	4
REVISÃO BIBLIGRÁFICA	5
1 Câncer de Tireoide	5
2 Epidemiologia	6
3 Gene Óxido Nítrico Sintase (NOS3)	8
4 Polimorfismo do NOS3 e associação com doenças	9
JUSTIFICATIVA	10
OBJETIVOS	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
ARTIGO	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
1. INTRODUÇÃO	17
2. MATERIAL E MÉTODO	18
2.1. Cálculo da amostra e descrição	18
2.2. Comitê de ética, critérios de inclusão e exclusão	19
2.3. Extração de DNA e genotipagem	19
2.4. Características clínicas dos indivíduos	20
2.5. Análise estatística	20
3. RESULTADOS	21
3.1. Frequência genotípica e alélica do polimorfismo NOS3 íntron 4 no estudo caso-controle.	21

3.2. Genotipagem e suas associações com as características clínicas dos portadores de CPT submetidos a iodoterapia.....	22
4. DISCUSSÃO.....	24
5. CONCLUSÃO	25
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
ANEXOS.....	28
Anexo 1: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa	28
Anexo 2: Dados clínicos dos prontuários dos pacientes	36
Anexo 3: Normas da revista científica de escolha para publicação – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML)	37

RESUMO

O câncer de tireoide é a neoplasia endócrina mais comum no mundo, sendo o tipo histológico papilar o mais frequente. A expressão do gene *óxido nítrico sintase 3 (NOS3)* atua na modulação de diferentes eventos relacionados ao câncer, tais como a angiogênese, apoptose e ciclo celular. Células tumorais estão frequentemente sujeitas a condições de estresse e o desbalanço no metabolismo oxidativo. O presente estudo realizou análise e distribuição do polimorfismo no gene *NOS3* na região no íntron 4, em 31 pacientes portadores de carcinoma papilífero de tireoide (CPT) e que foram submetidos ao tratamento com radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I), comparando com 81 pacientes controle no Distrito Federal. Foi realizada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e os resultados observados em gel de agarose 3% (p/v) em solução tampão TBE 1x contendo brometo de etídio. O presente trabalho foi aprovado no comitê de ética do UNICEUB com CAAE 57382416.6.0000.0023. As frequências genotípicas do polimorfismo *NOS3* íntron 4 nos indivíduos sadios estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P=0,503$). A distribuição genotípica se diferenciou significativamente entre indivíduos com câncer papilífero da tireoide e os sadios ($P<0,001$). Neste estudo, o genótipo bb conferiu fator protetor para CPT ($P<0,001$, OR = 0,16; IC95% = 0,06– 0,42). Os resultados deste estudo indicam que o polimorfismo no íntron 4 do gene *NOS3* foi associado à susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide. Este é o primeiro trabalho a relacionar este polimorfismo com este tipo de neoplasia.

Palavras-Chave: NOS3; POLIMORFISMO; CANCER DE TIREOIDE.

ABSTRACT

Thyroid cancer is a most common endocrine neoplasia in the world, with papillary histologic type being the most frequent. The expression of the nitric oxide synthase 3 (NOS3) gene is the modulation of all cancer-related events, such as angiogenesis, apoptosis and cell cycle. Tumor cells are often attenuated by stress and oxidative non-metabolised imbalance. The present study carried out an analysis and the distribution of polymorphism in the NOS3 gene in the region of intron 4 in 31 patients with papillary thyroid carcinoma (CPT) and who were treated with radiopharmaceutical Sodium Iodide (^{131}I), comparing with 81 patients control in the Federal District. A Polymerase Chain Reaction (PCR) technique was performed and the results observed on 3% (w / v) agarose gel in 1x TBE buffer containing ethidium bromide. The office has been approved the ethics of UNICEUB with CAAE 57382416.6.0000.0023. As genotypic frequencies of the intron 4 NOS3 polymorphism, individuals were in Hardy-Weinberg equilibrium ($P = 0.503$). The genotypic distribution was differentiated between cancer and cancer ($P < 0.001$). In this study, the genogram bb conferred the protective factor for CPT ($P < 0.001$, OR = 0.16, 95% CI = 0.06-0.42). The results of this study were that the intron 4 polymorphism of the NOS3 gene was associated with susceptibility to papillary thyroid cancer. This is the first work to relate this polymorphism to this type of neoplasm.

Keywords: NOS3; POLYMORPHISM; THYROID CANCER

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Tipos de Carcinoma de Tireoide.....	16
Tabela 2: Distribuições genóticas e alélicas dos portadores de CPT e controle.....	29
Tabela 3: Medianas, intervalos da mediana e P-valores das medidas de Tireoglobulina, TSH e IMC nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo.....	30
Tabela 4: - Estudo da associação entre Distribuição da Antitireoglobulina, sexo e dose do radiofármaco administrada nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo.....	30

LISTA DE SIGLAS

CT – Câncer de Tireoide
CPT – Carcinoma Papilífero de Tireoide
EROs – Espécies Reativas de Oxigênio
IC – Índice de Confiança
IMC - Índice de Massa Corporal
NIS - co-transportador sódio-iodeto
NO – Óxido Nítrico
NOS – Óxido Nítrico Sintase
OR – Odds Ratio
PAAF – Punção Aspirativa com Agulha Fina
PCR – *Polymorphism Polymerase Chain Reaction*
T3 – Triiodotironina
T4 – Tiroxina
TBE – Tris Borato EDTA
TSH - Hormônio Estimulante da Tireoide
VNTR - *Variable Number Tandem Repeat*

REVISÃO BIBLIGRÁFICA

1 Câncer de Tireoide

A glândula tireoide localiza-se junto à laringe, anteriormente à traqueia, possui dois lobos conectados pelo istmo, uma pequena massa de tecido. Esta glândula é constituída por células foliculares e células parafoliculares. As células foliculares formam unidades funcionais esféricas chamadas de folículos e se concentram em torno do coloide, substância que armazena os hormônios (CERQUEIRA, et al. 2016).

