



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB

FACULDADE DE CEILÂNDIA - FCE

CURSO DE ENFERMAGEM

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM ENFERMAGEM – TCCE

VITÓRIA BORGES DE ATAÍDES RORIZ

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE *P53* ÉXON 4 EM PACIENTES COM
CARCINOMA ESPINOCELULAR DE BOCA**

DISTRITO FEDERAL

2022

VITÓRIA BORGES DE ATAÍDES RORIZ

**ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE *P53* ÉXON 4 EM PACIENTES COM
CARCINOMA ESPINOCELULAR DE BOCA**

Trabalho de conclusão de curso em enfermagem,
da Universidade de Brasília – UnB Faculdade de
Ceilândia – FCE, sob a forma de revisão da
literatura com a orientação da Prof^ª. Dr^ª Jamila
Reis Oliveira e co-orientação Prof^ª. Dr^ª Izabel
Cristina Rodrigues da Silva.

Distrito Federal

2022

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

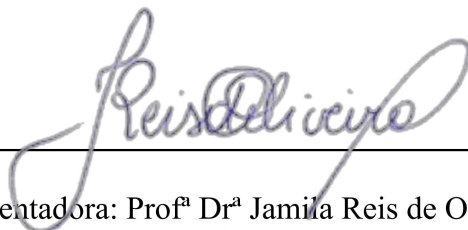
RR787a Roriz , Vitória Borges de Ataides
ANÁLISE DO POLIMORFISMO NO GENE P53 ÉXON 4 EM PACIENTES
COM CARCINOMA ESPINOCELULAR DE BOCA / Vitória Borges de
Ataides Roriz ; orientador Jamila Reis Oliveira ; co
orientador Izabel Cristina Rodrigues da Silva . --
Brasília, 2022.
67 p.

Monografia (Graduação - Enfermagem) -- Universidade de
Brasília, 2022.

1. Polimorfismo . 2. gene p53. 3. câncer de boca . 4.
carcinoma espinocelular de boca . I. Oliveira , Jamila Reis
, orient. II. Silva , Izabel Cristina Rodrigues da , co
orient. III. Título.

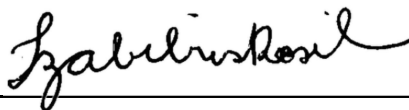
RORIZ, Vitoria Borges de Ataidés; OLIVEIRA, Jamila Reis; SILVA, Izabel Cristina Rodrigues - **Análise do polimorfismo no gene p53 éxon 4 em pacientes com carcinoma espinocelular de boca** - Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, abril de 2022; Trabalho de Conclusão de Curso de Enfermagem.

BANCA EXAMINADORA



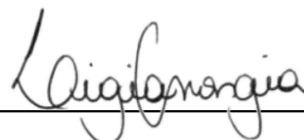
Orientadora: Profª Drª Jamila Reis de Oliveira

(FCE/UnB)



Co-orientadora: Profª Drª Izabel Cristina Rodrigues da Silva

(FCE/UnB)



Lígia Canonigia de Abreu Cardoso

(Uniplan/UNIP)



Danielle Kaiser de Souza

(FCE/UnB)



Caroline Ferreira Fratelli

(FM - FESAR) - (Suplente)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha querida mãe, que sempre foi minha maior incentivadora e que mesmo com todos os empecilhos sempre me deu todo o suporte possível para que eu pudesse desfrutar de uma educação de qualidade. Esta conquista é tão minha quanto sua.

Dedico também a minha doce avó, Dulcinéia, que recentemente nos deixou, mas que cumpriu com excelência seu papel de avó. Obrigada por ter cuidado de mim, me protegido, me mimado. Sou grata a Deus pela honra e privilégio de ser sua neta. Esta é uma singela forma de lhe homenagear e agradecer por todo amor que dedicou a mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ser meu refúgio, fortaleza, meu abrigo. Por ter me sustentado e ser minha força. Reconheço que sem Ele nada seria possível.

Agradeço a minha mãe, Mailda, por ser a maior incentivadora dos meus estudos. Minhas conquistas são suas.

Agradeço especialmente aos meus tios Maurício e Mércia, que abriram os caminhos e me deram todo o suporte necessário para que eu alcançasse meus objetivos.

Agradeço a tia Eliane, que é meu porto seguro. Obrigada por cuidar de mim o tempo todo.

Agradeço a todos os meus familiares que de alguma forma me apoiaram e me incentivaram nessa longa jornada.

Agradeço às minhas orientadoras, Jamila e Izabel, que estão comigo a um longo tempo. Obrigada por compartilharem comigo o conhecimento de vocês, por toda paciência, por me ensinarem tudo o que sei sobre pesquisa científica. Vocês são referência para mim.

Agradeço aos meus queridos amigos e colegas de faculdade. Sou feliz por ter compartilhado essa experiência da graduação com vocês. Vocês fizeram meus dias na universidade mais leves.

Agradeço a todos que fizeram parte da minha trajetória. Amigos, família, professores, profissionais, pacientes. Minha sincera gratidão.

EPÍGRAFE

“ Não fui eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.
Josué 1:9

RESUMO

Introdução: O carcinoma espinocelular (CEC) de boca é o tipo de neoplasia epitelial mais frequente dentre os cânceres de cabeça e pescoço, é uma doença de caráter multifatorial. Dentre os fatores de risco para o desenvolvimento de CEC destaca-se o tabagismo, etilismo, além dos fatores genéticos. Existem lesões potencialmente malignas, são elas: leucoplasia, eritroplasia, queilite actínica e líquen plano oral, com grande susceptibilidade de se tornarem CEC. A histopatologia do CEC caracteriza-se por invasão ao tecido conjuntivo, intenso infiltrado inflamatório crônico, pleomorfismo celular e nuclear. O gene *p53* é considerado o gene guardião do genoma. Está envolvido no reparo do dano ao DNA, induz senescência ou apoptose. O polimorfismo na região do códon 72 no éxon 4 no gene *p53* codifica um genótipo arginina / prolina. Sabe-se que o alelo arginina está envolvido na apoptose, enquanto o alelo prolina é mais eficaz na indução de reparo do dano celular. Neste estudo, o referido polimorfismo do gene *p53* foi avaliado, buscando possível associação com a tumorigênese do CEC, bem como associações com dados clínicos. **Metodologia:** Estudo caso-controle, composto por 280 indivíduos saudáveis no grupo controle, e o grupo caso com oito pacientes diagnosticados com câncer de boca atendidos pelo SUS-DF. Realizado amplificação do DNA por meio de PCR com protocolo específico para o gene *p53* Arg72Pro rs1042522 e eletroforese em gel de agarose. **Resultados e Discussão:** 75% dos indivíduos no grupo caso apresentou o genótipo Arg/Arg e no grupo controle 51,8% Arg/Pro, sendo estatisticamente significativa ($p=0,004$). A maioria dos pacientes eram do sexo masculino, tabagistas e etilistas; sendo a língua a região de maior acometimento. **Conclusão:** O genótipo Arg/Arg está associado estatisticamente com o CEC de boca em pacientes atendidos pelo SUS/DF.

Palavras-chave: CEC, carcinoma espinocelular, câncer de boca, polimorfismo, gene *p53*.

ABSTRACT

Introduction: Squamous cell carcinoma (SCC) of the mouth is the most frequent type of epithelial neoplasm among head and neck cancers; it is a multifactorial disease. Among the risk factors for the development of SCC, smoking, alcoholism and genetic factors stand out. There are potentially malignant lesions, such as leukoplakia, erythroplakia, actinic cheilitis and oral lichen planus, with great susceptibility to become SCC. The histopathology of SCC is characterized by invasion into connective tissue, intense chronic inflammatory infiltrate, cellular and nuclear pleomorphism. The *p53* gene is considered to be the guardian gene of the genome. It is involved in the repair of DNA damage, induces senescence or apoptosis. The polymorphism in the codon 72 region in exon 4 in the *p53* gene encodes an arginine/proline genotype. The arginine allele is known to be involved in apoptosis, while the proline allele is more effective in inducing repair of cell damage. In this study, this *p53* gene polymorphism was evaluated, aiming at a possible association with SCC tumorigenesis, as well as associations with clinical data. **Methodology:** Case-control study, consisting of 280 healthy individuals in the control group, and the case group with eight patients diagnosed with oral cancer treated by SUS-DF. DNA amplification was done by PCR with specific protocol for the gene *p53* Arg72Pro rs1042522 and electrophoresis in agarose gel. **Results and Discussion:** 75% of the individuals in the case group presented the Arg/Arg genotype and in the control group 51.8% Arg/Pro, being statistically significant ($p=0.004$). Most patients were male, smokers and drinkers; the tongue was the most affected region. **Conclusion:** The Arg/Arg genotype is associated statistically with oral SCC in patients seen by the SUS/DF.

