



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

JÉSSICA CAROLINE COSTA MENDES

**CARCINOMA PAPILÍFERO DE TIREOIDE RELACIONADO COM OS
POLIMORFISMOS *XBA*I E *ECOR*I DO GENE *APOB***

BRASÍLIA, 2020

JÉSSICA CAROLINE COSTA MENDES

**CARCINOMA PAPILÍFERO DE TIREOIDE RELACIONADO COM OS
POLIMORFISMOS *XBA*I E *ECOR*I DO GENE *APOB***

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

Orientadora: Prof^a. Esp. Aline Ribeiro Barros
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA, 2020

M538c Mendes, Jéssica Caroline Costa
Carcinoma papilífero de tireoide relacionado com os polimorfismos XbaI e EcoRI do gene APOB / Jéssica Caroline Costa Mendes; orientador Aline Ribeiro Barros; co orientador Izabel Cristina Rodrigues Da Silva. -- Brasília, 2020.
48 p.

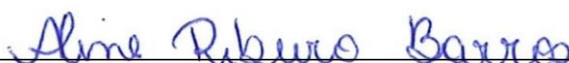
Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2020.

1. Apolipoproteína B. 2. Polimorfismo Genético. 3. Neoplasias da Glândula Tireoide. I. Barros, Aline Ribeiro, orient. II. Da Silva, Izabel Cristina Rodrigues, co orient. III. Título.


JÉSSICA CAROLINE COSTA MENDES

**CARCINOMA PAPILÍFERO DE TIREOIDE RELACIONADO COM OS
POLIMORFISMOS XBAI E ECORI DO GENE APOB**

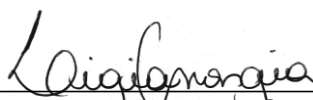
BANCA EXAMINADORA



Orientadora: Prof^a. Esp. Aline Ribeiro Barros
(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)



Gabriel Moura Alves Seixas
(Universidade de Brasília)

BRASÍLIA, 2020

AGRADECIMENTOS

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

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

Aos meus amigos, Michele, César, Júnior, Warley, Braulio, Bruno, Ane, Luciana, Paula, Gemima que sempre estiveram comigo e comemoraram cada conquista comigo.

Aos amigos que fiz durante a graduação, Vinicius, Laís, Gabriel, Yasmin, Aline, Leticia que me ajudaram muito ao longo do curso e deixaram fizeram dos meus dias letivos mais agradáveis e felizes. . Entre todos os amigos que fiz, há um em especial, o Antonio, meu maior companheiro de laboratório e eventos científicos. A pessoa que mais alegrou meus dias, agradeço pela paciência comigo e companherismo.

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 ao Rafael e ao IMEB, sem eles não seria possível a realização desse estudo.

Agradeço as minhas orientadoras, Aline Ribeiro Barros 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.

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.

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

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	12
ABSTRACT	13
LISTA DE TABELAS	14
1 REVISÃO BIBLIGRÁFICA	15
1.1 TIREOIDE	15
1.2 CÂNCER DE TIREOIDE	16
1.3 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER DE TIREOIDE	18
1.4 DIAGNÓSTICO DO CÂNCER DE TIREOIDE.....	19
1.5 TRATAMENTO DO CÂNCER DE TIREOIDE	20
1.6 POLIMORFISMO	21
1.7 APOLIPROTEÍNA B	22
1.8 POLIMORFISMO <i>APOB</i>.....	22
2 JUSTIFICATIVA.....	23
3 OBJETIVOS.....	24
3.1 OBJETIVO GERAL.....	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
ARTIGO	28
Introdução	29
Materiais e Métodos.....	31
Resultados	33
Discussão	34
Declaração de Divulgação	37
Financiamento	37
Referências.....	37

Tabelas	42
ANEXOS	45
Anexo 1: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa ..	45
Anexo 2: Dados clínicos dos prontuários dos pacientes	53
Anexo 3: Normas de formatação para submissão do artigo na Revista Escandinava de investigação Clínica e Laboratorial.....	54

RESUMO

A glândula tireoide é responsável pela produção dos hormônios T3 e T4. Esses hormônios estão relacionados com a metabolização do colesterol e lipídeos. O câncer de tireoide é a neoplasia endócrina mais comum, sendo que o tipo papilar é o mais frequente nos pacientes. A expressão do gene *APOB* atua no transporte e metabolização da lipoproteína de baixa densidade. O presente estudo realizou análise e distribuição do polimorfismo no gene *APOB* nas regiões dos exons 26 e 29, em 30 pacientes que possuem carcinoma papilífero de tireoide (CPT) e que foram submetidos ao tratamento com radiofármaco Iodeto de Sódio (¹³¹I) comparando com 128 pacientes controle no Distrito Federal. Foi realizada a técnica de Reação em Cadeia da Polimerase, seguida por digestão enzimática e os produtos enzimáticos foram submetidos a corrida eletroforetica em gel de agarose 3% (p/v) em solução tampão TBE 1x contendo brometo de etídio. Os resultados foram obtidos após contagem direta dos amplicons. Os dados foram compilados e analisados no programa SPSS versão 25.0. O nível de significância adotado foi de 5%. O presente trabalho foi aprovado no comitê de ética do UNICEUB com CAAE 57382416.6.0000.0023. Os resultados demonstram que os genótipos X-X- e E-E- são mais prevalentes entre os portadores de CPT em comparação com os indivíduos do grupo controle ($p < .0001$). Concluimos que há associação estatística significativa entre os polimorfismos estudados e o CPT, mas não com suas características clínicas. Mais estudos são necessários para entender o papel deste gene no CPT.

Palavras-Chave: Apolipoproteína B; Polimorfismo Genético; Neoplasias da Glândula Tireoide.

ABSTRACT

The thyroid gland is responsible for the production of hormones T3 and T4. These hormones are related to the metabolism of cholesterol and lipids. Thyroid cancer is the most common endocrine neoplasia, and the papillary type is the most frequent in patients. The expression of the APOB gene acts on the transport and metabolism of low density lipoprotein. The present study carried out analysis and distribution of the polymorphism in the APOB gene in the regions of exons 26 and 29, in 30 patients who have papillary thyroid carcinoma (CPT) and who underwent treatment with radiopharmaceutical Sodium Iodide (^{131}I) compared with 128 patients control in the Federal District. The Polymerase Chain Reaction technique was performed, followed by enzymatic digestion and the enzymatic products were subjected to an electrophoretic run on a 3% (w / v) agarose gel in a 1x TBE buffer solution containing ethidium bromide. The results were obtained after direct counting of the amplicons. The data were compiled and analyzed using SPSS version 25.0. The level of significance adopted was 5%. This work was approved by the ethics committee of UNICEUB with CAAE 57382416.6.0000.0023. The results demonstrate that genotypes X-X- and E-E- are more prevalent among patients with TLC compared to individuals in the control group ($p < .0001$). We conclude that there is a significant statistical association between the studied polymorphisms and the CPT, but not with their clinical characteristics. Further studies are needed to understand the role of this gene in CPT.

Keywords: Apolipoprotein B; Genetic Polymorphism; Neoplasms of the Thyroid Gland.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição das frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo XbaI do gene APOB, conforme os grupos caso e controle.....	42
Tabela 2: Distribuição das frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo EcoRI do gene APOB, conforme os grupos caso e controle.....	43
Tabela 3: Distribuição dos genótipos dos polimorfismos XbaI e EcoRI conforme as medianas dos valores de Tiroglobulina e TSH em pacientes com CPT.....	44

1 REVISÃO BIBLIGRÁFICA

1.1 TIREOIDE

A principal função da tireoide é a produção de hormônios que estão ligados ao metabolismo, assim, eles são responsáveis por controlar a função da maioria dos órgãos humanos e no fígado regulam o metabolismo dos triglicérides e do colesterol, além da homeostasia das lipoproteínas (JUNQUEIRA, 2013, 2005; MOLINA, 2014). A triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), produzidas na tireoide, modulam a expressão genética da enzima 3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA redutase (HMG-CoA redutase) que controla a produção do colesterol. Com o aumento da expressão da enzima, conseqüentemente, há o aumento do colesterol (GUIMARÃES, 2008).

A tireoglobulina é uma glicoproteína produzida pelas células foliculares, pode ser encontrada no lúmen dessas células, e contém resíduos de aminoácidos que compõem a tirosina. Ela é responsável pela produção e armazenamento dos hormônios tireoideanos. A produção desses hormônios é proveniente do processo de iodação dos resíduos de tirosina presente na tireoglobulina, originando a triiodotironina (T3) e tiroxina (T4). A glândula tireoide libera principalmente T4 e uma pequena quantidade de T3. A maior parte de T3 presente no organismo é proveniente da desiodação que ocorre no fígado e no rim (JUNQUEIRA, 2013; MOLINA, 2014).