A tireoglobulina é uma glicoproteína sintetizada no retículo endoplasmático granuloso. A captação de iodo circulante é através da proteína NIS (simporte sódio-iodeto) que realiza o transporte de íon iodeto para dentro da célula, ao mesmo tempo que expõe um íon sódio. Este mecanismo permite que o iodo se concentre na tireoide. O iodeto é oxidado por peróxido de hidrogênio presente na célula e posteriormente transportado para a cavidade do folículo pela ação da pendrina. No interior do coloide são produzidas as moléculas T3 e T4 através da iodação de tirosina da tireoglobulina. (JUNQUEIRA & CARNEIRO. 2004).

O Hormônio Estimulante da Tireoide (TSH) é secretado pela hipófise e estimula a captação de iodeto circulante, produção, e liberação de hormônios. Estes, por sua vez, inibem a síntese de TSH, realizando mecanismo de *feedback* negativo para manter a homeostasia (NUNES, 2003).

Tais hormônios são responsáveis por regular o metabolismo, desenvolvimento e atividade do sistema nervoso. Alguns fatores externos podem modular a secreção desses hormônios, como por exemplo, condições como frio e gravidez podem aumentar o gasto energético, provocando aumento da secreção. Por outro lado, fatores como envelhecimento e altas doses de hormônios sexuais, podem diminuir a atividade secretora desta glândula (TORTORA, 2016).

O câncer de tireoide (CT) é a neoplasia endócrina mais comum no mundo. Observa-se que nos últimos anos sua incidência aumentou em diversos países. Isto deve ao fato de novas tecnologias, tais como o diagnóstico por imagem e biopsia por aspiração com agulha fina, ter facilitado a detecção precoce deste câncer (KITAHARA et al, 2016; STERIAN WARD,

2012). A radiação ionizante, excesso de peso, insuficiência ou excesso de iodo, carcinógenos ambientais e exposição a metais pesados podem ser fatores de risco para desenvolvimento de CT (FERNANDES, 2018).

2 Epidemiologia

O câncer de tireoide acomete as mulheres três vezes mais que os homens e a faixa etária de maior risco está entre 25 e 65 anos (Departamento de Tireoide da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, 2015). Estima-se 9.610 novos casos no Brasil para os anos 2018-2019, sendo 1.570 homens e 8.040 mulheres (INCA, 2018).

Este câncer pode ser dividido histologicamente em três grupos: diferenciado (papilífero e folicular), medular e anaplásico (American Cancer Society, 2019). Além das diferenças histopatológicas peculiares de cada tipo, observa-se diferenças na prevalência, faixa etária de incidência, taxa de cura e gravidade (tabela 1).

Tabela 1. Tipos de Carcinoma de Tireoide

	Papilífero	Folicular	Medular	Anaplásico
Prevalência	80%	10-15%	5%	1-2%
Faixa Etária	30-50 anos	40-60 anos	-	> 65 anos
Prevalência (Sexo)	2x mais em mulheres	2x mais em mulheres	-	Homens
Taxa de cura	Alta. Quase 100%	Alta. Quase 95%	Depende. 90% se não espalhar, 70% se espalhar para locais próximos, 20% para locais distantes.	Baixa
Características	Crescimento lento. Pode se espalhar para os gânglios linfáticos do pescoço	Raramente se espalha para os linfonodos, mas pode às vezes se espalhar para os pulmões ou ossos.	Afeta as células parafoliculares, responsáveis pela produção da calcitonina, hormônio que contribui na regulação do nível sanguíneo de cálcio.	Mais grave. É um tumor que invade rapidamente o pescoço e muitas vezes se dissemina para outros órgãos.

Fonte: Elaborada pela autora a partir das informações publicadas no Instituto Oncoguia (2017) e Departamento de Tireoide da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (2015).

A identificação da neoplasia pode ser realizada por diferentes exames que são complementares entre si e definem o diagnóstico. Os exames de imagem podem identificar o tamanho, quantidade de nódulos e se está disseminando para outros órgãos. Estes exames compreendem a

ultrassonografia, radiografia do tórax, cintilografia da tireoide, tomografia computadorizada, ressonância magnética, tomografia por emissão de pósitrons. A biópsia comprova o diagnóstico e pode ser realizada por punção aspirativa com agulha fina (PAAF), onde pode ser associada ao ultrassom, para observar a glândula durante o exame. Caso a PAAF não apresente um diagnóstico conciso, pode ser realizada biópsia cirúrgica do nódulo. (American Cancer Society, 2019).

O tratamento vai variar com o tipo de carcinoma de tireoide, sua evolução e os riscos associados. Geralmente, o tratamento de escolha é a tireoidectomia (retirada da glândula tireoide), seja total ou parcial. Além disso, podem ser realizadas a iodoterapia, hormonioterapia, radioterapia e quimioterapia (Instituto Oncoguia, 2017; INCA, 2018).