Keywords: SCC, squamous cell carcinoma, oral cancer, polymorphism, *p53* gene.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Sistema de Estadiamento TNM

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Associação do polimorfismo no gene p53 Arg72Pro com CEC

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

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Leucoplasia localizado em soalho da cavidade oral

Figura 2: Eritroplasia em placa avermelhada, triangular, localizada em palato duro

Figura 3: Queilite actínica se manifestando por perda da margem entre a zona de vermelhão e a região cutânea do lábio inferior, com superfícies lisas e manchas eritroleucoplásicas

Figura 4: Líquen plano reticular: linhas brancas entrelaçadas envolvendo a região posterior da mucosa jugal

Figura 5: CEC em assoalho de boca

Figura 6: CEC em borda lateral de língua

Figura 7: A - Revestimento epitelial ceratinizado (setas pretas), com epitélio displásico e invasão inicial em tecido conjuntivo, infiltrado inflamatório crônico (círculo azul). Elastose solar (círculo preto) característica de lesões com exposição crônica à luz UV. HE, 10x. **B** - epitélio hiperplásico, com células pleomórficas e hipercromáticas (círculo vermelho). HE, 40x.

Figura 8: A - Lesão ulcerada, com áreas adjacentes eritroplásicas, bordas elevadas, consistência firme em borda lateral de língua do lado esquerdo. **B** - presença de pleomorfismo celular (círculo branco), mitose típica (seta preta) e invasão muscular (círculo azul). HE, 40x.

Figura 9: Localização do gene *p53*

Figura 10: Ciclo de divisão celular representando a ação do gene *p53*

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Distribuição genotípica dos pacientes com CEC e do grupo controle

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACS: *American Cancer Society*

ARG: Arginina

CDK2: *Cyclin Dependent Kinases 2* - quinase dependentes de ciclina 2

CEC: Carcinoma espinocelular

DF: Distrito Federal

DNA: *Deoxyribonucleic acid* - ácido desoxirribonucleico

FAPDF: Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal

HPV: *Human papilloma virus* - papiloma vírus humano

HRAN: Hospital Regional da Asa Norte

INCA: Instituto Nacional de Câncer

LOPM: Lesões orais pré-malignas

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCR: *Polimerase Chain Reaction* - reação em cadeia de polimerase

PRO: Prolina

RFLP: *Restriction Fragment Length Polymorphism* - polimorfismo de comprimento de fragmento

SNP: *Single nucleotide polymorphism* - polimorfismo de nucleotídeo único

TCLE: Termo de consentimento livre e esclarecido

UV: Ultravioleta

SUMÁRIO	
INTRODUÇÃO	14
REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1 CARCINOMA ESPINOCELULAR DE BOCA (CEC)	15
2.2 GENE P53	22
JUSTIFICATIVA	24
OBJETIVOS	24
4.1 Objetivo geral	24
4.2 Objetivos específicos	25
MÉTODO	25
5.1 Revisão da Literatura	25
5.2 Termo de consentimento	25
5.3 Critérios de inclusão dos pacientes	25
5.4 Critérios de Exclusão	26
5.5 Amostra e estratégias de Biologia Molecular	26
5.6 Cálculo Amostral	26
5.7 Procedimentos Técnicos Laboratoriais	26
5.8 Análise estatística	27
RESULTADOS	28
DISCUSSÃO	30
CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35
ANEXO I - Aprovação no comitê de ética	41

1. INTRODUÇÃO

O termo “câncer de boca” abrange um amplo conjunto de neoplasias que acometem a cavidade bucal, tanto em aspectos etiológicos quanto histopatológicos. Dentre todos os tipos de cânceres localizados na topografia da cabeça e pescoço, o carcinoma espinocelular (CEC) é a neoplasia epitelial mais frequente dentre os casos de câncer de cabeça e pescoço, correspondendo entre 90-95% (DEDIVITIS et al 2004; TEIXEIRA et al, 2009; CHAKROBARTY et al, 2014; VALLE et al, 2016).

Pode ocorrer variabilidade na sequência de DNA em determinadas localizações do cromossomo, se esta variação for encontrada em uma frequência superior a 1% da população é considerado polimorfismo. Os polimorfismos são importantes para a diversidade humana, tendo em vista que as variações genótípicas são consequência dos polimorfismos, como por exemplo o sistema sanguíneo ABO. Ou seja, os polimorfismos influenciam tanto a diversidade da espécie quanto fatores de risco associados às mais diversas doenças, como o câncer. Os principais tipos de polimorfismos existentes são os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs); polimorfismo de inserção ou deleção (indels), que podem ser simples ou de microsatélite; polimorfismos de variantes no número de cópias e os polimorfismos de inversões (ROCHA et al, 2007; NUSSBAUM et al, 2008)

Os polimorfismos de nucleotídeo único, os chamados SNPs, são os tipos de polimorfismo mais frequentes; no qual ocorre a troca de uma base única ou pequenas inserções e deleções de fragmentos de DNA homólogos (ROCHA et al, 2007; CARVALHO, 2018).

Ademais, estudos na área, utilizando marcadores biomoleculares, indicam que as células possuem determinados genes que sofrem mutações com ou sem a ação de fatores exógenos. Esta alteração nos genes afeta a expressão das proteínas que eles codificam, tendo como consequência falhas na capacidade de regular o crescimento, o que favorece o surgimento de neoplasias (SANTOS et al, 2011; CARVALHO, 2018).

Pesquisas demonstram que o gene *p53* é o gene que mais comumente sofre alterações em diversos tipos de câncer humano. Este gene é conhecido como o guardião do ciclo celular, é um gene supressor tumoral clássico, classe genética envolvida no controle de pontos estratégicos da cadeia de eventos celulares, controlando o crescimento e a diferenciação celular (LIMA et al, 2006; CARVALHO, 2018).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CARCINOMA ESPINOCELULAR DE BOCA (CEC)

O carcinoma espinocelular (CEC) de boca é o tipo de neoplasia epitelial mais frequente dentre os cânceres de cabeça e pescoço, representando 90-95% das neoplasias orais. Os outros 5% correspondem a linfomas, sarcomas, melanoma além dos tumores das glândulas salivares. O carcinoma espinocelular é um tipo de câncer que se desenvolve na mucosa e afeta as vias aerodigestivas e áreas frequentemente expostas ao sol (DEDIVITIS et al, 2004; TEIXEIRA et al, 2009; CHAKROBARTY et al, 2014; VALLE et al, 2016; DEUSDEDIT, 2016; HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS, 2021).

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA, 2021), o câncer na cavidade oral é o quinto tipo de lesão maligna mais frequente nos homens e o 13º entre as mulheres. No Brasil, havia uma estimativa de 15.190 novos casos de câncer da cavidade oral, sendo 11.180 em homens e 4.010 em mulheres para o ano de 2020. Sendo que em 2019 o número de mortes por CEC de boca chegou a 6.605, destes cerca de 77% eram do sexo masculino. Dentre os cânceres em geral, o da cavidade oral representou o oitavo tipo de câncer que mais leva a óbito entre os homens, com 4,2% dos óbitos.

Quanto à localização do CEC, a língua é o local de maior incidência correspondendo a 44% dos casos, seguida pelo assoalho bucal que acomete 16,5%. Contudo, existem outros sítios que também são acometidos pelo CEC, numa porcentagem menor mas não menos importante; tais sítios são: trígono retromolar, palato mole, palato duro, vermelho do lábio, gengiva e a orofaringe (FEITOSA et al, 2019; ACS, 2021).

O CEC de boca não possui apenas um fator causal, ou seja, é uma doença multifatorial. Dentre os fatores extrínsecos, destaca-se o tabagismo e o etilismo. Existem ainda outros fatores de grande impacto, como a exposição solar que influencia principalmente nos cânceres de lábio inferior, além da presença do papiloma vírus humano (HPV), que é um vírus oncogênico e está associado com vários sítios dos cânceres. Além disso, os hábitos alimentares podem funcionar tanto como fator de risco como fator protetor. Alguns estudos demonstram que determinados alimentos podem ser associados com a diminuição do risco para as lesões cancerosas, como as frutas, vegetais, arroz e feijão (MARCHIONI et al, 2007; TEIXEIRA et al, 2009; FEITOSA et al, 2019; BAIRELE et al, 2020).

Vale salientar que alguns estudos vêm relatando que algumas profissões possuem um risco a mais para o desenvolvimento de CEC, como é o caso dos trabalhadores de oficinas mecânicas. Acredita-se que isto se deve à exposição a diversos produtos químicos como os vapores, os ácidos e os solventes; colocando este grupo de trabalhadores em risco

independentemente de outros fatores como a idade, o consumo de álcool e/ou tabagismo (BROWN et al, 2007; TEIXEIRA et al, 2009).

Comumente, o CEC é observado em pacientes adultos, de ambos os sexos, sendo mais prevalente no sexo masculino e entre 40 e 60 anos, mas também pode ocorrer em pacientes jovens. A proporção de homem:mulher no câncer de boca é de 8:1 na população abaixo de 60 anos e de 3:1 na população acima de 60 anos. De acordo com a *American Cancer Society* o risco de desenvolver câncer oral é de 1 em 60 para os homens e 1 em 140 para mulheres (TEIXEIRA et al, 2009; ACS, 2021).

Grande maioria dessas neoplasias são originadas das chamadas lesões orais potencialmente malignas (LOPM). Vale salientar que há diferenças entre os termos “lesão pré-cancerosa” e “condição pré-cancerosa”, sendo que as “lesões pré-cancerosas” são lesões que possuem um tecido morfológicamente alterado, tornando mais susceptível para o desenvolvimento de câncer naquele local; ou seja, o ambiente fica propício para o câncer. Já uma “condição pré-cancerosa” é um estado generalizado do indivíduo que está associado a um risco significativamente aumentado para o câncer (MAIA et al, 2016; SILVA et al, 2018).