A enzima tireoide peroxidase (TPO) ajuda a ligar os resíduos de iodo com as moléculas de tirosina, ela oxida o iodo em iodeto (I⁻) e covalentemente ligando-os aos resíduos de tirosina, resultando em duas moléculas: monoiodotirosina (MIT) e diiodotirosina (DIT). Essas duas moléculas são precursoras dos hormônios T3 e T4. A TPO combina então os resíduos MIT e DIT para produzir T4 e T3 dentro da molécula de tireoglobulina. O T3 é formado pela ligação de uma molécula MIT e uma molécula DIT, enquanto que o T4 é formado pela ligação de duas moléculas DIT. Essas moléculas formadas são liberadas quando o TSH é estimula o seu receptor, a molécula de tireoglobulina processada é endocitada dentro da célula folicular e é ainda influenciada pelos lisossomos (COOPER, et al. 2009; GARCÍA-JIMÉNEZ; SANTISTEBAN, 2007).

Essa síntese que ocorre na tireoide é regulada pelo eixo hipotalâmico-hipofisário. Ele é responsável por regular a produção de hormônios e está

localizado no sistema nervoso central. O Hormônio Liberador de Tireotrofina (TRH) é sintetizado no hipotálamo e transportado para adeno-hipófise, onde vai ocorrer a liberação do Hormônio Estimulante da Tireoide (TSH) que será transportado pela corrente sanguínea até a glândula tireoide (JUNQUEIRA, 2013; MOLINA, 2014).

1.2 CÂNCER DE TIREOIDE

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), câncer é um grupo de mais de 100 doenças que têm em comum o crescimento desordenado de células que invadem tecidos e órgãos causando a perda ou redução da diferenciação celular, tendendo a ser agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores ou neoplasias malignas (INCA, 2002).

O funcionamento anormal da glândula tireoide, que conseqüentemente acarreta na deficiência ou aumento da produção hormonal, pode ser relacionado a causas imunológicas, carências nutricionais de iodo, fármacos, radiação ou células malignas que dão origem ao carcinoma de tireoide (KUMAN, et al., 2013). O câncer mais comum do sistema endócrino é o de tireoide, acomete mais mulheres e tem maior incidência em pessoas entre 25 e 65 anos de idade (SANTOS, 2018).

Os carcinomas da tireoide podem ser classificados em carcinomas de células originalmente foliculares e parafoliculares. Os carcinomas foliculares podem ser subdivididos em diferenciados, pouco diferenciados ou medulares e indiferenciados ou anaplásicos. O carcinoma diferenciado é subdividido em carcinoma papilífero, folicular e de células de Hürthle (KUMAN, et al., 2013).

O Carcinoma Papilífero pode ser caracterizado por lesões solitárias ou multifocais no interior da tireoide. As lesões frequentemente são císticas e podem conter áreas de fibrose e calcificação. O diagnóstico definitivo é feito verificando as características nucleares da célula através da microscopia (KUMAR et al., 2013).

No Carcinoma Folicular as células 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, ocorre a metástase dessa neoplasia para os pulmões, ossos e fígado (KUMAR et al., 2013).

As células de Hürthle têm como características morfológicas um grande tamanho, podendo ter o formato oval ou poligonal, limites bem definidos, citoplasma granular volumoso, devido à presença de mitocôndrias, núcleos grandes e nucléolos múltiplos, sendo um deles proeminente e contêm altos níveis de enzimas oxidativas (MANFRO; DIAS; LIMA; BARBOSA; SOARES; NASCIMENTO, 2006).

Nos Carcinomas Anaplásicos as células não se assemelham com as células normais da tireoide, manifesta-se geralmente apresentando 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 estruturas vitais do pescoço em decorrência do crescimento rápido do tumor. É um tumor agressivo que vem geralmente acompanhado por mal prognóstico, porém raro (KUMAR et al., 2013).

Os Carcinomas Medulares da Tireoide se manifestam como lesões múltiplas ou nódulo único. Depósitos amiloides originários de moléculas alteradas de calcitonina podem aparecer no estroma adjacente e lesões maiores geralmente contem áreas de necrose e hemorragia, sendo assim as células se desenvolvem a partir das células C, também chamadas de células parafoliculares da glândula e que são responsáveis pela produção de calcitonina. Microscopicamente as células características do Carcinoma Medular geralmente são poligonais a fusiformes (KUMAR et al., 2013). O Carcinoma Medular pode apresentar duas formas: esporádica e hereditária. A primeira se apresenta como uma malignidade unifocal e lateral, já a segunda se distribui de forma multifocal e multicêntrica (PUÑALES et al., 2004).

Segundo o INCA, o Carcinoma Papilífero é o mais frequente entre os Carcinomas Diferenciados apresentando cerca de 50% a 80% dos casos e é considerado uma neoplasia epitelial maligna caracterizada histologicamente pela formação de papilas ou de uma série de aspectos nucleares distintos (INCA, 2002).

1.3 EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER DE TIREOIDE

De acordo com o INCA, o câncer da tireoide é o mais comum da região da cabeça e pescoço e afeta três vezes mais as mulheres do que os homens. A mais recente estimativa brasileira, realizada em 2018, ele é o quinto tumor mais frequente em mulheres nas regiões Sudeste e Nordeste desconsiderando o câncer de pele não-melanoma. A estimativa do INCA, em 2018, é de 9.610 novos casos, sendo 1.570 em homens e 8.040 em mulheres. Para o Distrito Federal (DF) esperasse que 140 novos casos serão diagnosticados. O número de mortes, segundo dados do Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM), em 2015, foi de 748, sendo 239 homens e 509 mulheres (INCA, 2018).

No ano de 2014, a Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer vinculada a Organização Mundial da Saúde (OMS) divulgou que mundialmente 77% dos casos de câncer da tireoide (CT) foi em mulheres no ano de 2012, com 230.000 novos casos, sendo o oitavo câncer mais frequente no sexo feminino, em comparação com 68.000 casos em homens, representando o 18º mais câncer frequente (CARLING, 2013). Dos 40.000 casos de óbitos no mundo por CT em 2012, 27.000 foram mulheres. As taxas de mortalidade são mais altas na região Melanésia, em algumas regiões da África e em países com menores níveis de desenvolvimento humano. Os maiores índices de incidência são encontrados em alguns países europeus, na América do Norte e, globalmente, em primeiro lugar está a República da Coreia, onde o CT é o câncer mais frequente entre mulheres (WILD, 2014).

Nos Estados Unidos, entre os anos de 1975 e 2014, a incidência foi quase três vezes maior, de 4,9 para 14,3 por 100 mil indivíduos. A maior parte desses novos casos foram diagnosticados como câncer papilífero da tireoide, de 3,4 para 12,5 por 100 mil. Apesar do aumento significativo da doença concluiu-se que não há uma epidemia da doença nos Estados Unidos, mas sim um aumento do diagnóstico da doença (WILD, 2014; GALANTI, et. al., 1997). Mundialmente, houve um aumento de três vezes no número de incidência do CT nos últimos 30 anos, devido ao aumento no rastreamento da glândula tireoide, alterações ambientais e do estilo de vida. Fatores genéticos, idade, sexo, tipo histológico, exposição à radiação e região geográfica estão relacionados ao risco de desenvolver um tumor da tireoide (MANZELLA, et al. 2017).

1.4 DIAGNÓSTICO DO CÂNCER DE TIREOIDE

Geralmente, o CT apresenta-se como nódulo que pode ser localizado através de palpação ou pela ultrassonografia ou ultrassom (US) cervical. A ultrassonografia é um exame de imagem de primeira linha para detectar e caracterizar a doença nodular tireoidiana que possui sensibilidade de quase 100%, custo relativamente baixo, é de fácil execução, não é invasiva e não necessita de preparo para sua realização (BRASIL, 2014).

Esse exame deve ser realizado em todos pacientes com diagnóstico ou suspeita de doença nodular. O nódulo pode ser associado a malignidade conforme algumas características que podem ser visualizadas através da ultrassonografia, são eles: hipocogenicidade, microcalcificações, ausência de halo periférico, bordas irregulares, aspecto sólido, fluxo intranodular e a forma. A forma é considerada quando a altura é maior que a profundidade ou largura nos eixos longitudinal e transversal, respectivamente (BRASIL, 2014).

Exames bioquímicos devem ser avaliados para analisar a função tireoidiana. Os testes dosados como marcadores tumorais específicos para o CT são: TSH, tireoglobulina, anti-tireoglobulina, antitireoperoxidase. A análise dos níveis séricos de calcitonina é recomendada por alguns autores para diagnosticar câncer medular da tireoide em estágios iniciais. (MAIA, et al.,2014; MAGALHÃES; VINHA; CARVALHO, 2015).

Caso o TSH sérico for subnormal, é comum o uso da cintilografia com iodo-131 para verificar se o nódulo está não funcionante, ou seja, tem absorção menor do que o tecido tireoidiano circundante, indicando malignidade (GHARIB; PAPINI, 2007). Quando os níveis de TSH sérico estiverem normais ou elevados pode ser realizado um exame de Pesquisa de Corpo Inteiro para avaliação inicial de imagem (PORTULANO; PARODER-BELENITSKY; CARRASCO, 2013).