Radiofármacos são caracterizados pela associação de uma substância não radioativa a um ou mais radionucleotídeos que são utilizados para fins de diagnóstico ou terapia (RDC N°63, 2009). Um tipo de radionucleotídeos utilizado é o iodo radioativo, que tem sido usado como tratamento de câncer de tireoide desde 1940. A eficácia dessa terapia depende de alguns fatores, como por exemplo, preparação do paciente, características do tumor e dosagem (CARBALLO & QUIROS, 2012). Quando administrado o radiofármaco iodeto de sódio 131, ele se concentra na glândula tireoide e danifica as células cancerígenas. A iodoterapia é bastante utilizada nos casos de carcinoma papilífero e folicular, porém, quando se trata dos carcinomas anaplásico e medular, essa terapia não é eficaz porque esses tipos não captam o iodo (American Cancer Society, 2016).

3 Gene Óxido Nítrico Sintase (NOS3)

O óxido nítrico (NO) pode ser sintetizado a partir da expressão de três genes da família de enzimas Óxido Nítrico Sintase (NOS): NOS neuronal (NOS1); NOS indutível (NOS2) e; NOS endotelial (NOS3). A NOS1 e NOS3 são expressas constitutivamente, enquanto que a NOS2 é induzida por estímulos inflamatórios (PUGA et al, 2011).

Todas as isoformas de NOS catalisam reações de L-arginina, NADPH e oxigênio para a formação de NO, L-citrulina e NADP. O óxido nítrico

(NO) é um regulador de diversos processos fisiológicos importantes envolvendo vasodilatação, respiração, migração celular, resposta imune e apoptose (MUNTANÉ & DE LA MATA, 2010). Mutações no gene *NOS3* interferem diretamente na produção de óxido nítrico, facilitando a ocorrência de uma disfunção endotelial (ELNEAM et al. 2015).

O *variable number tandem repeat* (VNTR) localizado no íntron 4 do *NOS3* está intimamente associado com a concentração de óxido nítrico no plasma. Este gene localiza-se no cromossomo 7q36.1 (NCBI, 2018) e possui uma sequência de 27 pares de bases, onde o alelo ancestral 4b dispõe de 5 repetições *in tandem*, enquanto que o alelo mutado 4a apresenta apenas 4 repetições (TÜRKANÖĞLU ÖZÇELİK, 2014).

4 Polimorfismo do *NOS3* e associação com doenças

A influência do polimorfismo do *NOS3* é objeto de estudo para diferentes neoplasias. Ramírez-Patino e colaboradores (2013) pesquisou esse gene para o câncer de mama e concluiu que este polimorfismo é um fator de risco para seu desenvolvimento. Nikolic e colaboradores (2015) investigaram a região de íntron 4 para o *NOS3* e concluíram que o polimorfismo é um fator de risco para o desenvolvimento do câncer de próstata. Além disto, o trabalho de Riener e colaboradores (2004) demonstrou que este polimorfismo não tem relação com câncer de vulva, mas que está associado a redução da sobrevida livre da doença.

Na literatura, é possível identificar estudos que relacionam o *NOS3* íntron 4 com variadas patologias.

Um estudo realizado por Katkam e colaboradores (2018) analisou essa mesma região em uma população indiana com Lúpus Eritematoso Sistêmico e apontou este polimorfismo como um fator de risco para o desenvolvimento desta doença.

Matyar e colaboradores (2005) concluíram que a presença do alelo a em indivíduos do sul da Turquia é um fator de risco para doença arterial coronariana.

Wang e colaboradores (1999) descreveram que alto número de indivíduos com mutação na região íntron 4 era correspondente com uma maior

frequência de pacientes com insuficiência renal terminal, concluindo que este polimorfismo poderia afetar a progressão da doença.

A meta análise de Zhao e colaboradores (2012) pesquisou sobre diferentes polimorfismos no *NOS3* com a susceptibilidade de retinopatia diabética e concluiu que a presença do alelo *a* é um fator de proteção para pacientes com diabetes mellitus.

Staalso e colaboradores (2014) compararam o impacto deste polimorfismo com outros fatores de risco, tais como hipertensão e tabagismo, para o desenvolvimento de hemorragia subaracnóidea aneurismática em pacientes do sexo masculino e identificaram que o risco entre eles é semelhante, indicando uma forte interação entre genótipo e ambiente para o desenvolvimento da patogênese.

JUSTIFICATIVA

O óxido nítrico apresenta papel complexo na carcinogênese. Observa-se que ele tem um papel dual em diversos processos, sendo capaz de causar danos no DNA e proteger a célula de toxicantes. A expressão de *NOS3* atua na modulação de diferentes eventos relacionados ao câncer, tais como a angiogênese, apoptose e ciclo celular (MUNTANÉ & DE LA MATA, 2010). Células tumorais estão frequentemente sujeitas a condições de estresse, como hipóxia, perda de adesão célula-célula e célula-matriz extracelular e o desbalanço no metabolismo oxidativo (SILVA & JASIULIONIS, 2014). Este trabalho teve como propósito avaliar se o polimorfismo no gene *NOS3* região íntron 4 pode estar associado a pacientes com carcinoma papilífero de tireoide.