As lesões orais pré-cancerosas caracterizam-se como endofítica ou exofítica e podem estar associadas à fase inicial do CEC. Dentre tais lesões orais destaca-se como mais comuns a leucoplasia; a eritroplasia, sendo que cerca de 90% dos casos apresentam displasia epitelial severa ou carcinoma *in situ*; a queilite actínica cuja prevalência é de 0,45 a 2,4% e o líquen plano oral (AM FERREIRA et al, 2016; MAIA, 2016; SILVA et al, 2018; FEITOSA, 2019).

A leucoplasia oral é uma lesão que se manifesta predominantemente em placas brancas, que pode apresentar-se lisa, rugosa ou verrucosa; além disso, possui maior propensão de se tornar maligna (FIGURA 1). A eritroplasia oral, por sua vez, refere-se à lesão macular ou em placa, de coloração vermelha (FIGURA 2). A queilite actínica afeta o lábio inferior quando há exposição excessiva e crônica aos raios UV e se manifesta por ressecamento, erosões e perda do limite do lábio (FIGURA 3). O líquen plano oral possui etiologia desconhecida, embora acredite-se que seja uma doença autoimune, havendo uma resposta imune com agressão ao epitélio de revestimento (FIGURA 4). O CEC propriamente dito se forma no epitélio com características histopatológicas de células epiteliais malignas, sendo que algumas células podem invadir tecidos mais profundos e conseqüentemente destruir os tecidos por onde passa. (HOSNI et al, 2009; NICO et al, 2011; CEITA, 2014 ;MAIA, 2016; RAMOS et al, 2017; TENÓRIO et al, 2018, FEITOSA et al, 2019).



Figura 1: Leucoplasia localizado em soalho da cavidade oral - (RAMOS et al, 2017).



Figura 2: Eritroplasia em placa avermelhada, triangular, localizada em palato duro - (OLIVEIRA, 2011).



Figura 3: Queilite actínica se manifestando por perda da margem entre a zona de vermelhão e a região cutânea do lábio inferior, com superfícies lisas e manchas eritroleucoplásicas (TENÓRIO et al, 2018).



Figura 4: Líquen plano reticular: linhas brancas entrelaçadas envolvendo a região posterior da mucosa jugal (CEITA, 2014).

O quadro clínico do carcinoma de células escamosas apresenta um sinal característico que é uma lesão ulcerada persistente, normalmente ocorre o endurecimento da região e há infiltração periférica, podendo ou não apresentar manchas avermelhadas ou esbranquiçadas (FIGURA 5 e 6). Um dos fatores que auxilia no diagnóstico é a não cicatrização da ferida em até 15 dias. Além disso, os principais sintomas são dor intensa, sangramento e exsudação profusa. Entretanto, a região bucal não é uma região comumente inspecionada pelas pessoas e o CEC pode demorar a apresentar sinais e sintomas, levando ao diagnóstico e tratamento tardio, com conseqüente pior prognóstico (VALLE et al, 2016; FEITOSA et al, 2019).



Figura 5: CEC em assoalho de boca (TUCCI et al, 2009).



Figura 6: CEC em borda lateral de língua (TUCCI et al, 2009).

Quanto aos achados histopatológicos, o CEC se forma no epitélio oral onde destaca-se a invasão ao tecido conjuntivo por meio de ilhas e cordões. Nota-se também o pleomorfismo celular e nuclear, além de intenso infiltrado inflamatório crônico. As células tumorais apresentam citoplasma eosinófilo com grandes núcleos e algumas das células malignas podem invadir tecido adiposo, muscular ou ósseo e destroem os tecidos conforme progredem. Na Figura 7 e 8 é possível ver os aspectos histopatológicos de CEC em pacientes com ulcerada em lábio inferior e lateral da língua, respectivamente (SANTOS, 2018; FEITOSA, 2019).

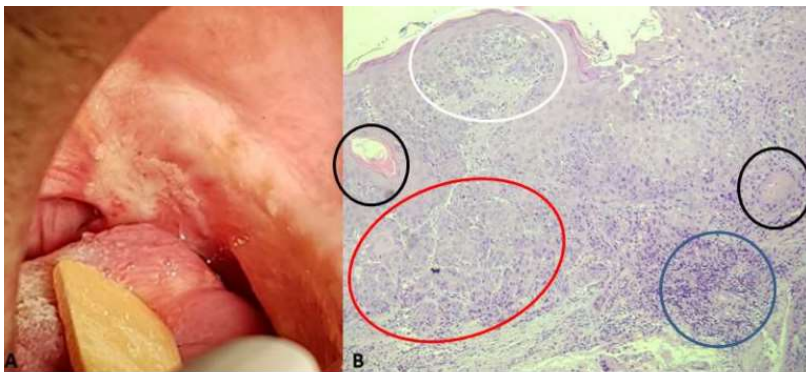


Figura 7: A - Lesão leucoeritoplásica em região de orofaringe do lado esquerdo. B - Ilhas epiteliais neoplásicas (círculo vermelho), pérolas de ceratina (círculos pretos), intenso infiltrado inflamatório (círculo azul), epitélio displásico (círculo branco). HE, 10X (SANTOS, 2018).

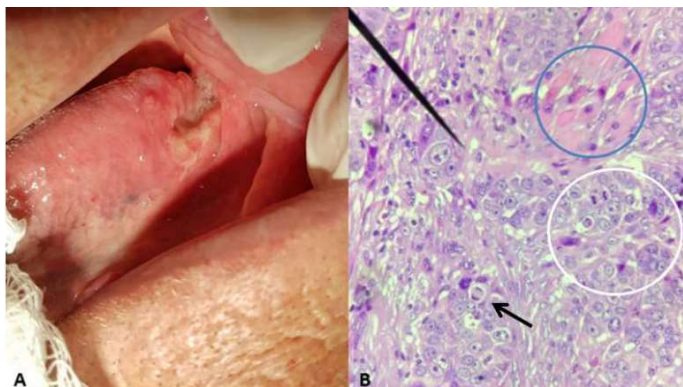


Figura 8: A -Lesão ulcerada, com áreas adjacentes eritoplásicas, bordas elevadas, consistência firme em borda lateral de língua do lado esquerdo. B - presença de pleomorfismo celular (círculo branco), mitose típica (seta preta) e invasão muscular (círculo azul). HE, 40x (SANTOS, 2018).

Utiliza-se o sistema de estadiamento TNM para descrever o comportamento do tumor, no qual cada letra corresponde a extensão do tumor, acometimento de linfonodos regionais e

presença de metástases a distância, respectivamente. No entanto, esse método de classificação tumoral apresenta falhas para determinar o prognóstico, devendo ser analisado concomitante com as características histológicas. No quadro 1 é possível ver o sistema de estadiamento TNM (LOURENÇO et al, 2007; ALVES et al, 2011).

Quadro 1 – Sistema de estadiamento TNM

SIGLA	DEFINIÇÃO
T	Extensão do tumor
TX	O tumor primário não pode ser avaliado.
T0	Sem evidência de tumor primário.
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> .
T1	Tumor ≤ 2 cm em sua maior dimensão.
T2	Tumor $2 < x \leq 4$ cm em sua maior dimensão.
T3	Tumor > 4 cm em sua maior dimensão.
T4	Tumor > 4 cm e com invasão de tecidos adjacentes.
N	Acometimento de linfonodos regionais
NX	Linfonodos regionais não podem ser avaliados.
N0	Ausência de metástases nos linfonodos regionais.

N1	Metástase em apenas um linfonodo homolateral, com ≤ 3 cm em sua maior dimensão
N2	Metástase somente em um linfonodo homolateral com $3 < x \leq 6$ cm em sua maior dimensão; ou linfonodos homolaterais múltiplos, nenhum acima de 6cm em sua maior dimensão; linfonodos bilaterais ou contralaterais, nenhum acima de 6cm em sua maior dimensão.
N3	Metástase > 6 cm em sua maior extensão no linfonodo.
M	Metástase à distância
MX	A presença de metástase à distância não pode ser avaliada.
M0	Ausência de metástase à distância.
M1	Presença de metástase à distância.

TNM Classificação Clínica (TNM: Classificação de Tumores Malignos, 6ª edição).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda o uso da gradação histopatológica, que utiliza como parâmetros: pouco, moderadamente e bem diferenciados. São considerados bem diferenciados quando a estrutura tecidual da neoplasia é semelhante ao tecido de epitélio escamoso normal. Quando nota-se pleomorfismo nuclear, atividade mitótica e ceratinização em pouca quantidade, considera-se CEC moderadamente diferenciado. Já os pouco diferenciados são caracterizados por mínima ceratinização, grande quantidade de mitoses e predomínio de células imaturas (LOURENÇO et al, 2007; ALVES et al, 2011; SANTOS, 2018).

Mesmo com toda inovação e avanços tecnológicos relacionados à técnicas de tratamento, o câncer de cavidade oral ainda apresenta um prognóstico desfavorável e com elevadas taxas de mortalidade, principalmente devido a sua descoberta tardia em estágios já avançados. O tratamento do CEC é prioritariamente cirúrgico e pode estar associado, a

dependem da extensão da lesão, com a radioterapia e a quimioterapia (VALLE et al, 2016; FEITOSA et al, 2019).