Os níveis de tireoglobulina (Tg) dependem da massa de tecido da tireoide, quanto maior esse tecido que pode ser normal ou neoplásico, maior o nível de Tireoglobulina sérica. Sendo assim pacientes que foram submetidos a tireoidectomia total não devem apresentar esse marcador (DE OLIVEIRA; DA FONSECA, 2011). Não é recomendado verificar rotineiramente os níveis de tiroglobulina quando se quer fazer uma análise inicial dos nódulos tireoideanos, pois a presença de anti-tireoglobulina pode interferir na dosagem da

tireoglobulina, esse anticorpo deve ser dosado. A presença de anticorpos antitireoperoxidase (anti-TPO) podem indicar tireoidite autoimune (BRASIL, 2014).

A biópsia ou punção aspirativa por agulha fina (PAAF) orientada por ultrassonografia é um método sensível para diferenciar lesões malignas e benignas, sendo efetivo para identificar pacientes candidatos à cirurgia pela presença de malignidade (HAUGEN, et al., 2016). Ela é recomendada quando o nódulo palpado é confirmado como predominantemente sólido através da realização da US (PORTULANO; PARODER-BELENITSKY; CARRASCO, 2013). Apesar de ser um procedimento invasivo, em um estudo prospectivo realizado em 2006, o exame apresentou apenas 1% de resultados falsos negativos (BOELAERT, et al. 2006). Além de todos esses procedimentos para diagnóstico do CT é coerente acompanhar o perfil genético do paciente antes do tratamento.

1.5 TRATAMENTO DO CÂNCER DE TIREOIDE

De acordo com o INCA, o tratamento do câncer da tireoide é cirúrgico, ocorrendo a tireoidectomia total ou parcial como tratamento de escolha, mas essa opção cirúrgica deve levar em consideração não somente a remoção do tumor primário e de suas metástases locoregionais, como também reduzir a morbidade do procedimento. Além desses fatores citados, as condutas cirúrgicas se baseiam nos fatores prognósticos de mortalidade e recorrência (INCA, 2002).

Segundo consensos da Associação Americana de Tireoide (ATA), da Associação Europeia de Tireoide (ETA) e do Departamento de Tireoide da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, a tireoidectomia total é o procedimento recomendado quando a doença nodular é bilateral; está associada à radiação; a citologia é suspeita para malignidade ou indeterminada e o nódulo > 4 cm ou ≤ 4 cm com alta suspeita clínica ou ultrassonográfica de câncer (HAUGEN, et. al., 2016).

Ainda de acordo com esse consenso, a lobectomia é considerada suficiente na doença nodular unilateral e esporádica se o nódulo ≤ 4 cm com citologia indeterminada e baixa suspeita clínica e ultrassonográfica de malignidade; ou quando a citologia insatisfatória (HAUGEN, et. al., 2016).

Geralmente o tratamento de tireoidectomia é seguido de iodoterapia, através de radiofármaco. Apenas no tratamento dos Carcinomas Indiferenciados da Tireoide que essa terapia não é utilizada, uma vez que células anaplásicas não são capazes de captar iodo, por essas células não expressarem a proteína NIS, que é um simportador sódio-iodo (CARVALHO; GRAF, 2005).

Há um preparo antes da administração do radiofármaco para aumentar a captação e eficácia do medicamento. Para o aumento da eficácia é necessário aumentar os níveis de TSH. Esse aumento ocorre com a suspensão do uso de levotiroxina, levando a um hipotireoidismo endógeno e administrando TSH recombinante humano (TSHrh). Sendo que a administração de TSH exógeno começa dois dias antes da terapia com iodo-131. Outro fator importante antes do início do tratamento é ter uma dieta pobre em iodo. Ela deve ser iniciada no mínimo duas semanas antes ao tratamento. (BRASIL, 2014)

O tratamento com radiofármaco consiste na administração oral de iodeto de sódio (Iodo-131). Ele é encontrado nas formas de solução ou cápsula e é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal. Na tireoide, no tecido folicular, o iodeto é oxidado a iodo e liga-se aos resíduos tirosil da tireoglobulina. A energia da radiação ionizante se perde, comprometendo estruturas químicas em toda a célula-alvo e conseqüentemente gera sérios danos sobre a molécula de DNA e com a perda da função celular a célula entra em apoptose (IPEN, 2005).

A radioiodoterapia tem duas finalidades: radioablação e terapêutica. A radioablação tem como objetivo destruir tecido tireoidiano remanescente, usando geralmente atividades de 1.100 a 3.700 Mbq, que representa de 30 a 100 mCi. A finalidade terapêutica além de buscar destruir tecido remanescente, elimina micrometástases locoregionais e metástases à distância, utilizando geralmente atividades acima de 3.700 Mbq, que representa 100 mCi (CARBALLO; QUIROS, 2012).

1.6 POLIMORFISMO

O conjunto de genes onde estão inseridas todas as informações para o funcionamento e construção do organismo é denominado genoma humano. As informações contidas nesses genes são codificadas pelo ácido desoxirribonucleico (DNA). Ele é formado por 4 bases que são ligadas em pares, são elas: adenina – timina; citosina – guanina. Formando uma “base de dados”,

que pode ser traduzida possibilitando conhecer e identificar a causa de várias doenças, tendo assim o objetivo de combater ou evita-las (SCHEIDE, et al., 2005).

Polimorfismos de nucleotídeo único, também chamados de SNPs, são variações que ocorrem em 90% do genoma humano. Apresentando uma variação a cada 1.000 pares de bases, podendo ser responsáveis por diversas patologias. Eles são encontrados na região codificante ou na região reguladora do gene, podendo ocasionar a mudança na sequência de aminoácidos, alterando o desempenho do gene e por consequência seu produto. Alterações genéticas superiores a 1% dos indivíduos de uma espécie, na qual um gene específico manifesta diversificações em sua sequência codificantes, não codificantes ou reguladoras, podem traduzir-se em fenótipos diferentes, pode ser denominado como polimorfismo genético (SALAZAR-PELAÉZ et al., 2012).

1.7 APOLIPROTEÍNA B

A apolipoproteína B é uma glicoproteína responsável pela metabolização e transporte do colesterol, constituída por 4536 aminoácido, pesando 540 kDa. Ela é constituída por cinco domínios estruturais e o quarto domínio, localizado nos aminoácidos 3070-4100, é responsável pela interação da apolipoproteína B com os receptores da LDL e pela manutenção da integridade desta partícula (BOAS et al., 2016).

Essa glicoproteína pode ser encontrada sob duas formas: apo B-48 e apo B-100. A apo B-48 está presente nos quilomícrons e a apo B-100 está presente nas lipoproteínas: lipoproteína de muito baixa densidade ou very low density lipoprotein (VLDL), lipoproteína de densidade intermediária ou intermediate density lipoprotein (IDL), lipoproteína de baixa densidade ou low density lipoprotein (LDL). A apo B-100 é o principal e único componente proteico da partícula de LDL-C (BOAS et al., 2016). Sendo responsável por modular a remoção de LDL do plasma e regulam a biossíntese do colesterol (LIMA, et al. 2007).

1.8 POLIMORFISMO *APOB*

A apolipoproteína B é codificada pelo gene *APOB*. O gene da *APOB* é encontrado no braço curto do cromossomo 2 humano, especificamente na região

2p24. Ele possui 29 éxons e 28 introns. Muitas mutações polimórficas no gene da *APOB* já foram estudadas e descritas. Entre eles destacam-se *XbaI* e *MspI* no exon 26, *EcoRI* no exon 29, *Ins/Del* no exon 1 – peptídeo sinalizador e região hipervariável na extremidade 3' (VNTR) (OLIVEIRA, 2005).

O polimorfismo *EcoRI* ocorre no éxon 29 do gene *APOB*. Nele há a troca do nucleotídeo guanina por adenina (GAA→AAA). Essa troca altera o aminoácido final, há a troca do ácido glutâmico pela lisina. Em indivíduos selvagens, que não apresentam a mutação, a guanina produz um sítio de clivagem para a enzima *EcoRI* apresentando o alelo E+. Quando ocorre a mutação, a enzima *EcoRI* perde o sítio de restrição, originando o alelo E-. Sob essas condições são obtidos três genótipos: E+E+, E+E- e E-E-. (GU et al., 2015).