OBJETIVOS

O objetivo deste estudo foi identificar a distribuição do polimorfismo do gene *NOS3* em pacientes portadores do câncer papilífero da tireoide, bem como investigar possível associação entre os participantes portadores de carcinoma papilífero de tireoide e suas diferentes manifestações clínicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Cancer Society. Treating Thyroid Cancer. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/thyroid-cancer/about/what-is-thyroid-cancer.html>. Acesso em: 13 mai, 2019.
- American Cancer Society. Radioactive Iodine (Radioiodine) Therapy for Thyroid Cancer. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/thyroid-cancer/treating/radioactive-iodine.html>. Acesso em: 15 mai, 2019.
- BRASIL. Resolução de Diretoria Colegiada de nº63, de 18 de Dezembro de 2009.
- CARBALLO, Marilee; QUIROS, Roderick M. To treat or not to treat: the role of adjuvant radioiodine therapy in thyroid cancer patients. *Journal of oncology*, v. 2012, 2012.
- CERQUEIRA, Taíse Lima de Oliveira et al. Estudo clínico, genético e molecular de pacientes com Disgenesia Tireoidiana. 2016. Tese de Doutorado. Departamento de Tireoide da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia. Câncer de Tireoide. Disponível em: <http://www.tireoide.org.br/cancer-de-tireoide/>. Acesso em: 28 mai, 2019.
- ELNEAM, Ahmed I. Abd et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphism (T-786C) and Cerebrovascular Stroke with or without Smoking. *International Journal*, v. 3, n. 6, p. 619-624, 2015.
- FERNANDES, Fábila Cheyenne Gomes de Moraes. Incidência e mortalidade por câncer de tireoide na América Latina. 2018. Dissertação de Mestrado. Brasil.
- INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA, 2018.
- Instituto de Oncologia. Tipos de Câncer de Tireoide. Disponíveis em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/tipos-de-cancer-de-tireoide/1880/234/>. Acesso em: 02 mai, 2019.
- JUNQUEIRA, Luiz C.; CARNEIRO, José. *Histologia básica*. 10ª edição. Rio de Janeiro, 2004.
- MATYAR, Selçuk et al. eNOS gene intron 4 a/b VNTR polymorphism is a risk factor for coronary artery disease in Southern Turkey. *Clinica chimica acta*, v. 354, n. 1-2, p. 153-158, 2005.

MUNTANÉ, Jordi; DE LA MATA, Manuel. Nitric oxide and cancer. *World journal of hepatology*, v. 2, n. 9, p. 337, 2010.

NCBI Gene. NOS3 Nitric Oxide Synthase 3 [Homo Sapiens (human)]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4846>. Acesso em: 02 abr, 2019.

NUNES, Maria Tereza. Hormônios tiroideanos: mecanismo de ação e importância biológica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 47, n. 6, 2003.

PUGA, Guilherme Moraes; NOVAIS, Iane de Paiva; ZANESCO, Angelina. Efeitos terapêuticos da suplementação de L-arginina nas doenças cardiovasculares e endócrino-metabólicas. *Arquivos de Medicina*, v. 25, n. 3, p. 107-114, 2011.

KATKAM, Shiva Krishna et al. Impact of eNOS 27-bp VNTR (4b/a) gene polymorphism with the risk of Systemic Lupus Erythematosus in south Indian subjects. *Gene*, v. 658, p. 105-112, 2018.

KITAHARA, Cari M.; SOSA, Julie A. The changing incidence of thyroid cancer. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 12, n. 11, p. 646, 2016.

SILVA, Camila Tainah da; JASIULIONIS, Miriam Galvonas. Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. *Ciência e Cultura*, v. 66, n. 1, p. 38-42, 2014.

STERIAN WARD, Laura. Câncer de tireoide. *Rev. bras. cir. cabeça pescoço (Impr.)*, v. 41, n. 2, 2012.

STAALSØ, Jonatan Myrup et al. Association of the NOS3 intron-4 VNTR polymorphism with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*, v. 121, n. 3, p. 587-592, 2014.

TORTORA, Gerard J.; DERRICKSON, Bryan. *Corpo Humano-: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia*. Artmed Editora, 2016.

TÜRKANOĞLU ÖZÇELİK, Aysun et al. Importance of NOS3 genetic polymorphisms in the risk of development of ischemic stroke in the Turkish population. *Genetic testing and molecular biomarkers*, v. 18, n. 12, p. 797-803, 2014.

WANG, Ying et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in intron 4 affects the progression of renal failure in non-diabetic renal diseases. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 14, n. 12, p. 2898-2902, 1999.

ZHAO, Shuzhi et al. Nitric oxide synthase 3 (NOS3) 4b/a, T-786C and G894T polymorphisms in association with diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis. *Ophthalmic genetics*, v. 33, n. 4, p. 200-207, 2012.

ARTIGO

Título: Associação do polimorfismo do gene *NOS3* e o carcinoma papilífero de tireoide em pacientes submetidos a iodoterapia.

Autores: Adara Rodrigues Damasceno Cerqueira¹, Rafael M. de Moraes², Ligia Canongia de Abreu Cardoso Duarte¹, Alaor B. Sobrinho², Calliandra Maria de S. Silva¹, Jamila Reis de Oliveira¹, Izabel Cristina R. da Silva¹

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 câncer de tireoide ocorre em, aproximadamente, 1,3% da população brasileira, é três vezes mais frequente no sexo feminino e o tipo papilar mais frequente nos pacientes. O gene *óxido nítrico sintase (NOS3)* regula a expressão de óxido nítrico (NO), onde atua na modulação de diferentes eventos relacionados ao câncer, tais como a angiogênese.

OBJETIVO: Identificar e analisar o polimorfismo no gene *NOS3* na região no íntron 4, em pacientes que possuem câncer de tireoide do tipo papilífero.

MÉTODOS: Foi realizado um estudo caso-controle, onde 31 pacientes de ambos os sexos que possuem carcinoma papilífero de tireoide (CPT) e foram submetidos ao tratamento com radiofármaco Iodeto de Sódio (131I), comparado com 81 pacientes controle. Através da PCR os resultados foram observados em eletroforese de gel de agarose 3% (p/v) em solução tampão TBE 1x contendo brometo de etídio. Os dados foram compilados e analisados no programa SPSS versão 25.0. O presente trabalho foi aprovado no comitê de ética do UNICEUB com CAAE 57382416.6.0000.0023.