2.2 GENE *P53*

Como os polimorfismos são transmitidos associados a outros genes localizados na região cromossômica próxima a eles (*linkage*), tais polimorfismos comumente atuam como marcadores genéticos. Ou seja, se um gene próximo a um marcador causa uma doença, todos os indivíduos afetados na família recebem tanto o marcador como o gene causador da doença. A alteração nos genes afeta a expressão das proteínas que eles codificam, resultando em falhas na regulação do crescimento, o que favorece o surgimento de neoplasias (ROCHA, 2007; SANTOS et al, 2011; CARVALHO, 2018).

O gene *p53* é um gene supressor de tumor que se localiza no braço curto do cromossomo 17 na posição 17p13.1 compreendendo 11 éxons e 10 íntrons. O gene codifica a proteína também chamada p53 que é constituída por 393 aminoácidos, esta proteína possui a característica de ser expressa quando o DNA sofre algum tipo de dano (LIMA, 2006; ARRUDA, 2008; GONÇALVES, 2015; ROCHA, 2019).

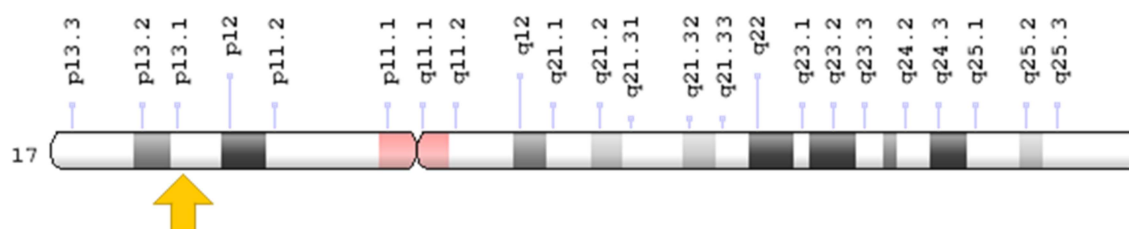


Figura 9: Gene *P53*. FONTE: Genome Decoration Page / NCBI

Para que o gene *p53* induza o câncer ele precisa ter dois alelos alterados; uma cópia do gene se perde decorrente de mutação enquanto a segunda cópia é perdida por deleção do outro alelo o que denomina-se perda da heterozigosidade. Pode-se dizer que quando o *p53* está inalterado é um gene supressor de tumor; mas quando sofre mutações levando à sua perda de função, é um oncogene (FETT-CONTE, 2002; LIMA et al, 2006; ARRUDA et al, 2008).

O gene *p53* é conhecido como “o guardião do genoma” pois seu mecanismo de ação faz com que, diante do dano ao material genético, a p53 ative a produção da proteína p21 que

interage com o receptor de ciclina dependente de quinases 2 (CDK2). Quando a p21 forma complexos com CDK2 a célula é impedida de avançar da fase G1 para a fase S. Ou seja, um dano ao DNA faz com que a proteína p53, por meio de uma cascata de eventos, se ligue ao local danificado do DNA e interrompa as células na fase G do ciclo celular, atuando como um fator de inibição da progressão do ciclo celular promovendo a senescência ou induzindo a morte celular por apoptose. Desta maneira, nas células que apresentam alteração do gene p53 e inativação da proteína p53 não ocorre a ativação e expressão de p21, tornando a divisão celular um processo descontrolado pois não há a parada do ciclo celular e acaba por induzir a formação de tumores (FETT-CONTE, 2002; LIMA et al, 2006; SCHNEIDER, 2007; ARRUDA, 2008; GONÇALVES, 2015; ROCHA, 2019).

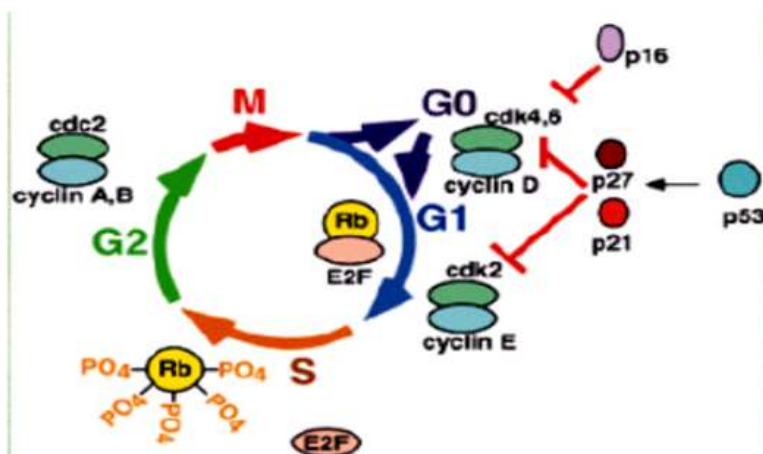


Figura 10: Ciclo da divisão celular representando a ação de p53 sobre a transativação de p21 e este agindo sobre as CDKs, interrompendo o ciclo na fase G1. Fonte: SCHNEIDER, 2007.

Uma importante doença causada devido a falhas na p53 é a síndrome de Li-Fraumeni que é uma síndrome rara, autossômica dominante de caráter hereditário. Os polimorfismos e mutações no *p53* aumentam a predisposição ao câncer e os portadores da síndrome possuem uma probabilidade vinte e cinco vezes maior de desenvolver vários tipos de tumores malignos em diferentes tecidos do corpo do que uma pessoa sem a síndrome (LIMA et al, 2006; SCHNEIDER, 2007; ARRUDA et al, 2008).

Além da mutação, o polimorfismo mais extensivamente estudado no gene supressor de tumor *p53* localiza-se no éxon 4 códon 72 (rs1042522) e tem sido investigado para associação com vários cânceres. O polimorfismo ocorre pela substituição de uma base única citocina que codifica uma prolina (CCC; Pro72) por uma guanina que codifica uma arginina

(CGC; Arg72) o que resulta em alterações na estrutura da p53. Sabe-se que as variantes polimórficas da p53 possuem diferentes atribuições, o que pode influenciar no desenvolvimento de doenças auto-imunes e câncer (LEE, 2005; LIMA et al, 2006; ARRUDA et al, 2008; JÚNIOR et al, 2009).

Alguns estudos associaram a presença de Arg/Arg com maior risco de desenvolvimento de tumores, como em cânceres de bexiga, cérvix uterino, mama, pulmão, etc. *Arruda et al (2008)* também afirmaram que o genótipo Arg/Arg em comparação aos outros dois genótipos para o códon 72 do gene *p53* tem sido considerado um importante fator de risco para as neoplasias cervicais. No entanto, perceberam controvérsias quanto aos resultados de outros autores. Lee (2005) relatou que o genótipo Arg é mais eficiente na indução da apoptose do que o Pro (LEE, 2005; LIMA et al, 2006; ARRUDA et al, 2008).

Estudos indicaram que o genótipo homozigoto *p53*Arg/Arg pode ser até sete vezes mais propício ao desenvolvimento de câncer, do que o genótipo heterozigoto *p53*Arg/Pro em pacientes com tumores cervicais associados ao HPV, sendo que o genótipo homozigoto *p53*Pro/Pro teria uma menor predominância neste tipo de câncer (ARRUDA et al, 2008).

3. JUSTIFICATIVA

Devido a possível e desejável detecção precoce do câncer de boca na rede básica de atendimento odontológico, associada à sua elevada letalidade, pacientes apresentando esse tipo de neoplasia maligna, representam um sério problema de saúde pública. Percebe-se como um resultado esperado do presente estudo o delineamento de um perfil genético dos portadores de CEC de boca participantes do grupo caso e os participantes controle, para o gene *p53*, relacionado ao controle do ciclo celular. Dessa forma, buscar-se-á contribuir para a discussão sobre a tumorigênese do CEC de boca através do perfil molecular do polimorfismo genético do gene *p53* e suas possíveis associações com parâmetros clínicos-patológicos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Analisar o polimorfismo no gene *p53* códon 72 éxon 4 rs1042522, em participantes portadores do Carcinoma Espinocelular de boca (CEC) atendidos pelo ambulatório de

Estomatologia do Hospital Regional da Asa Norte (HRAN) que apresentavam lesão bucal compatível com hipótese de diagnóstico de CEC e que foram confirmados posteriormente.

4.2 Objetivos específicos

- a) Realizar levantamento bibliográfico sobre o polimorfismo do gene *p53* e possíveis relações com o CEC de boca;
- b) Executar as estratégias de biologia molecular (PCR e digestão enzimática) para estudo do polimorfismo no gene *p53* e investigar possíveis associações clínicas;
- c) Associar o polimorfismo com o risco de desenvolvimento de CEC de boca.

5. MÉTODO

Estudo observacional caso-controle prospectivo, realizado no Hospital Regional da Asa Norte (HRAN), que atende como centro de referência para casos de lesões bucais na rede pública do DF, no período de 2018-2019.

5.1 Revisão da Literatura

Os bancos de dados utilizados foram: Scielo, Lilacs, Biblioteca Virtual em Saúde e PubMed. O período de acesso foi de agosto de 2018 a abril de 2022.

5.2 Termo de consentimento

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi obtido de todos os participantes do presente estudo, caso possuíssem condições de compreender e assinar o TCLE. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética (CAAE: 58398716.1.0000.0030) e contou com fomento pela FAPDF (edital 04/2017 – demanda espontânea).