O polimorfismo *XbaI* ocorre no éxon 26 do gene *APOB*. Nele ocorre a troca da citosina por uma timina e apesar da troca do nucleotídeo o mesmo aminoácido, a treonina, é codificado. A presença da timina, nos indivíduos mutantes, gera um sítio de restrição para a enzima *XbaI*, originando o alelo X+. Em indivíduos selvagens, com a presença da citosina não é gerado o sítio de restrição para enzima e é formado o alelo X-. Sendo assim são determinados três genótipos X+X+, X+X- e X-X-. (GU et al., 2015)

2 JUSTIFICATIVA

A apolipoproteína B está envolvida no metabolismo da LDL sendo essencial para ligação das partículas de LDL aos receptores celulares, permitindo a entrada de LDL nas células (FORTI, Neusa; DIAMENT, Jayme, 2007; XAVIER, Hermes T. et al., 2013). A glândula tireoide é responsável pela produção de triiodotironina e tiroxina relacionadas ao metabolismo lipídico (JUNQUEIRA, 2013). Assim, alterações genéticas no gene *APOB* e alterações na tireoide podem levar a expressões fenotípicas diferenciadas e influenciar mudanças nos níveis séricos de colesterol. Tem sido relatado que níveis séricos de lipídios mais elevados estão associados a um risco de CT de aproximadamente duas vezes maior (RADIŠAUSKAS, Ričardas, 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a associação dos polimorfismos *XbaI* e *EcoRI* do gene da apolipoproteína B com o Carcinoma Papilífero de Tireoide (CPT), em uma população brasileira do Distrito Federal.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Associar as variáveis bioquímicas, em indivíduos com CPT, comparando com um grupo controle.
- Determinar as frequências dos haplótipos, alélicas e genotípicas dos polimorfismos *XbaI* e *EcoRI* do gene da apolipoproteína B correlacionandoas com o CPT.
- Determinar as frequências do genótipo X-X-/E+E+ do polimorfismo *XbaI/EcoRI* do gene da apolipoproteína B, e compará-lo com os demais genótipos *XbaI/EcoRI*, nos grupos estudados.

Verificar a possível associação entre o genótipo X-X-/E+E+ do polimorfismo *XbaI/EcoRI* do gene da *APOB* e o CPT.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOAS, Elisa Helena Vilas et al. **Associação do genótipo da apolipoproteína BE os fatores de risco cardiovasculares em idosos**. Revista Brasileira de Ciência e Movimento, v. 24, n. 2, p. 162-172, 2016.

BOELAERT, K. et al. **Serum Thyrotropin Concentration as a Novel Predictor of Malignancy in Thyroid Nodules Investigated by Fine-Needle Aspiration**. The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism, [s.l.], v. 91, n. 11, p.4295-4301, nov. 2006. The Endocrine Society.
<http://dx.doi.org/10.1210/jc.2006-0527>.

BRASIL. Portaria nº 7, de 03 de janeiro de 2014. **Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Carcinoma Diferenciado da Tireoide**. Brasil: Ministério da Saúde. 2014.

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.

CARBALLO, Marilee; QUIROS, Roderick M. **To Treat or Not to Treat: The Role of Adjuvant Radioiodine Therapy in Thyroid Cancer Patients.** Journal Of Oncology, [s.l.], v. 2012, p.1-11, 2012. Hindawi Limited.
<http://dx.doi.org/10.1155/2012/707156>.

CARVALHO, Gisah A. de; GRAF, Hans. **Carcinoma indiferenciado de tireoide.** Arq Bras Endocrinol Metabol, p. 719-724, 2005

COOPER, David S. et al. **Revised American Thyroid Association Management Guidelines for Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer.** Thyroid, [s.l.], v. 19, n. 11, p.1167-1214, nov. 2009. Mary Ann Liebert Inc. <http://dx.doi.org/10.1089/thy.2009.0110>.

DE OLIVEIRA, G.; DA FONSECA, C. **Uso de marcadores tumorais no diagnóstico e acompanhamento do tratamento do câncer.** Revista Eletrônica de Farmácia, v. 8, n. 2, p. 15, 2 jul. 2011.

FORTI, Neusa; DIAMENT, Jayme. **Apolipoproteínas B e A-I: fatores de risco cardiovascular?.** Rev. Assoc. Med. Bras., São Paulo , v. 53, n. 3, p. 276-282, jun. 2007 . Disponível em
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302007000300029&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 11 jul. 2020.
<https://doi.org/10.1590/S0104-42302007000300029>.

GALANTI, Mr et al. **Parental cancer and risk of papillary and follicular thyroid carcinoma.** British Journal Of Cancer, [s.l.], v. 75, n. 3, p.451-456, fev. 1997. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1038/bjc.1997.76>.

GARCÍA-JIMÉNEZ, Custodia; SANTISTEBAN, Pilar. **TSH signalling and cancer.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, [s.l.], v. 51, n. 5, p.654-671, jul. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302007000500003>.

GHARIB, Hossein; PAPINI, Enrico. **Thyroid Nodules: Clinical Importance, Assessment, and Treatment.** Endocrinology And Metabolism Clinics Of North America, [s.l.], v. 36, n. 3, p.707-735, set. 2007. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ecl.2007.04.009>.

GUIMARÃES, Susana; CASTRO, Ana Rita. **A função da tireoide: relação com o colesterol e glicose num meio hospitalar.** 2008.

GU, Wei; ZHANG, Mingduo; WEN, Shaojun. **Association between the APOB XbaI and EcoRI polymorphisms and lipids in Chinese: a meta-analysis.** Lipids in health and disease, v. 14, n. 1, p. 123, 2015.

HAUGEN, Bryan R. et al. **2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer.** Thyroid, [s.l.], v. 26,

n. 1, p.1-133, jan. 2016. Mary Ann Liebert Inc.
<http://dx.doi.org/10.1089/thy.2015.0020>.

INCA/MS PROCEDURES. **Thyroid cancer**. Revista Brasileira de Cancerologia, v. 48, n. 2, p. 181–185, 2002.

IOD-IPEN-131 (iodeto de sódio-131). Rio de Janeiro: IPEN. 2015. **Bula de remédio**.

JUNQUEIRA, L. C. U. **Histologia básica: texto e atlas**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KUMAR, Vinay; ABBAS, Abul K.; ASTER, Jon C. **Robbins patologia básica**. Elsevier Brasil, 2013.

LIMA, Luciana Moreira; CARVALHO, Maria das Graças; SOUSA, Marinez Oliveira. **Índice apo B/apo A-I e predição de risco cardiovascular**. Arquivos Brasileiros de Cardiologia, [s.l.], v. 88, n. 6, p.187-190, jun. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0066-782x2007000600014>

MAIA, Ana Luiza et al. **Diagnóstico, tratamento e seguimento do carcinoma medular de tireoide: recomendações do Departamento de Tireoide da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia**. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 58, n. 7, p. 667-700, 2014.

MAGALHAES, Daniela; VINHA, Eduardo; CARVALHO, Davide. **Uma perspectiva clínica sobre a utilidade da calcitonina e do antígeno carcinoembrionário na abordagem do carcinoma medular da tiroide: revisão da literatura**. Arq Med, Porto, v. 29, n. 5, p. 123-131, out. 2015 .

MANFRO, Gabriel; DIAS, Fernando Luiz; LIMA, Roberto Araujo; BARBOSA, Mauro Marques; SOARES, José Roberto Netto; NASCIMENTO, Marilena Figueira. **Fatores prognósticos em pacientes com carcinoma das células de hürthle**. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, [s.l.], v. 33, n. 2, p. 84-90, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-69912006000200006>.

MANZELLA, Livia et al. **New Insights in Thyroid Cancer and p53 Family Proteins**. International Journal Of Molecular Sciences, [s.l.], v. 18, n. 6, p.1325-1327, 21 jun. 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18061325>.

MOLINA, Patricia E. **Fisiologia Endócrina-4**. AMGH Editora, p77-88, 2014.
OLIVEIRA, Mauren I. Anghebem. **Associação dos Polimorfismos XbaI E EcoRI do gene da apolipoproteína B com a Doença Arterial Coronariana e Diabetes Mellitus tipo 2**. 2005. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciência) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba

PORTULANO, Carla; PARODER-BELENITSKY, Monika; CARRASCO, Nancy. **The Na⁺/I⁻ Symporter (NIS): Mechanism and Medical Impact**. Endocrine

Reviews, [s.l.], v. 35, n. 1, p.106-149, 5 dez. 2013. The Endocrine Society.
<http://dx.doi.org/10.1210/er.2012-1036>.

PRIESTLEY, L.; KNOTT, T.; WALLIS, S.; POWELL, L.; PEASE, R.; BRUNT, H.; SCOTT, J. **RFLP for the human apolipoprotein B gene: Xbal**. Nucleic Acids Res., v.13, p. 6793, 1985.

PUNIALES, Marcia K. et al. **Carcinoma medular de tireóide: aspectos moleculares, clínico-oncológicos e terapêuticos**. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, [s.l.], v. 48, n. 1, p.137-146, fev. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27302004000100015>.

RADIŠAUSKAS, Ričardas et al. **Hypertension, serum lipids and cancer risk: A review of epidemiological evidence**. Medicina, v. 52, n. 2, p. 89-98, 2016.

RENGES, H.H.; PEACOCK, R.; DUNNING, A.M.; TALMUD, P.; HUMPHRIES, S.E. **Genetic relationship between the 3'VNTR and diallelic apolipoprotein B gene polymorphisms: haplotype analysis in individuals of European and South Asian origin**. Ann. Hum. Genet., v.56, p. 11-33, 1992.