RESULTADOS: As frequências genotípicas dos indivíduos sadios estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg ($P=0,503$). Houve diferença genotípica significativa entre indivíduos com câncer papilífero da tireoide e os sadios ($P<0,001$). O genótipo bb conferiu fator protetor para CPT ($P<0,001$, OR = 0,16; IC95% = 0,06– 0,42), e a presença do alelo a parece ser fator de risco para CPT ($P<0,001$, OR = 3,54; IC95% = 1,86-6,73).

CONCLUSÃO: O polimorfismo no íntron 4 do gene *NOS3* foi associado à susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide.

Palavras-Chave: NOS3; POLIMORFISMO; CANCER DE TIREOIDE.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Thyroid cancer occurs in approximately 1.3% of the Brazilian population, is three times more frequent in females and the most frequent papillary type in patients. The nitric oxide synthase gene (NOS3) regulates the expression of nitric oxide (NO), where it acts in the modulation of different events related to cancer, such as angiogenesis.

OBJECTIVE: To identify and analyze the polymorphism in the NOS3 gene in the region in the intron 4, in patients who have thyroid cancer of the papillary type.

METHODS: A case-control study was performed in 31 patients of both sexes who had papillary thyroid carcinoma (TPC) and were treated with radiopharmaceutical Sodium Iodide (^{131}I), compared to 81 control patients. Through PCR the results were observed in 3% (w / v) agarose gel electrophoresis in 1x TBE buffer containing ethidium bromide. The data were compiled and analyzed in the SPSS program version 25.0. The present work was approved in the UNICEUB ethics committee with CAAE 57382416.6.0000.0023.

RESULTS: The genotypic frequencies of healthy individuals were in Hardy-Weinberg equilibrium ($P = 0.503$). There was a significant genotypic difference between individuals with thyroid and papillary thyroid cancer ($P < 0.001$). The bb genotype conferred a protective factor for CPT ($P < 0.001$, OR = 0.16, 95% CI = 0.06-0.42), and the presence of the allele appeared to be a risk factor for CPT ($P < 0.001$, OR = 3.54, 95% CI = 1.86-6.73).

CONCLUSION: Intron 4 polymorphism of the NOS3 gene was associated with susceptibility to papillary thyroid cancer.

Keywords: NOS3; POLYMORPHISM; THYROID CANCER.

1. INTRODUÇÃO

O câncer de tireoide é a neoplasia endócrina mais comum no mundo¹. No Brasil, estima-se que, no ano de 2018, haverá 9.610 novos casos, onde 1.570 são de câncer de tireoide para o sexo masculino e 8.040 para o sexo feminino². Com isso, observa-se a frequência deste carcinoma três vezes mais em mulheres do que homens. O câncer de tireoide pode ser dividido em três grupos: diferenciado (papilífero e folicular), medular e anaplásico. O tipo papilar é o mais comum (80% dos casos) e apresenta maior taxa de cura dos pacientes. O folicular atinge, aproximadamente 10 a 15%. O tipo medular afeta 5% dos pacientes e o anaplásico de 1 a 2%³. A faixa etária de maior risco está entre 25 a 65 anos e afeta mulheres três vezes mais que os homens⁴.

Alterações genéticas são de grande influência no surgimento de diversas neoplasias humanas, mutações e polimorfismos são duas alterações genéticas frequentes que ocorrem no DNA. Entende-se como polimorfismos genéticos mutações de nucleotídeos em, pelo menos, 1% dos indivíduos de uma mesma espécie, onde pode resultar em diferenças fenotípicas⁵.

VNTR (*variable number tandem repeat*), ou minissatélites, ou repetições consecutivas de número variável, compreendem polimorfismos de comprimento de sequência única⁶ por possuírem repetições constituídas de 10 a 64 pares de bases e atuam como marcadores para caracterização genética.

Alterações gênicas como VNTR podem ocorrer em sequências não codificadoras do gene e possivelmente não haverá consequências em suas funções; outras ocorrerão em sequências codificadoras, levando à produção de proteínas defeituosas, desta forma, em alguns casos, polimorfismos genéticos podem aumentar a suscetibilidades às patologias⁷.

O óxido nítrico (NO) é um radical e atua como mediador biológico em diversos processos no organismo, incluindo a regulação do fluxo sanguíneo e modulação da atividade neuronal. Mutações no gene *óxido nítrico sintase 3* (NOS3), interferem diretamente na produção de óxido nítrico⁸, este gene localiza-se no cromossomo 7q36.1. O VNTR localizado no íntron 4 do NOS3 está intimamente associado com a concentração de óxido nítrico no plasma⁵.

O polimorfismo no NOS3 íntron 4 já é descrito em associação com outras patologias. Estudo realizado com indianos demonstrou que a presença

do alelo “a” é um fator de risco para o desenvolvimento de Lúpus Eritematoso Sistêmico⁹. O polimorfismo também se apresenta como fator de risco doença arterial coronariana em estudo realizado com indivíduos turcos¹⁰. Estudo realizado por Wang et al¹¹ observou-se um grande número de indivíduos com a mutação no íntron 4 e correspondente a maior frequência de pacientes com insuficiência renal, indicando o impacto deste polimorfismo nesta doença. Para a retinopatia diabética, a presença do polimorfismo apresentou-se como um fator de proteção em pacientes com diabetes mellitus¹². Estudo de Staalsø et al¹³ correlacionou o polimorfismo com o desenvolvimento de hemorragia subaracnóidea aneurismática e concluiu que é um fator de risco equivalente a hipertensão e tabagismo.