5.3 Critérios de inclusão dos pacientes

Grupo Caso: Foram analisados oito pacientes ambulatoriais do setor de Estomatologia do Hospital Regional da Asa Norte (HRAN) que apresentaram lesões bucais compatíveis com a hipótese de diagnóstico de CEC, confirmadas posteriormente, maiores de 18 anos e que

aceitaram participar da pesquisa. Foram preenchidas fichas clínicas com dados demográficos dos participantes.

Grupo Controle: Foram analisados 280 pacientes saudáveis, maiores de 18 anos.

5.4 Critérios de Exclusão

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

5.5 Amostra e estratégias de Biologia Molecular

As amostras de sangue venoso sofreram extração do material genético que, em seguida, foram submetidas à estratégia PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism Polymerase Chain Reaction*) para estudo da distribuição dos SNPs. Os produtos formados sofreram ação da enzima de restrição *p53*. Com os novos produtos, foi realizada uma eletroforese em gel de agarose. Posteriormente os dados encontrados foram analisados em um programa estatístico, o SPSS (versão 20.0, SPSS Inc. Chicago, IL, USA).

5.6 Cálculo Amostral

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

5.7 Procedimentos Técnicos Laboratoriais

Todas as amostras foram coletadas por punção venosa para isolamento do DNA. O DNA foi extraído de sangue periférico com uso do kit *Invisorb Spin Blood – Mini Kit* (250) da empresa Invitex (catálogo #CA10-0005, lote #1031100300). A concentração de DNA foi determinada através da corrida eletroforética em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio. O rendimento médio alcançado foi de 20 ng/μL. Em seguida, o DNA diluído foi submetido à estratégia PCR (*Polymerase Chain Reaction*) para estudo da distribuição dos SNPs.

A técnica da PCR permite que a região selecionada do genoma para o gene *p53* (códon 72, éxon 4 do gene, rs1042522) seja amplificada milhões de vezes. As sequências de oligonucleotídeos utilizadas para avaliar o polimorfismo foi, respectivamente:

Senso 5`-TCCCCCTTGCCGTCCCAA-3`

Antisenso 5`-CGTGCAAGTCACAGACTT-3`

As condições de termociclagem foram 94°C por 2 minutos (desnaturação inicial), seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, acompanhada 30 de 60°C por 45 segundos, para o anelamento dos oligonucleotídeos e 72°C por 30 segundos para a extensão dos fragmentos. A extensão final foi realizada a 72°C por 10 minutos. O equipamento utilizado foi o termociclador *Teche* modelo TC-512.

Em cada reação, foram utilizados 4,0 µL de DNA genômico na concentração de 2,5 ng/µL; 2,5 µL de tampão 10x (10 mM de Tris e 50 mM de KCl); 0,5 µL de MgCl₂ (Fermentas), 0,5 µL de dNTPs (2,5mM; LGC); 0,5 µL de Taq-Polimerase (Fermentas, 5U/µL); 1,5µL de cada oligonucleotídeo forward e reverse (10 µM); completando com água Milli-Q para um volume final de 25 µL por reação.

A digestão enzimática foi realizada com uso de enzimas de restrição (endonucleases de restrição). O produto da PCR foi digerido com a enzima *BstUI* (New England Biolabs, Inc. Beverly, MA, USA). Para montagem do sistema de digestão foram utilizados: 10,0 µL da PCR; 2,0µL de tampão 10x NEB4 (Biolabs); 1 µL de enzima BstUI (10U/µL), completando com água Milli-Q para um volume final de 20 µL por reação. O sistema foi mantido a 60°C por 2 horas. Os produtos da digestão foram submetidos a uma corrida eletroforética em um gel de agarose a 3%, com brometo de etídio em uma potência de 100W por 30 minutos.

O produto da PCR é um fragmento de 279 pb que amplifica as regiões contendo C ou G. O alelo G que codifica Arginina (CGC) cria um novo sítio de restrição, e o fragmento de 279 pb é clivado em dois de 160 pb e 119 pb; e o alelo C que codifica Prolina (CCC) não é clivado pela enzima.

5.8 Análise estatística

A aderência ao equilíbrio Hardy-Weinberg para a frequência genotípica em controles foi analisada pelo teste qui-quadrado com um grau de liberdade. As frequências genotípicas e alélicas nos pacientes com CEC foram comparadas ao grupo controle por meio do teste qui-quadrado em modelos recessivos e dominantes. A associação de características clínicas

para cada genótipo foi analisada com o teste qui-quadrado e foi adotado o nível de significância de 5%. O programa estatístico utilizado foi o SPSS (versão 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

6. RESULTADOS

A Tabela 1 traz as informações sobre a genotipagem e o risco de desenvolvimento de CEC. Dos oito pacientes analisados, o genótipo homozigótico Arg/Arg foi o mais encontrado, presente em 75% da amostra; enquanto que os genótipos Arg/Pro e Pro/Pro obtiveram a mesma frequência, 12,5% cada. Dentre o grupo controle (280 indivíduos saudáveis), prevaleceu o genótipo heterozigótico Arg/Pro com 51,8%, seguido dos genótipos homozigóticos Arg/Arg e Pro/Pro com 23,9% e 24,3%, respectivamente. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos com um $p < 0,05$ ($p = 0,004$).

Tabela 1 -Frequência dos genótipos *p53* Arg72Pro no carcinoma espinocelular de boca.

		Grupo				P
		Câncer de boca		Controle		
		N	%	N	%	
<i>p53</i> Arg72Pro	Arg/Arg	6	75,0%	67	23,9%	0,004*
	Arg/Pro	1	12,5%	145	51,8%	
	Pro/Pro	1	12,5%	68	24,3%	

* $P < 0,05$; Teste do qui-quadrado

Fonte: Dados do autor

Os dados demográficos e clínicos estão presentes na Tabela 2. Os oito indivíduos do grupo caso eram do sexo masculino, sendo que a maioria se autodeclarou pardo. Todos os indivíduos com CEC eram tabagistas e 80% afirmaram fazer uso de bebidas alcoólicas. Quanto à localização, a maioria dos casos de CEC foram diagnosticados na língua. Em relação ao sistema de estadiamento TNM, a maioria dos tumores foram classificados como T2, N1 e M0. Histopatologicamente, as neoplasias foram classificadas em CEC invasivo bem diferenciado e moderadamente diferenciado.

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

CEC		<i>p53 Arg72Pro</i>						
		Arg/Arg		Arg/Pro		Pro/Pro		P *
		N	%	N	%	N	%	
Sexo	M	6	75%	1	12,5%	1	12,5%	NA
Cor/ Raça	Pardo	3	60%	1	20%	1	20%	0,741
	Branco	1	100%	0	0%	0	0%	
Tabaco	Sim	6	75%	1	12,5%	1	12,5%	NA
	Não	0	0%	0	0%	0	0%	
Álcool	Sim	4	66,7%	1	16,7%	1	16,7%	0,641
	Não	2	100%	0	0%	0	0%	
Localização	Língua (Superfície ventral inferior)	2	50%	1	25%	1	25%	0,954
	Gengiva, alvéolos superiores	1	100%	0	0%	0	0%	
	Lábio inferior (comissura até o 1/3 médio contralateral)	1	100%	0	0%	0	0%	
	Língua (assoalho)	1	100%	0	0%	0	0%	
	Língua (bordo posterior)	1	100%	0	0%	0	0%	
Status T	2	2	100%	0	0%	0	0%	0,392
	3	1	100%	0	0%	0	0%	
	4	1	50%	1	50%	0	0%	
Status N	0	2	100%	0	0%	0	0%	0,361
	1	2	66,7%	1	33,3%	0	0%	
Status M	0	1	50%	1	50%	0	0%	0,386
	X	1	100%	0	0%	0	0%	
Histopatologia	CEC invasivo bem diferenciado	1	100%	0	0%	0	0%	NA
	CEC moderadamente diferenciado	1	100%	0	0%	0	0%	
Estádio	2	1	100%	0	0%	0	0%	0,223

	3	1	100%	0	0%	0	0%
	4	0	0%	1	100%	0	0%

CEC= Câncer de boca, NA = Não se Aplica; P= (teste qui-quadrado)

Fonte: Dados do autor

No Gráfico 1 observa-se a distribuição genotípica do polimorfismo *p53* Arg72Pro entre os pacientes com carcinoma espinocelular de boca e do grupo controle.

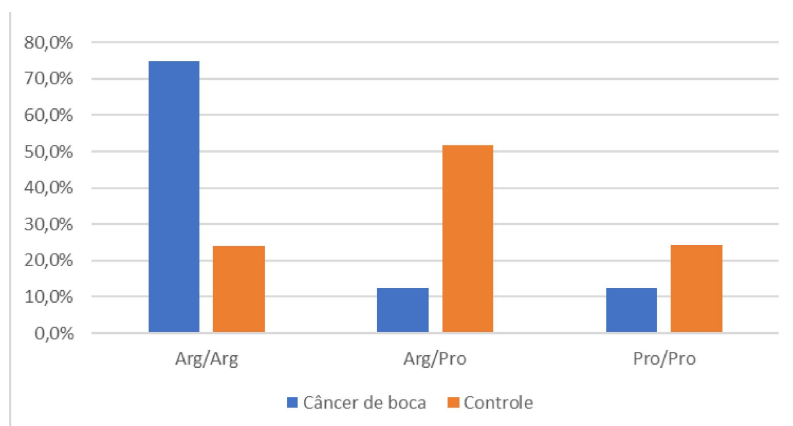


Gráfico 1: Distribuição genotípica dos pacientes com CEC e grupo controle.