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.

SALAZAR-PELAÉZ, Lina María et al. **Polimorfismos genéticos da interleucina-1 e o risco de periodontite periapical crônica numa população de Antioquia, Colômbia**. Archives of Oral Research, v. 8, n. 1, 2012.

SANTOS, M. DE O. **Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil**. Revista Brasileira de Cancerologia, v. 64, n. 1, p. 119-120, 30 mar. 2018.

SCHEID, Neusa Maria John; FERRARI, Nadir; DELIZOICOV, Demétrio. **A construção coletiva do conhecimento científico sobre a estrutura do DNA**. Ciência & Educação (Bauru), v. 11, n. 2, p. 223-233, 2005.

TORTORA, Gerard J.; NIELSEN, Mark T. **Princípios de Anatomia Humana**. Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2000.

XAVIER, Hermes T. et al. **V Diretriz brasileira de dislipidemias e prevenção da aterosclerose**. Arquivos brasileiros de cardiologia, v. 101, n. 4, p. 1-20, 2013.

ARTIGO

**Association of clinical laboratory tests of patients with Papillary
Thyroid Carcinoma with APOB gene polymorphism**

Jessica Caroline Costa Mendes^a; Aline Ribeiro Barros^a ; Antonio Avelino
Ferreira Soares ^a; Calliandra Maria Souza Silva ^b ;Jamilla Reis de Oliveira^a;
Rafael Martins de Moraes^c; Izabel Cristina Rodrigues da Silva^{a*}

*^aPharmacy, University of Brasília, Brasília, Brazil; ^b Biology Institute University of
Brasília, Brasília, Brazil; ^cPharmacist, Medical Imagens of Brasilia –IMEB, Brasília,
Brazil,*

Izabel Cristina Rodrigues da Silva. Campus Universitário, s/n, Centro Metropolitano.
Postal Code: 72220-275. Brasília, Federal District , Brazil. belbiomedica@gmail.com

*corresponding author

Association of clinical laboratory tests of patients with Papillary Thyroid Carcinoma with APOB gene polymorphism

O Carcinoma Papilífero de Tireoide (PTC) é a neoplasia maligna mais comum dentre os tumores de tireóide. Embora a etiologia seja desconhecida, há indícios que seja uma doença multifatorial, e que background genético esteja envolvido. Há evidências que alterações do metabolismo de lipídios estejam associadas a suscetibilidade ao câncer, no entanto estudos que associam genes que participam desse metabolismo ao CPT são escassos. Dado este contexto nosso estudo dedica-se a avaliar a associação entre os polimorfismos *XbaI* (rs693) e *EcoRI* (rs1042031) dos genes *APOB*, para isso realizamos um estudo do tipo caso-controle, com 30 portadores de PTC e 128 controles sadios. Para genotipagem realizamos a técnica de PCR-RFLP. Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética do UniCeub, CAAE 57382416.6.0000. 0023. Nossos resultados mostram que há os genótipos X-X- e E-E- estão associados ao CPT ($p < .0001$). Não houve relação estatística entre os genótipos e os valores de TSH e Tiroglobulina. Embora o alelo X+ do polimorfismo *XbaI* esteja associado a mudanças no perfil lipídico, segundo os nossos achados essa não parece ser uma via para a carcinogênese do PTC. Em relação ao polimorfismo *EcoRI*, nossos resultados são semelhantes a outro estudo, embora este tenha avaliado outra neoplasia. Por fim ambas as mutações não parecem repercutir de forma significativa nos níveis de TSH e Tiroglobulina desses pacientes. Nosso trabalho conclui que há associação entre os polimorfismos estudados e o CPT, mas não com suas características clínicas. Mais estudos são necessários para entender o papel deste gene no CPT.

Palavras-chave: polimorfismo genético, apolipoproteínas b, neoplasias da tireoide.

Introdução

O câncer de tireoide (CT) é responsável por 2,5 % do total de tumores malignos, sendo a neoplasia endócrina mais prevalente [1]. Nos últimos 10 anos foi observado um aumento de 4,5 % na incidência desse tipo tumor [2]. Essa incidência é superior no sexo feminino, acometendo majoritariamente indivíduos entre 25 a 65 anos [3]. Em 2015, os Estados Unidos registraram 62 000 novos casos da doença [4]. Alguns estudos sugerem que fatores como a melhora das ferramentas diagnósticas disponíveis, mudanças no estilo

de vida e a exposição a carcinógenos específicos da tireoide (por exemplo, radiação médica) estejam relacionados com o aumento dessa incidência [5].

A tireoide é formada por células parenquimatosas que se agrupam em dois tipos celulares distintos, as parafoliculares e foliculares. Por sua vez as células foliculares agrupam-se em unidades funcionais denominadas folículos que são responsáveis pela síntese e excreção dos hormônios triiodotironina (T3) e tiroxina (T4). Esses folículos organizam-se ao redor de estruturas colóides formadas por tiroglobulina, substrato para produção desses hormônios. As células parafoliculares localizam-se aninhadas entre as células foliculares e secretam o hormônio calcitonina [7].

Neste contexto o CT pode ser dividido em dois subtipos, folicular e medular. Os tumores derivados das células foliculares são classificados em anaplásicos, pouco diferenciados e diferenciados. Dentre os tumores diferenciados há ainda os histótipos papilar, folicular e de células de Hürtle. O CT medular é oriundo das células parafoliculares [4,8]. O CT diferenciado é o mais prevalente, com destaque para o carcinoma papilífero de tireoide (CPT). Usualmente cursa com bom prognóstico [8]. No Brasil estima-se que entre os anos de 2016 e 2017 tenham sido registrados 6.960 novos casos [9].

O tratamento padrão para CT consiste na tireoidectomia seguida por radioterapia, associado a reposição hormonal com levotiroxina [10]. O paciente deve manter o acompanhamento por toda vida, avaliando periodicamente além de exames de imagem, os valores séricos de tireoglobulina (Tg), que em pacientes que passaram pela remoção cirúrgica da tireoide, é um marcador tumoral utilizado no seguimento a longo prazo [11].

Várias alterações genéticas, como mutações somáticas e rearranjos, participam da carcinogênese do CT [12]. Diversos proto-oncogenes clássicos (B-RAF, MET, RET) tem sido associado a suscetibilidade ao CPT [13]. No entanto, alguns estudos sugerem

que não oncogenes, genes não relacionados com o aparecimento de tumores, podem ter participação na doença [14].

O gene *APOB* foi mapeado no braço curto do cromossomo 2 (2p24) e é responsável por codificar a apolipoproteína B (apoB), que possui propriedades relacionadas a metabolização do colesterol lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) [15]. No polimorfismo *XbaI* do gene *APOB* há uma troca de nucleotídeo (C>T) na posição do éxon 26, essa mutação é silenciosa e não afeta a sequência de aminoácidos da apoB. A presença do alelo mutado Timina cria um sítio de restrição para enzima *XbaI*, o alelo X+, a ausência de sítio de restrição é representada pelo alelo X- [16]. No polimorfismo *EcoRI* há uma troca de nucleotídeos (G>A) na posição do éxon 29. Essa resulta na substituição do ácido glutâmico pela lisina na apoB, o que repercute na função da proteína. A presença do alelo mutado Guanina cria um sítio de restrição para enzima *EcoRI*, E+, e a ausência E- [17].

Considerando esta lacuna, este estudo tem como objetivo analisar a associação do polimorfismo genético *XbaI* (rs693) e *EcoRI* (rs1042031) do gene *APOB* com o CPT e suas características clínicas.

Materiais e Métodos

Realizamos um estudo transversal do tipo caso controle, onde participaram 30 indivíduos portadores de CPT e 128 indivíduos saudáveis com ausência de neoplasia maligna, e nem registros de nódulos tireoidianos. A amostra foi calculada considerando o valor de prevalência de 1% do CPT na população adulta, levando em consideração um erro amostral de 5% e um intervalo de confiança de 95% em uma população composta por 8450 indivíduos com CPT.

O recrutamento dos participantes que possuíam CPT aconteceu na empresa Imagens Médicas de Brasília (IMEB), quando estes seriam submetidos a iodoterapia pós tireoidectomia. A média de idade foi 47,5 ±12,3 anos (19 mulheres e 11 homens). Em

relação ao grupo controle, estes foram recrutados no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Brasília, *campus* Ceilândia. Como critério de inclusão foram adotadas ausência de histórico de neoplasias malignas e nódulos tireoidianos. A média de idade deste grupo foi $53,7 \pm 6,2$. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi obtido de todos os participantes desta pesquisa. O presente estudo teve aprovação do Comitê de Ética do UniCeub, CAAE n° 57382416.6.0000. 0023.