A presença de espécies reativas de oxigênio (EROs) em excesso pode provocar estresse oxidativo nas células e, conseqüentemente, causar danos ao DNA, RNA, lipídios e proteínas. Além disso, EROs também podem afetar o sistema de reparo do DNA, tornando o indivíduo mais susceptível ao desenvolvimento de doenças, como por exemplo, o câncer¹⁴. Ao verificar que polimorfismos no gene *NOS3* interferem na produção de óxido nítrico, que constitui um importante regulador biológico, este trabalho tem como objetivo investigar se o polimorfismo no gene *NOS3* região íntron 4 pode ser um fator protetor ou de risco nos pacientes com carcinoma papilífero de tireoide (CPT).

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 31 indivíduos (20 mulheres e 11 homens; média de idade 48 anos \pm 13 anos). O grupo controle foi composto por 81 participantes (43 mulheres e 38 homens, média de idade 52 anos \pm 5 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. 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 e sem grau de parentesco com os pacientes do grupo caso. 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 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 através do método NucleoSpin® Blood QuickPure, de acordo com as instruções do fabricante, com o nº de referência 740569.250 e lote 1611/001, da marca MACHEREY-NAGEL. A concentração de DNA foi determinada através da corrida eletroforética em gel de agarose a 3%, corado com brometo de etídio. O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/µL. Em seguida, o DNA diluído foi submetido à estratégia de *Polymorphism Polymerase Chain Reaction* (PCR). As sequências de oligonucleotídeos utilizadas para avaliar os polimorfismos foram¹⁵:

Senso 5' AGG CCC TAT GGT AGT GCC TT 3'

Antisenso 5' TCT CTT AGT GCT GTG GTC AC 3'

As condições de termociclagem foram 36 ciclos com 94°C por 4 minutos e por 1 minuto para a desnaturação inicial, anelamento dos oligonucleotídeos a 60°C por 30 segundos e 72°C por 1 minuto para a extensão dos fragmentos. A extensão final foi realizada a 72°C por 10 minutos e resfriamento por 4 minutos. O equipamento utilizado foi o Termociclador Techne modelo TC-512.

Em cada reação foram utilizados 8,0µL de DNA genômico na concentração final de 2,5ng/µL; 12,5µL de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 6,25µL de MgCl₂ 50mM (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 10µL de desoxirribonucleotídeo trifostato (dNTPs; 2,5mM; (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil); 2µL de Taq-Polimerase, (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 10U/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.

Os produtos da PCR em questão formavam os fragmentos do alelo “a” polimórfico com 393pb, e o alelo “b” ancestral com 420pb.

2.4. Características clínicas dos indivíduos

Dados dos prontuários dos pacientes foram anotados conforme a ficha presente no ANEXO 2.

2.5. 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 25.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Para comparação de médias 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 genótipos, foi utilizada a estatística não paramétrica teste H de Kruskal-Wallis.

3. RESULTADOS

3.1. Frequência genotípica e alélica do polimorfismo *NOS3* íntron 4 no estudo caso-controle.

As frequências genotípicas do polimorfismo *NOS3* íntron 4 nos indivíduos sadios estavam em equilíbrio de *Hardy-Weinberg* ($P=0,503$). A distribuição genotípica se diferenciou significativamente entre indivíduos com CPT e os sadios ($P<0,001$), sendo que o número de indivíduos com os genótipos aa, ab e bb foram de 4, 19 e 8, respectivamente no grupo CPT e de 3, 23 e 55 no grupo controle. Neste estudo, o genótipo bb conferiu fator protetor para CPT ($P<0,001$, OR = 0,16; IC95% = 0,06– 0,42). Além disso, a avaliação entre os alelos a e b foi analisada, e assim a presença do alelo a apresenta-se como fator de risco para CPT ($P<0,001$, OR = 3,54; IC95% = 1,86-6,73). Pode-se concluir que a presença do polimorfismo no íntron 4 do gene *NOS3* foi associado à susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide (Tabela 2).

Tabela 2 - Distribuições genotípicas e alélicas dos portadores de CPT e controle

NOS3 INTRON 4	Grupos				P	OR (IC 95%)
	CPT		Controle			
	N	%	N	%		
aa	4	12,9	3	3,7		
ab	19	61,3	23	28,4	<0,001	NA
bb	8	25,8	55	67,9		
Total	31	100,0	81	100,0		
bb	8	25,8	55	67,9	<0,001	0,16 (0,06-0,42)
ab+aa	23	74,2	26	32,1		
Total	31	100,0	81	100,0		
a	27	43,5	29	17,9	<0,001	3,54 (1,86-6,73)
b	35	56,5	133	82,1	<0,001	0,28 (0,15-0,54)
Total	62	100,0	162	100,0		

NA: Não se aplica

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

Por fim, outras características clínicas dos pacientes, tais como concentração sérica de tireoglobulina, TSH, antitireoglobulina; sexo, o IMC, além da dose administrada de radiofármaco foram relacionadas com o genótipo. Não foram encontradas associações entre o polimorfismo no íntron 4 do gene NOS 3 e essas variáveis (tabelas 3 e 4).

Tabela 3 - Medianas, intervalos da mediana e P-valores das medidas de Tireoglobulina, TSH e IMC nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo

<i>NOS3</i> <i>intron 4</i>	[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
aa	0,59	2,59	9,00	7,46	26,29	136,13	24,62	30,47	33,69
ab	1,02	2,88	31,90	55,90	76,65	130,07	24,25	26,22	31,71
bb	3,00	5,58	31,99	1,20	86,66	118,08	20,81	25,30	30,80
P-Valor	0,687			0,747			0,460		

Tabela 4 - Estudo da associação entre Distribuição da Antitireoglobulina, sexo e dose do radiofármaco administrada nos pacientes portadores de CPT conforme o genótipo.