Fonte: Dados do autor

7. DISCUSSÃO

O gene *p53* foi selecionado para identificar sua possível associação com o desenvolvimento de carcinoma espinocelular de boca. Sabe-se que as interações entre um tumor e o ambiente através do sistema imunológico são críticas para o desenvolvimento e progressão tumoral. Sendo assim, alterações no gene *p53*, considerado o guardião do ciclo celular, refletem diretamente no desenvolvimento tumoral e na progressão da doença (HIRANO, 2021).

O polimorfismo no gene *p53* códon 72 codifica uma arginina (Arg: CGC) ou prolina (Pro: CCC) e tem sido estudado por diversos pesquisadores nos últimos anos. O gene supressor tumoral participa de etapas de reparação do DNA e de apoptose; por isso, alterações na codificação da proteína *p53* alteram sua estrutura e conseqüentemente sua função. Alterações moleculares no gene *p53* são comuns em diversas doenças, incluindo o CEC. Estudos têm evidenciado que pode haver um padrão de mutação distinto associado a fatores etiológicos específicos. Ou seja, a localização exata do câncer de boca determina diferentes padrões moleculares (LEE, 2005; LIMA et al, 2006; ARRUDA et al, 2008; JÚNIOR et al, 2009; MOJTAHED et al, 2010; JÚNIOR, 2012).

Acredita-se que o alelo Pro possui uma capacidade maior de parar o ciclo celular e induzir o reparo do DNA, e é menos eficiente na indução apoptótica quando comparado com o alelo Arg. Em contrapartida, o alelo Arg é mais eficiente na indução de apoptose, apesar disso, a elevada capacidade apoptótica do alelo Arg não protege em relação ao desenvolvimento de câncer (LEE, 2005; ARRUDA et al, 2008; MOJTAHED et al, 2010; JÚNIOR, 2012).

Pelo contrário, vários estudos têm demonstrado que a presença de Arg/Arg confere maior risco de desenvolvimento de tumores, como em cânceres de bexiga, cérvix uterino, mama, pulmão, etc. Há relatos de que o genótipo homozigoto Arg/Arg confere cerca de sete vezes mais chances de desenvolvimento de câncer cervical (LIMA, et al 2006; ARRUDA, 2008; HALLIKERI et al, 2019).

Hallikeri e colaboradores (2019), estudaram o polimorfismo *p53* códon 72 em pacientes com CEC oral e sua possível associação com HPV. Eles não encontraram associação significativa entre o polimorfismo rs1042522 e o CEC, mas 60% dos pacientes com carcinoma espinocelular apresentavam o genótipo Arg/Arg. Tais resultados são concordantes com os encontrados neste trabalho, uma vez que 75% dos pacientes com CEC apresentaram genótipo homozigótico Arg/Arg.

Já Sun e colaboradores (2018), que também estudaram o polimorfismo *p53*, realizaram uma meta-análise buscando estudar o polimorfismo no *p53* códon 72 e o risco de CEC oral. Obtiveram como resultado que não há nenhuma associação significativa entre os genótipos *p53* e o CEC. Para Chakrobarty e colaboradores (2014), que analisaram hábitos tabagistas, infecção por HPV, polimorfismo *p53* e o risco de CEC oral, encontrou como resultado a prevalência do genótipo Arg/Pro, representando 46% dos pacientes com CEC, todavia seus resultados não foram significativos.

As divergências entre os resultados deste trabalho e dos demais autores citados pode ser justificada devido às diferenças dos grupos étnicos, a região geográfica, o desenho do estudo, interação gene-ambiente entre outros fatores. Tanto Chakrobarty e colaboradores (2014) quanto Hallikeri e colaboradores (2019) desenvolveram seus estudos na região da Índia. Já a população alvo de Sun e colaboradores (2018), em sua metanálise, foram pacientes da Índia, Estados Unidos da América e China.

Neste trabalho, o genótipo Arg/Arg foi associado estatisticamente ao CEC oral ($p=0,04$). Como mostrado no Gráfico 1, 75% dos pacientes com câncer de boca apresentaram o genótipo Arg/Arg. No grupo controle prevaleceu o genótipo heterozigótico Arg/Pro, representando 51,8% dos indivíduos.

Em geral, o CEC de boca é mais comum em indivíduos do sexo masculino, mais velhos (40 a 60 anos), com histórico de tabagismo e etilismo. Estudos indicam que a maioria dos casos de CEC estão associados ao tabagismo, sendo que o hábito de fumar eleva em até seis vezes o risco de desenvolver câncer bucal. Outra constatação feita foi que a combinação entre álcool e tabaco eleva o risco de câncer bucal em quinze vezes (JÚNIOR, 2012, MARKOPOULOS et al, 2012).

Concomitante a isso, para Arruda (2008), a presença do genótipo Arg/Arg aumenta o risco de desenvolver CEC em sete vezes. Nesta pesquisa, 100% dos pacientes com CEC oral eram fumantes e 75% consumiam álcool. Destes, possuíam o genótipo homocigótico Arg/Arg 75% e 66,7% respectivamente. Este dado demonstra uma prevalência do genótipo Arg/Arg entre os pacientes fumantes e etilistas (JÚNIOR, 2012).

O tabagismo, etilismo e infecção por HPV são os principais agentes carcinógenos. Alguns autores estudaram a relação do polimorfismo *p53*, CEC e tabaco/fumo. Tandon e colaboradores (2017) não encontraram associação significativa entre o polimorfismo *p53c72* e o CEC associado ao consumo de tabaco, sendo que a frequência Arg/Arg foi menor no grupo caso em comparação ao controle e que os genótipos Arg/Pro e Pro/Pro foi elevada nos pacientes com CEC em comparação aos controles. Outro estudo que obteve resultados semelhantes foi o de Saleem e colaboradores (2013), no qual encontraram uma diferença clara entre grupos caso e controle, fazendo uma associação estatisticamente significativa entre o alelo Pro e CEC ($p=0,001$), ou seja, o alelo Pro aumenta o risco de desenvolver câncer bucal. Sendo assim, quando associado o polimorfismo do gene *p53* com CEC e uso de tabaco os genótipos Arg/Pro e Pro/Pro tiveram uma aparição maior. Estes resultados são contrários aos encontrados neste trabalho, tendo em vista que prevaleceu o genótipo Arg/Arg no grupo caso, bem como todos pacientes com CEC eram tabagistas (DIAKITE et al, 2020).

Quanto à localização do CEC oral, a região com maior acometimento foi a língua. Coaracy e colaboradores (2008), em seu estudo encontrou a maioria dos casos de CEC localizados na língua, representando 33,66% do total de casos. Perussi (2002), também encontrou o CEC com maior frequência na língua, com 41%. E para Gervásio (2001), 44% dos casos estavam localizados na língua. Recentemente, Santos e colaboradores (2022) também obtiveram como resultado a língua como região de maior acometimento, representando 62,1% dos casos analisados. Sendo assim, nota-se uma concordância entre a literatura e resultados encontrados, tendo em vista que 75% dos pacientes desta pesquisa apresentaram lesão na língua, seja em região da superfície ventral inferior, assoalho ou borda;

confirmando que a língua é o sítio com maior propensão de CEC oral (JÚNIOR, 2012, MARKOPOULOS et al, 2012).

Os estudos do polimorfismo no gene *p53* códon 72 do éxon 4 associado ao CEC oral são limitados, no entanto é extensivamente estudado nos mais diversos tipos de doenças e cânceres. Lima e colaboradores (2006) estudaram o polimorfismo *p53* e sua possível associação com o câncer colorretal. Dos 100 pacientes com câncer que participaram da pesquisa, 56 apresentavam o genótipo homozigótico Arg/Arg. Entretanto, seus resultados não foram considerados estatisticamente significativos, já que no grupo controle também houve prevalência do genótipo Arg/Arg; dos 100 indivíduos do grupo controle, 58 apresentavam o genótipo em questão. Zhang e colaboradores (2018) também estudaram o polimorfismo *p53* Arg72Pro e o risco de câncer colorretal, por meio de uma meta-análise com 13 estudos caso-controle. Não encontraram associação entre o polimorfismo e o câncer colorretal, mas houve uma prevalência do genótipo Pro/Pro nos pacientes com câncer.

Zhou e colaboradores (2012) e Diakite e colaboradores(2020) analisaram o polimorfismo *p53* em pacientes com câncer de colo de útero e câncer de mama, respectivamente, ambos por meio de meta-análise. Zhou e colaboradores (2012) encontraram o genótipo Pro/Pro associado a um risco aumentado de câncer de colo de útero, assim como Diakite e colaboradores (2020) encontraram um risco aumentado para o desenvolvimento de câncer de mama para as portadoras do alelo Pro.

Concomitante a isto, Lee e colaboradores (2005) investigaram a associação deste polimorfismo em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES). Eles encontraram associação significativa entre o polimorfismo e o LES com predomínio do genótipo heterozigótico, sendo que 47% dos pacientes apresentavam o genótipo Arg/Pro. Já Carvalho (2018), em seu estudo acerca deste polimorfismo associado ao risco de acidente vascular encefálico hemorrágico (AVEH) e aneurisma cerebral, encontrou que o alelo Arg funcionaria como um fator protetor. Dos pacientes do grupo caso, 51,9% apresentavam o genótipo heterozigoto Arg/Pro (CHAKROBARTY et al, 2014).