O processo de análise dos genótipos iniciou-se com a coleta de cerca de 5 mL de sangue venoso periférico em tubos com EDTA. A partir do sangue coletado foi extraído o DNA com auxílio do *Mini Kit PureLink® Genomic*, da empresa Invitrogen (catálogo #K1820-02, lote #19339891). O DNA obtido foi quantificado por meio de espectrofotometria utilizando o equipamento NanoDrop® (*Thermo Fisher Scientific Inc.*). Nossa extração obteve o rendimento médio de 20 ng/ μ l.

A genotipagem foi realizada através da técnica de PCR qualitativa. Utilizamos em cada reação de PCR 8,0 μ L de DNA genômico na concentração final de 2,5 ng/ μ L; 12,5 μ L de tampão 10x (10mM de Tris e 50mM de KCl); 6,25 μ L de MgCl₂ 50 mM (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 6,25 μ L de desoxirribonucleotídeo trifostato (dNTPs); 2,5 mM; (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil); 2 μ L de Taq-Polimerase, (Ludwig Biotec, Alvorada, Rio Grande do Sul, Brasil), 10 U/ μ L; 2,5 μ L de cada oligonucleotídeo (10 μ M, *IDT technologies*); completando com água Milli-Q para um volume final de 53 μ L por reação.

As seguintes sequências de oligonucleotídeos foram utilizadas para o polimorfismo *Xba*I do gene *APOB*:

F-5'-GGAGACTATTCAGAAGCTAA-3';

R-5'-GAAGAGCCTGAAGACTGACT-3'.

Para o polimorfismo *EcoRI* do gene *APOB* foram usadas as seguintes sequências de oligonucleotídeos:

F-5'-CTGAGAGAAGTGTCTTCGAAG 3';

R-5'-CTCGAAAGGAAGTGTAATCAC 3'.

As condições de termociclagem para ambos polimorfismos foram: desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguida de 34 ciclos de desnaturação à 94°C por 1 minuto, anelamento à 58°C por 1 minuto, extensão à 72°C por 1 minutos e uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

Após a técnica de PCR prosseguimos com a digestão enzimática utilizando as enzimas *XbaI* e *EcoRI*, as amostras foram submetidas a banho-maria à 37° durante 2 horas. Os produtos da digestão foram submetidos a corrida eletroforética em gel de agarose 2% com brometado por cerca de duas horas a 50W, e foram visualizados em Transluminador com fonte UV acoplado com fotodocumentador (L-PIX Touch). Verificamos a frequência genotípica após contagem direta dos amplicons. O tamanho dos fragmentos visualizados na análise polimórfica *XbaI* foi de 277pb e 433pb e *EcoRI* foi de 480pb.

Para análise estatística optamos por utilizar o programa estatístico SPSS versão 25.0. Para a comparação entre os genótipos foi aplicado o teste qui-quadrado. Avaliamos o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) usando também o teste qui-quadrado. Para análise comparativa dos genótipos e as variáveis clínicas empregamos os testes não paramétrico H de Kruskal-Wallis e U de Mann-Whitney. Para todas as análises consideramos o nível de significância de 5 % ($p < 0,05$).

Resultados

Nossas análises evidenciaram uma forte relação estatística entre o polimorfismo *XbaI* e *EcoRI* do gene *APOB* e o CPT. Ambos os polimorfismos estavam em equilíbrio

HWE. Conforme apresentado na tabela 1, podemos observar que o genótipo X-X- foi o mais prevalente na população portadora de CPT(83,3%), já no grupo de indivíduos sadios o genótipo heterozigoto foi o mais frequente(52,3%) [Table 1 near here].

Em relação ao polimorfismo EcoRI verificamos que o genótipo homozigoto com que possuíam os alelos com ausência do sítio de restrição, E-, foi o mais frequente nos participantes com CPT (86,7%), já na população do grupo controle ele só foi visto em 4 pacientes de um total de 128 (3,1%), o risco associado desse alelo ao CPT foi evidenciado após o cálculo do Odds Ratio (OR), pacientes portadores do alelo E- possuem cerca de 60 vezes mais risco de suscetibilidade ao CPT [Table 2 near here].

Apesar dos achados positivos na análise do polimorfismo e a suscetibilidade ao CPT, quando cruzados os diferentes genótipos dos polimorfismos do gene *APOB* com as características clínicas (valores séricos de Tg e TSH) de nossos pacientes portadores de CPT tireotóxicos, não encontramos nenhuma relação estatística relevante. No entanto podemos observar que em nossas amostras as medianas de Tg e TSH estavam acima do preconizado para este grupo de pacientes. [Table 3 near here].

O teste HW evidenciou que as amostras encontravam-se em equilíbrio em ambos os grupos de polimorfismos analisados (XBAI: $p=0,425$; ECORI: $p=0,771$).

Discussão

Este é o primeiro estudo que se dedica a avaliar a associação do polimorfismo genético *EcoRI* e *XbaI* do gene *APOB* com o CPT, além disso este trabalho também é pioneiro em analisar se há associação entre os polimorfismos supracitados e os níveis de TSH e Tg em pacientes com neoplasia de tireoide pós tireoidectomia. Dados na literatura sugerem que ambos os polimorfismos possuem associações com doenças cardiovasculares, mas os estudos que relacionam com as neoplasias malignas são escassos [20,21,22]

Segundo uma metá-análise conduzida Wei Gu et al. [23], o polimorfismo *XbaI* mostrou associação significativa com mudanças do perfil lipídico em chineses. Portadores do alelo X+ possuíam níveis mais elevados de LDL. Tal fato pode estar relacionado com produção de uma apoB relativamente inativa [23,24]. Neste mesmo foi observado que os portadores do alelo E- do polimorfismo *EcoRI* apresentaram níveis mais altos de LDL e mais baixos de HDL [23].

Em um estudo recente, foi observado que portadores de neoplasias malignas da tireoide, incluindo CPT, possuem alterações no perfil lipídico. Os investigadores demonstraram que os participantes com CT possuíam valores elevados de Tg e alterações de efeitos negativos na razão LDL/HDL [19]. Estudos apontam que alterações no metabolismo lipídico podem estar relacionadas a carcinogênese [25]. No entanto observamos em nosso estudo que o alelo X- do polimorfismo *XbaI*, não relacionado com mudanças no perfil lipídico, aumenta a suscetibilidade ao CPT. Para o polimorfismo *EcoRI* observamos que o alelo E- confere um risco maior ao CPT, o que pode estar relacionada com a influência desse gene no perfil lipídico.

Associação positivas entre os polimorfismo *XbaI* já foram observadas no câncer de mama, neste trabalho os alelo X- estava associado com aumento do risco [26]. Outro estudo que avaliou a associação do polimorfismo *XbaI* com câncer de vesícula biliar, observou que pacientes portadores do genótipo X+X+ possuíam menor risco [27]. Esses achados são semelhantes aos nossos sendo que apenas 10% dos nossos participantes com CPT possuíam o genótipo X+X+. Em relação ao polimorfismo *EcoRI*, nossas buscas retornaram apenas um estudo que avaliou a associação do gene com neoplasia maligna, neste trabalho os autores observaram que o alelo E+ foi associado positivamente com a suscetibilidade ao câncer de mama [26], esse resultado foi convergente do nosso.

Nosso trabalho não evidenciou relação estatística significativa entre os níveis de TSH e Tg e ambos os polimorfismos. Liu Xi et al. [26], ao estudarem o polimorfismo *EcoRI* e *XbaI* do apoB e as características clínicas de pacientes com câncer de mama, também não encontrou relação estatística significativa. Em pacientes tireoidectomizados a Tg é um interessante marcador de tumores residuais. Na ausência de metástase os níveis esperados de Tg devem ser $<0,5$ ng/mL [28]. Nossos achados revelam que os genótipos X-X- e E-E- apresentavam as maiores medianas de Tg (4,4ng/mL e 3,74ng/mL), cabe ressaltar que a coleta de sangue foi realizada anterior a radioterapia.

As diretrizes da American Thyroid Association (ATA) para pacientes adultos tireoidectomizados preconiza que os valores de TSH devem ser mantidos $< 0,1$ mUI/ML [29]. Alguns estudos sugerem que pacientes atireóticicos que possuem níveis normais de TSH podem estar relacionadas com reposição insuficiente de hormônio Tireoidiano [30]. Um recente estudo demonstrou que pacientes portadores CPT e atireóticicos, com TSH suprimido, possuem níveis maiores de T3 [31]. Nossos achados apontam medianas elevadas de TSH em todos os grupos, no entanto sem relação estatística significativa com os diferentes genótipos, vale ressaltar que nossos participantes no momento da coleta de sangue iriam ser submetidos a ablação, e por indicação médica não estavam usando levotiroxina, tal fato pode explicar os valores altos de TSH obtidos.

Apesar do ineditismo do nosso trabalho e dos nossos relevantes achados, a não obtenção dos dados referentes ao lipidograma dos nossos participantes é um grande fator limitante deste estudo.