<i>NOS3</i> <i>intron 4</i>	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	%
aa	3	16,7%	0	0,0%	2	10,0%	2	18,2%	0	0,0%	2	22,2%	2	12,5%	0	0,0%	0	0,0%
ab	11	61,1%	4	100,0%	11	55,0%	8	72,7%	1	100,0%	3	33,3%	11	68,8%	2	100,0%	1	50,0%
bb	4	22,2%	0	0,0%	7	35,0%	1	9,1%	0	0,0%	4	44,4%	3	18,8%	0	0,0%	1	50,0%
P-valor	0,320				0,276				0,651									

4. DISCUSSÃO

O presente estudo foi o primeiro trabalho que relacionou o polimorfismo do *NOS3* na região íntron 4 com o carcinoma papilífero de tireoide. Foi identificado que o genótipo ancestral “bb” é um fator protetor, enquanto que, a presença do alelo polimórfico “a” torna-se um fator de risco para o desenvolvimento deste câncer, portanto, a presença do polimorfismo no íntron 4 do gene *NOS3* foi associado à susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide.

Ao comparar este polimorfismo com outras neoplasias, o estudo de Ramírez-Patino e colaboradores¹⁶ analisou uma amostra de mulheres mexicanas e concluiu que a presença do alelo “a” é um fator de risco para o desenvolvimento de câncer de mama (OR = 1.9, 95%CI 1.29-2.95, P = 0.001), resultado semelhante encontrado neste estudo para o câncer de tireoide.

Uma meta análise realizada por Nikolic e colaboradores¹⁷ analisou polimorfismos em três regiões do *NOS3*, dentre elas o íntron 4, para o câncer de próstata. A partir de 11 artigos analisados, os pesquisadores do estudo concluíram que a presença do alelo “a” é um fator de risco para o câncer de próstata (OR = 2.29, 95% CI 1.51–3.49; P < 0.01). Em contraposição, Polat et al¹⁸ realizou a análise em tecido da próstata parafinado e concluiu que o íntron 4 não teve associação com câncer de próstata. (P=0,301). Por ser o primeiro estudo envolvendo tecido de próstata parafinado, são necessários mais estudos para comparar com este resultado e avaliar a adequação dos métodos utilizados.

O trabalho realizado por Riener e colaboradores¹⁹ sobre o câncer de vulva demonstrou que o polimorfismo do íntron 4 não tem relação com a neoplasia (OR: 1,01; 95% CI: 0,6-2,0; P = 0,9), porém, a presença do alelo polimórfico a está associado a redução da sobrevida livre da doença (P=0,03).

Apesar de alguns trabalhos apresentarem resultados semelhantes ao do presente estudo, não é possível realizar uma análise íntegra deste polimorfismo para o câncer de tireoide, porque cada neoplasia possui suas características e níveis de complexidade, tornando uma limitação a comparação efetiva entre cada tipo. É fundamental que desenvolvam mais estudos que relacionem polimorfismos genéticos com o câncer de tireoide para complementar a compreensão de seu desenvolvimento.

5. CONCLUSÃO

O polimorfismo íntron 4 do gene *NOS3* foi associado à susceptibilidade ao câncer papilífero da tireoide na população brasileira estudada. Não foram encontradas associações entre este polimorfismo e as características clínicas dos pacientes, tais como concentração sérica de tireoglobulina, TSH, antitireoglobulina; sexo, o IMC e dose de radiofármaco administrada.

A informação sobre análise genética pode ser um método favorável no auxílio de tratamento e compreensão de doenças que afetam a população. Diante disto, este trabalho pode ajudar em pesquisas futuras sobre este gene e o carcinoma papilífero de tireoide.

6. PERSPECTIVAS FUTURAS

Dando seguimento a este estudo, recomenda-se para estudos futuros a análise da expressão do gene *NOS3* e sua influência em pacientes com câncer. Desta forma, poderá contribuir na compreensão sobre outros fatores que possam estar relacionados com a neoplasia. Além disto, é importante que se desenvolva mais estudos sobre a frequência do polimorfismo íntron 4 em diferentes populações do mundo, para resultados mais abrangentes e integrais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kitahara CM, Sosa JA. The changing incidence of thyroid cancer. *Nature Reviews Endocrinology*. 2016 Nov;12(11):646.
2. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva [acesso em 10 mai 2019]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/>.
3. American Cancer Society. Treating Thyroid Cancer [acesso em 13 mai 2019]. Disponível em: <https://www.cancer.org/cancer/thyroid-cancer/about/what-is-thyroid-cancer.html>.
4. Instituto de Oncologia. Tipos de Câncer de Tireoide [acesso em 02 nov 2018]. Disponíveis em: <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/tipos-de-cancer-de-tireoide/1880/234/>.