Quanto aos critérios: sistema de estadiamento TNM, histopatologia e o estágio, houve dificuldade no retorno dos pacientes levando ao prejuízo na coleta de dados. Na literatura, o trabalho de Costa e colaboradores (2002) estudaram a correlação entre a classificação TNM, gradação histológica e localização anatômica em CEC oral. Obtiveram como resultado que 36,67% dos casos analisados apresentavam classificação T4 com principal local de acometimento a língua, além disso 62,50% dos casos foram classificados como moderadamente diferenciados. Concomitante a isto, Santos e colaboradores (2022)

encontraram um avanço tumoral em estágio T4 em 62,7% dos casos de CEC oral. Sabe-se que quanto maior o estadiamento pior o prognóstico; ou seja, pacientes classificados com T1 e T2 teriam um prognóstico melhor do que aqueles classificados em T3 e T4. Neste trabalho, a maioria dos participantes apresentaram T2, mas este dado não foi considerado estatisticamente significativo.

8. CONCLUSÃO

O genótipo Arg/Arg do gene *p53* códon 72 está associado ao carcinoma espinocelular de boca em pacientes atendidos pelo laboratório de estomatologia do HRAN, componente do SUS/DF.

9. REFERÊNCIAS

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

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

AMERICAN CANCER SOCIETY (ACS) - **About Oral Cavity and Oropharyngeal Cancer** – cancer.org 1.800.227.2345 ; março/2021.

ARRUDA, JT.; BORDIN, BM; MIRANDA, LCB; MAIA, DLM.; MOURA, KKVO – **Proteína p53 e o câncer: controvérsias e esperança.** Estudos, Goiânia, v. 35, n. 1/2, p. 123-141, jan./fev. 2008.

BAIRELE, MI; LANGBECKER, MM; NETO, LK. – **A desinformação repercute no prognóstico das lesões neoplásicas de boca: relato de experiência associado ao esclarecimento dos fatores de risco para CEC (tumor maligno mais frequente de boca) –** v. 1, n. 1, 2020, Open Journal Systems

BARNABÉ, LEG; BATISTA, AC; MENDONÇA, EF; NONAKA, CFW; ALVES, PM. **Marcadores de ciclo celular e proteínas apoptóticas no carcinoma epidermoide de língua oral em pacientes jovens e idosos.** Braz. res oral. vol.33 São Paulo 2019 Epub 25 nov 2019.

BROWN LM, MORADI T, GRIDLEY G, PLATO N, DOSEMEDI M, FRAUMENI JF Jr. **Exposures in the painting trades and paint manufacturing industry and risk of cancer among men and women in Sweden.** J Occup Environ Med. 2002 Mar;44(3):258-64. doi: 10.1097/00043764-200203000-00013. PMID: 11911027.

CARVALHO, SBR; SILVA, ICR; AQUINO, LD - **Polimorfismo P53 Arg72pro Em Pacientes Diagnosticados Com Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico (Aveh) Ou Aneurisma Intracerebral Em Uma Amostra Do Distrito Federal** – Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia. Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia; Brasília, 2018.

CHAKROBARTY B, ROY JG, MAJUMDAR S, UPPALA D. **Relationship among tobacco habits, human papilloma virus (HPV) infection, p53 polymorphism/mutation and the risk of oral squamous cell carcinoma.** *J Oral Maxillofac Pathol.* 2014;18(2):211-216.

CEITA, J - **Líquen Plano Oral - Lesão Pré-Maligna?** - Universidade Fernando Pessoa. Porto, 2014.

COARACY, AEV et al. **Correlação entre os dados clínicos e histopatológicos dos casos de carcinoma espinocelular oral do Instituto Maranhense de Oncologia Aldenora Bello,** em São Luís, MA. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* [online]. 2008, v. 44, n. 1, pp. 31-35.

COSTA, ALL et al. **Correlação entre a classificação TNM, gradação histológica e localização anatômica em carcinoma epidermóide oral.** *Pesquisa Odontológica Brasileira* [online]. 2002, v. 16, n. 3 [Acessado 10 Abril 2022] , pp. 216-220.

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

DIAKITE B, KASSOGUE Y, DOLO G, et al. **P.Arg72Pro polymorphism of P53 and breast cancer risk: a meta-analysis of case-control studies.** *BMC Med Genet.* 2020;21(1):206.

FEITOSA, TFS; SANTOS, WB; SARMENTO, PBR; GUSMÃO, VCA; PEIXOTO, FB; FERREIRA, SMS. **Carcinoma Espinocelular Localizado Em Palato: Relato De Caso.** *Revista ACBO* 2019; Vol.8, Nº.3, 142-145.

FETT-CONTE, A.; SALLES, ABCF – **A importância do gene p53 na carcinogênese humana.** *Rer. Bras. Hematol. HEmoter.,* 2002, 24(2):85-89.

GERVÁSIO, OLAS et al. **Carcinoma Espinocelular Oral: Estudo Retrospectivo de 740 casos em uma população brasileira.** *Braz Dent J* (2001), 12 (1): 57-61.

GONÇALVES, GO; SILVA, ICR. **Associação entre o polimorfismo do gene p53 o códon 72 e lúpus eritematoso sistêmico em uma amostra brasileira.** Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Curso de Farmácia; Brasília, 2015.

HALLIKERI, K et al. **“p53 polymorphism and association of human papillomavirus in oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma: A case-control study.”** *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP* vol. 23,1 (2019): 97-103. doi:10.4103/jomfp.JOMFP_180_18.

HIRANO T. **IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer.** *Int Immunol.* 2021 Mar 1;33(3):127-148.

HOSNI, ES et al. **Eritroplasia e leucoeritroplasia oral: análise retrospectiva de 13 casos.** *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia* [online]. 2009, v. 75, n. 2 [Acessado 26 Julho 2021] , pp. 295-299.

HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS (HSL). **Carcinoma Espinocelular.** Disponível em: <https://www.hospitalsiriolibanes.org.br/hospital/especialidades/centro-oncologia/carcinoma-e-spinocelular/Paginas/diagnosticos.aspx>

INCA, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2020: Incidência de câncer no Brasil.** Rio de Janeiro: Inca, 2020.

JÚNIOR, JAS. **Análise molecular dos genes TP53 e MDM2 em carcinomas de células escamosas de boca.** Niterói: UFF, Faculdade de Medicina, 2012.

JUNIOR, JAS; BERNARDO, VG; BALASSIANO, KZ; SOARES, FD; FONSECA, EC; SILVA, LE; LOURENÇO, SQC - **Análise comparativa da imunoexpressão da proteína p53 (clones DO-7 e PAb-240) em carcinomas de células escamosas intrabucais e labiais.** *J Bras Patol Med Lab* • v. 45 • n. 4 • p. 335-342 • agosto 2009.

LEE, YH; RHO, YH; CHOI, SJ; JI, JD; SONG, GG. **The functional p53 codon 72 polymorphism is associated with systemic lupus erythematosus.** 2005.

LIMA, JM; SERAFIM, PVP; SILVA, IDCG; FORONES, NM. **Estudo do polimorfismo genético no gene p53 (códon 72) em câncer colorretal.** 2006.

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

MAIA, HCM.; PINTO, NAS.; PEREIRA, JS; MEDEIROS, AMC; SILVEIRA, EJD; MIGUEL, MCC. **Lesões orais potencialmente malignas: correlação clínico-patológicas.** Einstein. 2016;14(1):35-40.

MARCHIONI, DML et al. **Fatores dietéticos e câncer oral: estudo caso-controle na Região Metropolitana de São Paulo, Brasil.** Cadernos de Saúde Pública [online]. 2007, v. 23, n. 3 [Acessado 28 Junho 2021] , pp. 553-564.

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

MOJTAHED Z et al. **P53 codon 72 polymorphism association with head and neck squamouss cell carcinoma.** Braz J Otorhinolaryngol. 2010;76(3):316-20.

NICO MMS, FERNANDES JD, LOURENÇO SV - **Líquen plano oral.** Anais Brasileiros de Dermatologia [online]. 2011, v. 86, n. 4.

NUSSBAUM, Robert L.; MCINNES, Roderick R.; WILLARD, Huntington F. (2008) **Thompson & Thompson – Genética Médica.** Sétima Edição. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, RJ, 525 pp.

OLIVEIRA, RM - **Eritroplasia Oral: Uma revisão de Literatura** - Faculdade de Odontologia, UFMG - Belo Horizonte, 2011.

PERUSSI, M. R. *et al* **Carcinoma epidermóide da boca em idosos de São Paulo.** *Rev Assoc Med Bras*, v. 48, n. 4, p. 341-4, 2002.

RAMOS RT; PAIVA CR; FILGUEIRAS AMO; SILVA-JUNIOR GO; CANTISANO MH; FERREIRA DC; RIBEIRO M – **Oral Leukoplakia: concepts and clinical repercussions –** *Rev Bras Odonto* vol 74 nº 1, Rio de Janeiro, 2017.