Nossos achados reforçam ainda mais a hipótese que a carcinogênese dos tumores de tireoide é complexa e multifatorial. Para entender melhor o papel dessas alterações genéticas no CPT faz-se necessário mais estudos, com número maior de participantes e em grupos étnicos variados, explorando um número maior de variáveis clínicas.

Nosso trabalho conclui que há associação entre os polimorfismos estudados e o CPT, mas não com suas características clínicas. E reforçamos a importância de mais pesquisas que relacionem esse gene com o carcinoma papilífero de tireoide.

Declaração de Divulgação

Os autores declaram não existir conflitos de interesses.

Financiamento

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001.

Referências

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2019. *CA. Cancer J. Clin.* [Internet]. 2019;69:7–34. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.3322/caac.21551>.
- [2] Pellegriti G, Frasca F, Regalbuto C, et al. Worldwide Increasing Incidence of Thyroid Cancer: Update on Epidemiology and Risk Factors. *J. Cancer Epidemiol.* [Internet]. 2013;2013:1–10. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/jce/2013/965212/>.
- [3] Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, et al. Screening for Thyroid Cancer. *JAMA* [Internet]. 2017;317:1882. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2017.4011>.
- [4] Cabanillas ME, McFadden DG, Durante C. Thyroid cancer. *Lancet* [Internet]. 2016;388:2783–2795. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673616301726>.
- [5] Vigneri R, Malandrino P, Vigneri P. The changing epidemiology of thyroid cancer. *Curr. Opin. Oncol.* [Internet]. 2015;27:1–7. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00001622-201501000-00002>.
- [6] Carling T, Udelsman R. Thyroid Cancer. *Annu. Rev. Med.* [Internet]. 2014;65:125–137. Available from:

<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-med-061512-105739>.

- [7] Peacock M. Calcium Metabolism in Health and Disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* [Internet]. 2010;5:S23–S30. Available from: <http://cjasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.2215/CJN.05910809>.
- [8] Noone A-M, Cronin KA, Altekruze SF, et al. Cancer Incidence and Survival Trends by Subtype Using Data from the Surveillance Epidemiology and End Results Program, 1992–2013. *Cancer Epidemiol. Biomarkers E Prev.* [Internet]. 2017;26:632–641. Available from: <http://cebp.aacrjournals.org/lookup/doi/10.1158/1055-9965.EPI-16-0520>.
- [9] de Morais RM, Sobrinho AB, de Souza Silva CM, et al. The Role of the NIS (SLC5A5) Gene in Papillary Thyroid Cancer: A Systematic Review. *Int. J. Endocrinol.* [Internet]. 2018;2018:1–11. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ije/2018/9128754/>.
- [10] Perros P, Boelaert K, Colley S, et al. Guidelines for the management of thyroid cancer. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* [Internet]. 2014;81:1–122. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/cen.12515>.
- [11] Evans C, Tennant S, Perros P. Serum thyroglobulin in the monitoring of differentiated thyroid cancer. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* [Internet]. 2016;76:S119–S123. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365513.2016.1210339>.
- [12] Anania MC, Di Marco T, Mazzone M, et al. Targeting Non-Oncogene Addiction: Focus on Thyroid Cancer. *Cancers (Basel).* [Internet]. 2020;12:129. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6694/12/1/129>.
- [13] Tirrò E, Martorana F, Romano C, et al. Molecular Alterations in Thyroid Cancer: From Bench to Clinical Practice. *Genes (Basel).* [Internet]. 2019;10:709. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/10/9/709>.
- [14] Barros AR, Souza JN, Sobrinho AB, et al. Associação entre polimorfismos de citocinas inflamatórias com o carcinoma papilífero de tireóide. *Rev. Divulg. Científica Sena Aires* [Internet]. 2019;13–23. Available from:

<http://revistafacesa.senaaires.com.br/index.php/revisa/article/view/467>.

- [15] Huang LS, Miller DA, Bruns GA, et al. Mapping of the human APOB gene to chromosome 2p and demonstration of a two-allele restriction fragment length polymorphism. *Proc. Natl. Acad. Sci.* [Internet]. 1986;83:644–648. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.83.3.644>.
- [16] Berg K, Powell LM, Wallis SC, et al. Genetic linkage between the antigenic group (Ag) variation and the apolipoprotein B gene: assignment of the Ag locus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* [Internet]. 1986;83:7367–7370. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.83.19.7367>.
- [17] Bentzen J, Jørgensen T, Fenger M. The effect of six polymorphisms in the Apolipoprotein B gene on parameters of lipid metabolism in a Danish population. *Clin. Genet.* [Internet]. 2002;61:126–134. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1034/j.1399-0004.2002.610207.x>.
- [18] Jung KY, Ahn HY, Han SK, et al. Association between thyroid function and lipid profiles, apolipoproteins, and high-density lipoprotein function. *J. Clin. Lipidol.* [Internet]. 2017;11:1347–1353. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1933287417304403>.
- [19] Li D, Zhou L, Ma C, et al. Comparative analysis of the serum proteome profiles of thyroid cancer: An initial focus on the lipid profile. *Oncol. Lett.* [Internet]. 2019; Available from: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2019.10655>.
- [20] Li Y. ApoB gene Splns/Del, XbaI polymorphisms and myocardial infarction. *J. Cardiovasc. Med.* [Internet]. 2014;15:717–726. Available from: <https://insights.ovid.com/crossref?an=01244665-201409000-00006>.
- [21] Nikolajevic Starcevic J, Santl Letonja M, Praznikar ZJ, et al. Polymorphisms XbaI (rs693) and EcoRI (rs1042031) of the ApoB gene are associated with carotid plaques but not with carotid intima-media thickness in patients with diabetes mellitus type 2. *Vasa* [Internet]. 2014;43:171–180. Available from: <https://econtent.hogrefe.com/doi/10.1024/0301-1526/a000346>.

- [22] Chen Y, Zeng J, Tan Y, et al. Association between apolipoprotein B EcoRI polymorphisms and coronary heart disease. *Wien. Klin. Wochenschr.* [Internet]. 2016;128:890–897. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00508-016-1072-z>.
- [23] Gu W, Zhang M, Wen S. Association between the APOB XbaI and EcoRI polymorphisms and lipids in Chinese: a meta-analysis. *Lipids Health Dis.* [Internet]. 2015;14:123. Available from: <https://lipidworld.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12944-015-0125-z>.
- [24] Demant T, Houlston RS, Caslake MJ, et al. Catabolic rate of low density lipoprotein is influenced by variation in the apolipoprotein B gene. *J. Clin. Invest.* [Internet]. 1988;82:797–802. Available from: <http://www.jci.org/articles/view/113681>.
- [25] Long J, Zhang C-J, Zhu N, et al. Lipid metabolism and carcinogenesis, cancer development. *Am. J. Cancer Res.* [Internet]. 2018;8:778–791. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29888102>.
- [26] Liu X, Wang Y, Qu H, et al. Associations of Polymorphisms of rs693 and rs1042031 in Apolipoprotein B Gene With Risk of Breast Cancer in Chinese. *Jpn. J. Clin. Oncol.* [Internet]. 2013;43:362–368. Available from: <https://academic.oup.com/jjco/article-lookup/doi/10.1093/jjco/hyt018>.
- [27] Gong Y, Zhang L, Bie P, et al. Roles of ApoB-100 Gene Polymorphisms and the Risks of Gallstones and Gallbladder Cancer: A Meta-Analysis. Moschetta A, editor. *PLoS One* [Internet]. 2013;8:e61456. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0061456>.
- [28] Indrasena BSH. Use of thyroglobulin as a tumour marker. *World J. Biol. Chem.* [Internet]. 2017;8:81. Available from: <http://www.wjgnet.com/1949-8454/full/v8/i1/81.htm>.
- [29] Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated

Thyroid Cancer. *Thyroid* [Internet]. 2016;26:1–133. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/thy.2015.0020>.

- [30] Lee YK, Lee H, Han S, et al. Association between Thyroid-Stimulating Hormone Level after Total Thyroidectomy and Hypercholesterolemia in Female Patients with Differentiated Thyroid Cancer: A Retrospective Study. *J. Clin. Med.* [Internet]. 2019;8:1106. Available from: <https://www.mdpi.com/2077-0383/8/8/1106>.
- [31] Ito M, Miyauchi A, Hisakado M, et al. Biochemical Markers Reflecting Thyroid Function in Athyreotic Patients on Levothyroxine Monotherapy. *Thyroid* [Internet]. 2017;27:484–490. Available from: <https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/thy.2016.0426>.

Tabelas

Tabela 1: Distribuição das frequências genótípicas e alélicas do polimorfismo *XbaI* do gene *APOB*, conforme os grupos caso e controle.