5. Cardoso LC. Polimorfismos genéticos dos genes CTLA4, NOS3 e CYP em pacientes diagnosticados com Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico (AVEH) e/ou aneurisma intracerebral em uma amostra do Distrito Federal.
6. da Silva Leite V, Batista MI, Soriano EP, de Carvalho MV, Sobral AP. Uso das técnicas de biologia molecular na genética forense. *Derecho y Cambio Social*. 2013;10(34):21.
7. Waits LP, Storfer A. Basics of population genetics: quantifying neutral and adaptive genetic variation for landscape genetic studies. *Landscape genetics*. 2015 Oct 16:35-57.
8. Elneam AI, Boghdady AM, Alrheam AI, Taher MA. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphism (T-786C) and Cerebrovascular Stroke with or without Smoking. *International Journal*. 2015;3(6):619-24.
9. Katkam SK, Indumathi B, Tasneem FS, Rajasekhar L, Kutala VK. Impact of eNOS 27-bp VNTR (4b/a) gene polymorphism with the risk of Systemic Lupus Erythematosus in south Indian subjects. *Gene*. 2018 Jun 5;658:105-12.
10. Matyar S, Attila G, Acartürk E, Akpınar O, İnal T. eNOS gene intron 4 a/b VNTR polymorphism is a risk factor for coronary artery disease in Southern Turkey. *Clinica chimica acta*. 2005 Apr 1;354(1-2):153-8.
11. Wang Y, Kikuchi S, Suzuki H, Nagase S, Koyama A. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism in intron 4 affects the progression of renal failure in non-diabetic renal diseases. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 1999 Dec 1;14(12):2898-902.
12. Zhao S, Li T, Zheng B, Zheng Z. Nitric oxide synthase 3 (NOS3) 4b/a, T-786C and G894T polymorphisms in association with diabetic retinopathy susceptibility: a meta-analysis. *Ophthalmic genetics*. 2012 Dec 1;33(4):200-7.
13. Staalsø JM, Edsen T, Kotinis A, Romner B, Springborg JB, Olsen NV. Association of the NOS3 intron-4 VNTR polymorphism with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Journal of neurosurgery*. 2014 Sep 1;121(3):587-92.
14. Silva CT, Jasiulionis MG. Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. *Ciência e Cultura*. 2014;66(1):38-42.

15. Sinici I, Kalyoncu U, Karahan S, Kiraz S, Atalar E. Endothelial nitric oxide gene polymorphism and risk of systemic sclerosis: predisposition effect of T-786C promoter and protective effect of 27 bp repeats in Intron 4. *Clinical & Experimental Rheumatology*. 2010 Mar 1;28(2):169.
16. Ramírez-Patiño R, Figuera LE, Puebla-Pérez AM, Delgado-Saucedo JI, Legazpi-Macias MM, Mariaud-Schmidt RP, Ramos-Silva A, Gutiérrez-Hurtado IA, Gómez Flores-Ramos L, Zúñiga-González GM, Gallegos-Arreola MP. Intron 4 VNTR (4a/b) polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with breast cancer in Mexican women. *Journal of Korean medical science*. 2013 Nov 1;28(11):1587-94.
17. Nikolić ZZ, Pavićević DL, Romac SP, Brajušković GN. Genetic Variants within Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene and Prostate Cancer: A Meta-Analysis. *Clinical and translational science*. 2015 Feb 1;8(1):23-31.
18. Polat F, Turaclar N, Yilmaz M, BİNGÖL G, VURAL HC. eNOS gene polymorphisms in paraffin-embedded tissues of prostate cancer patients. *Turkish journal of medical sciences*. 2016 Apr 19;46(3):673-9.
19. Riener EK, Hefler LA, Grimm C, Galid A, Zeillinger R, Tong-Cacsire D, Gitsch G, Leodolter S, Tempfer CB. Polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in women with vulvar cancer. *Gynecologic oncology*. 2004 Jun 1;93(3):686-90.

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 (131I); 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:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3966-1511 **E-mail:** cep.uniceub@uniceub.br

Continuação do Parecer: 1.965.528

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

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos foram descritos pelo pesquisador como sendo: A recomendação da sequência dos tubos é baseada na (CLSI H3-A6, Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipunctures; Approved Standard, 6th ed) e deve ser respeitada, para que não ocorra contaminação por aditivos nos tubos subsequentes (contaminação cruzada dos aditivos), quando há necessidade da coleta para diversos analitos de um mesmo paciente. As medidas de segurança visam evitar injúrias tanto aos participantes como aos profissionais que farão o procedimento de coleta. Antes da coleta, o paciente será tranquilizado, agindo-se com honestidade, explicando passo-a-passo do procedimento, desde os equipamentos necessários até um possível desconforto no momento da coleta. Os critérios de avaliações de riscos e benefícios foram privados das Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML - 2014): coleta e preparo da amostra biológica para Coleta de sangue venoso, descritos a seguir: formação de hematoma: No momento da antes e após a coleta, existem alguns riscos e possíveis complicações, que poderão vir a acontecer. A formação de hematoma é a complicação mais comum em processos de punção venosa. É acometido devido à extravasamento do sangue para o tecido. Esse processo pode ocorrer durante ou após a punção. Quando acontece, o paciente pode sentir dor no local, e em alguns casos, a compressão de algum ramo nervoso. Punção arterial acidental: A punção acidental de uma artéria é outro risco. Porém, é um fato considerado raro, sabendo que a escolha do local e habilidade do profissional é preponderante para que isso seja evitado. A punção acidental arterial está associada principalmente à punções na veia basílica, 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: BRASÍLIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

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

Continuação do Parecer: 1.965.528

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

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Bairro: Setor Universitário **CEP:** 70.790-075

UF: DF **Município:** BRASÍLIA

Telefone: (61)3966-1511

E-mail: cep.uniceub@uniceub.br

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE
BRASÍLIA - UNICEUB**



Continuação do Parecer: 1.965.528

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

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

* TCLE:

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

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:
Marília 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:** BRASILIA
Telefone: (61)3966-1511 **E-mail:** cep.uniceub@uniceub.br

Anexo 2: 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 3: Normas da revista científica de escolha para publicação – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPMML)

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 (ListofJournalsIndexed 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. *HistCiencSaude 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. *ArchPatholLab 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. *InfectControlHospEpidemiol* [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