<i>APOB XbaI</i>	Grupos				P	OR (IC 95%)
	CPT		Controle			
	N	%	N	%		
X+X+	3	10,0	21	16,4	<0.0001*	N/A
X-X+	2	6,7	67	52,3		
X-X-	25	83,3	40	31,3		
Total	30	100,0	128	100,0		
X-X-	25	83,3	40	31,3	<0.001*	11 (3.92-30.82)
X-X-+X+X+	5	16,7	88	68,8		
Total	30	100,0	128	100,0		
X+	8	13,3	109	42,6	<0.001*	0.20 (0.09-0.45)
X-	52	86,7	147	57,4		
Total	60	100,0	256	100,0		

Teste Qui-Quadrado e Odds Ratio. N/A: Não se aplica. * valores inferiores a <0,05.

Tabela 2: Distribuição das frequências genotípicas e alélicas do polimorfismo***EcoRI* do gene *APOB*, conforme os grupos caso e controle**

<i>APOB EcoRI</i>	Grupos				P	OR (IC 95%)
	CPT		Controle			
	N	%	N	%		
E+E+	0	0,0	84	65,6		N/A
E-E+	4	13,3	40	31,3		
E-E-	26	86,7	4	3,1		
Total	30	100,0	128	100,0		
E-E+	4	13,3	40	31,3	0.048	0.33 (0.11-1.03)
E-E-+E+E+	26	86,7	88	68,8		
Total	30	100,0	128	100,0		
E-	56	93,3	48	18,8	<.0001	60.66 (20.97-175.42)
E+	4	6,7	208	81,3		
Total	60	100,0	256	100,0		

Teste Qui-Quadrado e Odds Ratio. N/A: Não se aplica. * valores inferiores a <0,05.

Table 3: Distribuição dos genótipos dos polimorfismos *XbaI* e *EcoRI* conforme as medianas dos valores de Tiroglobulina e TSH em pacientes com CPT.

		[Tiroglobulina] ng/mL			[TSH] uUI/mL		
		Percentil 25	Mediana	Percentil 75	Percentil 25	Mediana	Percentil 75
<i>XbaI</i> a	X-X-	1,02	4,4	9	15,96	77,28	117,66
	X-X+	3,08	3,08	3,08	0,72	0,72	0,72
	X+X+	0,52	1,08	1,63	55,9	102,95	150
P valor		0,456			0,237		
<i>EcoRI</i> b	E-E-	0,9	3,74	20,45	14,27	95,42	121
	E-E+	1,14	2,4	4,29	33,56	71,28	77,28
	E+E+	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
P valor		0,525			0,456		

a: Teste H de Kruskal-Wallis; b: Teste U de Mann-Whitney. Tiroglobulina: a; TSH: b.

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

**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

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: BRASÍLIA

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 de formatação para submissão do artigo na Revista Escandinava de investigação Clínica e Laboratorial

Link para acesso: https://authorservices.taylorandfrancis.com/tf_quick_guide/

The screenshot displays the Taylor & Francis Author Services website. At the top, there is a navigation bar with links for 'Insights blog' and 'Open access'. The main header features the 'AUTHORSERVICES' logo with the tagline 'Supporting Taylor & Francis authors' and a search bar. Below the header is a dark navigation menu with options: 'Choosing a journal', 'Writing your paper', 'Making your submission', 'Peer review', 'Production', and 'You're published!'. The breadcrumb trail shows 'Home > Writing your paper > Taylor & Francis manuscript layout guide'.

The main content area has a dark green background with the title 'Taylor & Francis manuscript layout guide'. The text explains that the layout guide helps format manuscripts for Taylor & Francis or Routledge journals. It mentions downloadable templates and emphasizes checking journal-specific instructions before submission. It also notes that accepted manuscripts will be formatted and typeset.

How to format your manuscript

Font
Use Times New Roman font in size 12 with double-line spacing.

Margins
Margins should be at least 2.5cm (1 inch).

Title
Use bold for your article title, with an initial capital letter for any proper nouns.

Abstract
Indicate the abstract paragraph with a heading or by reducing the font size. The instructions for authors for each journal will give specific guidelines on what's required here, including whether it should be a structured abstract or graphical abstract, and any word limits.

Share
Social media sharing icons for Facebook, Twitter, and LinkedIn.

Writing your paper

- Writing a journal article
- Writing a review article
- Abstracts and titles
- Defining authorship
- Using third-party material in your article
- Formatting and templates
- How Taylor & Francis Editing Services can help you improve your manuscript
- Mathematical scripts
- Including tables in your article
- Enhancing your article with supplemental material
- Getting published
- Using special characters
- Putting your article together: the essentials
- Taylor & Francis manuscript layout guide
- Understanding the publishing process
- Ethics for authors
- What is a competing interest?
- Patient consent

Featured video

What to think about b...
WRITING JOURNAL ART...

Abstracts are really important. It may be short, but your abstract is your opportunity to 'pitch' your article to the journal editors, and later, its readers. It should focus on what your research is about, what methods have been used, and what you found out. Get further advice on writing abstracts and titles.

Keywords

Keywords help readers find your article, so are vital for discoverability. If the journal instructions for authors don't give a set number of keywords to provide, aim for five or six.

[Learn more about choosing suitable keywords to make your article and you more discoverable.](#)

Headings

Please follow this guide to show the level of the section headings in your article:

1. First-level headings (e.g. Introduction, Conclusion) should be in bold, with an initial capital letter for any proper nouns.
2. Second-level headings should be in bold italics, with an initial capital letter for any proper nouns.
3. Third-level headings should be in italics, with an initial capital letter for any proper nouns.
4. Fourth-level headings should be in bold italics, at the beginning of a paragraph. The text follows immediately after a full stop (full point) or other punctuation mark.
5. Fifth-level headings should be in italics, at the beginning of a paragraph. The text follows immediately after a full stop (full point) or other punctuation mark.

Tables and figures

Show clearly in the article text where the tables and figures should appear, for example, by writing *[Table 1 near here]*.

Check the instructions for authors to see how you should supply tables and figures, whether at the end of the text or in separate files, and follow any guidance given on the submission system.

[Find more detailed advice on including tables in your article.](#)

It's very important that you have been given permission to use any tables or figures you are reproducing from another source before you submit.

[Here's our advice on obtaining permission for third party material and our guide to submission of electronic artwork.](#)

Data availability statement

If you're submitting a data availability statement for your article, please include it within the text of your manuscript, before your 'References' section. So that readers can easily find it, please give it the heading 'Data availability statement'.

Spelling and punctuation

Each journal will have a preferred method for spelling and punctuation. You'll find this in the instructions for authors, available on the journal's homepage on Taylor and Francis Online. Make sure you apply the spelling and punctuation style consistently throughout your article.

Special characters

If you are preparing your manuscript in Microsoft Word and your article contains special characters, accents, or diacritics, we recommend you follow these steps:

- European accents (Greek, Hebrew, or Cyrillic letters, or phonetic symbols): choose Times New Roman font from the dropdown menu in the "Insert symbol" window and insert the character you require.
- Asian languages (such as Sanskrit, Korean, Chinese, or Japanese): choose Arial Unicode font from the dropdown menu in the "Insert symbol" window and insert the character you require.
- Transliterated Arabic: choose either Times New Roman or Arial Unicode (unless the instructions for authors specify a particular font). For ayns and hamzas, choose Arial Unicode font from the dropdown menu in the "Insert symbol" window. Type the Unicode hexes directly into the "Character code" box, using 02BF for ayn, and 02BE for hamza.

character you require.

- Asian languages (such as Sanskrit, Korean, Chinese, or Japanese): choose Arial Unicode font from the dropdown menu in the "Insert symbol" window and insert the character you require.
- Transliterated Arabic: choose either Times New Roman or Arial Unicode (unless the instructions for authors specify a particular font). For ayns and hamzas, choose Arial Unicode font from the dropdown menu in the "Insert symbol" window. Type the Unicode hexes directly into the "Character code" box, using 02BF for ayn, and 02BE for hamza.

Running heads and received dates

These aren't required when submitting a manuscript for review. They will be added during the production process if your article is accepted for publication.



Remember, to save time you can use our downloadable templates to prepare your article for submission.

Format-free submission

An increasing number of Taylor & Francis journals allow format-free submission. If your article is consistent and includes everything necessary for review, you can submit work without formatting your manuscript. Check the instructions for authors for your chosen journal to find out if it uses format-free submission.

Publishing open access



Have you considered publishing your research open access? Open access makes published academic research freely and permanently available online. Anyone, anywhere can read and build upon this research. Find out more about publishing open access.

[« Putting your article together: the essentials](#)
[Understanding the publishing process »](#)

[Cookie Policy](#) |
 [Privacy Policy](#) |
 [Terms & Conditions](#) |
 [Accessibility](#) |
 [Contact and FAQs](#)

[Taylor & Francis Online](#) |
 [F1000 Research](#) |
 [Editing Services](#) |
 [Editor Resources](#) |
 [For Books Authors](#)



© 2020 Informa UK Limited, an [Informa Group](#) Company.

Registered office is 5 Howick Place, London, SW1P 1WG.
 Registered in England and Wales Number 1072954. Registered for VAT: GB 365 4626 36.



Taylor & Francis Group
an informa business