ROCHA, AP; MAGALHÃES, PKR; MAIA, AL; MACIEL, LMZ. **Polimorfismos Genéticos: Implicações na Patogênese do Carcinoma Medular de Tireóide.** *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007;51/5.

ROGHA, M; BERJIS, N; LAJEVARDI, SM; ALAMDARAN, M; HASHEMI, SM. **Identificação da mutação R249 no gene P53 no tecido tumoral do câncer de língua.** *Int J Prev Med* 2019; 10:129.

SALEEM S, AZHAR A, HAMEED A, KHAN MA, ABBASI ZA, QURESHI NR, AJMAL M. **P53 (PRO72ARG) polymorphism associated with the risk of oral squamous cell carcinoma in gutka, niswar and manpuri addicted patients of Pakistan.** Oral Oncology 49 (2013) 818-823

SANTOS, A.; THUM, C.; SEPEL, L.M.N.; BAIOTTO, C. R. **Contribuição da genética na formação do profissional de enfermagem.** XXII Seminário Interinstitucional de ensino, pesquisa e extensão – Redes e Territórios; UNICRUZ, 2017.

SANTOS, FD.; MONTOVANI, J.; SOARES, CT.; CARVALHO, LR. **Expressão da p53 no tumor e no epitélio oral em pacientes com câncer de boca e faringe.** Arq Int Otorrinolaringologia vol. 15 n. 1 São Paulo Jan/Mar. 2010.

SANTOS, JCS et al. **Avaliação clínico-epidemiológica de pacientes com carcinoma de células escamosas oral** - Revista Brasileira de Cancerologia, 2022; (68)1:e-141584.

SANTOS, MF.; SANTOS, EMM; NASCIMENTO, LC.; SILVA, GP; FERREIRA, BR; MIRANDA, DO; JÚNIOR, LCL; PINTO, PS. **Atuação do enfermeiro em oncologia na perspectiva da genética e genômica.** Texto Contexto Enferm, Florianópolis, 2013 Abr-Jun; 22(2): 526-33.

SANTOS, RS - **Aspectos clínicos e histopatológicos de carcinomas espinocelulares orais: série de casos** - Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Odontologia. Governador Valadares, 2018.

SCHNEIDER, L.; SILVA, I.S.B. – **Expressão gênica e proteica de p53 e p21 em fibroadenoma e tecido mamário normal adjacente.** Universidade Federal do Rio Grande de Sul, UFRGS; Pós graduação em ciências biológicas. Porto Alegre, 2007.

SILVA LGD, ALVES ML, SEVERO MLB, MEDEIROS WKD, FERREIRA AM, MIGUEL MCC, SILVEIRA EJD – **Lesões orais malignas e potencialmente malignas: percepção de cirurgiões-dentistas e graduandos de odontologia** – Rev Bras de Cancerologia 2018; 64(1): 35-43.

SUN, Z., GAO, W. & CUI, JT. **Efeito do TP53 rs1042522 na suscetibilidade de pacientes ao carcinoma de células escamosas oral e leucoplasia oral: uma meta-análise.** BMC Saúde Bucal 18, 143 (2018).

TANDON N, SRIVASTAVA AN, FATIMA N, RAZA ST, KUMAR V. **p53 Codon 72 Gene Polymorphism Studies and p53 Expression by Immunohistochemistry in Oral Lesions as Risk Factor for Malignancy.** *Int J Appl Basic Med Res.* 2017;7(4):243-246.

TEIXEIRA, AKM; ALMEIDA, MEL; HOLANDA ME; SOUSA, FB; ALMEIDA, PC. **Carcinoma Espinocelular da Cavidade Bucal: um Estudo Epidemiológico na Santa Casa de Misericórdia de Fortaleza.** *Revista Brasileira de Cancerologia* 2009; 55(3): 229-236.

TENÓRIO EP, SANTOS JAP, FERREIRA SMS, PEIXOTO FB, RIBEIRO CMB – **Actinic cheilitis: case report – Relato De caso** – *Revista Médica de Minas Gerais* 2018; 28: e-1970.

TUCCI, R et al - **Evaluation of 14 cases of oral squamous cell carcinoma with delayed diagnosis** - *Rev Sul-Bras Odontol.* 2010 jun; 7(2):231-8.

VALLE, CN; PASSOS, RMM; GONÇALVES, JTCL; GOMES, C; BASTOS, AMTN; GUEDES, VR. **Carcinoma Espinocelular Oral: Um Panorama Atual.** Review Article. *Rev Pat Tocantins* V. 3, n. 04, 2016; Sociedade De Patologia Do Tocantins.

WU B, GUO D, GUO Y. **Association between p53 Arg72Pro polymorphism and thyroid cancer risk: a meta-analysis.** *Tumour Biol.* 2014;35(1):561-565.

ZHANG, Y., ZHANG, D., ZHAO, L., SUN, L., DONG, Q., CHENG, L., & CHENG, R. **Association between p53 Arg72Pro polymorphism and colorectal cancer risk in Asian population: a meta-analysis.** *Current problems in cancer,* 2018; 42(6), 582–592.

ZHOU X, GU Y, ZHANG SL. **Association between p53 codon 72 polymorphism and cervical cancer risk among Asians: a HuGE review and meta-analysis.** *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(10):4909-4914.

11. ANEXO I

Aprovação no comitê de ética

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

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

Pesquisador: Jamila Reis de Oliveira

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 58398716.1.0000.0030

Instituição Proponente: Faculdade de Ceilândia - FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

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

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.544.422

Apresentação do Projeto:

“O câncer é uma doença de grande impacto mundial e está entre as causas de óbito mais frequentes no Brasil. O termo câncer de boca abrange um conjunto de neoplasias que acometem a cavidade bucal em suas mais variadas etiologias e aspectos histopatológicos. O carcinoma espinocelular (CEC) ou epidermoide de boca corresponde entre 90% a 95% dos casos de câncer na boca, ocupando uma posição de destaque por sua prevalência dentre os cânceres de cabeça e pescoço, sobretudo nos homens, e por sua elevada morbimortalidade. Devido a possível e desejável detecção precoce dessa neoplasia na rede básica de atendimento odontológico, associada à sua elevada letalidade, pacientes apresentando esse tipo de neoplasia maligna, representam um sério problema de saúde pública. O CEC é considerado uma doença multifatorial onde exposições múltiplas interagem com o perfil genético individual resultando em modulação do risco. Polimorfismos genéticos têm sido associados ao risco desenvolvimento de neoplasias malignas. Dessa forma, esse estudo pretende avaliar a associação entre o polimorfismo de genes reguladores do ciclo celular (como Bax, Bcl-2 e p53); genes de citocinas 46 imunossupressoras (como IL-10 e TGF-) e

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

Hipótese:

“Com o presente estudo espera-se contribuir para o entendimento da tumorigênese do CEC, através da avaliação de um amplo perfil molecular, em pacientes atendidos em centro de referência da Secretaria de Estado de Saúde do DF, na expectativa da determinação de um ou mais biomarcador tumoral. Além de contribuir para uma caracterização epidemiológica desse tipo de câncer diagnosticado em pacientes usuários do Sistema único de saúde do DF.”

Metodologia:

“Análise Prospectiva: Serão incluídos na pesquisa participantes mediante assinatura do TCLE, caso tenham condições de compreender e assiná-lo. Os que não apresentarem

condições clínicas de compreensão para assinatura, será solicitada assinatura do responsável legal dos mesmos. Serão selecionados 300 pacientes, do ambulatório de Estomatologia do HRAN, que apresentarem lesão bucal compatível com hipótese de diagnóstico de CEC e posteriormente diagnóstico histopatológico confirmado, como grupo caso. Será preenchido uma ficha de identificação e de aspectos clínicos da lesão (baseados no Sistema TNM de estadiamento de tumores) (ANEXO 1). O grupo controle será composto por 300 pacientes saudáveis e que forem ser submetidos a cirurgia para extração de terceiro molar ou biópsia de lesão pigmentada da cavidade bucal. As amostras serão incluídas na pesquisa caso não apresentem nenhuma alteração histopatológica. Coleta das amostras biológicas: O material obtido da lesão durante a biópsia incisional será seccionado, sendo que um fragmento será armazenado em criotubos e imediatamente acondicionados em caixa com gelo e transportados para o Laboratório de Análises Clínicas da Unb/FCE onde será armazenado em freezer a -80°C e outro será fixada em solução de formol a 10% para posterior processamento em parafina. Após diagnóstico confirmado de CEC, os pacientes serão convidados a abster-se de comer, beber, fumar, ou de proceder procedimentos de higiene oral, pelo menos 1 hora antes da coleta de saliva. A amostra de saliva total será coletada por um período de 5 minutos usando um cotonete de algodão inserido na boca. A amostra de saliva será subsequentemente diluída em solução salina tamponada contendo inibidores da protease e 0,05% de Tween- 20 e será armazenada a 20°C até a análise. O sangue venoso, aproximadamente 10 mL com tubo VacuTainer contendo EDTA a 5%, dos participantes será colhido por um membro da equipe do projeto qualificado para tal procedimento. O material será mantido em recipiente contendo gelo, até o transporte para o laboratório, onde ocorrerão os processamentos das amostras. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 48 O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO 2) será obtido de todos os participantes do presente estudo caso tenham condições de compreender e assinar o TCLE. Se os pacientes não apresentaram condições clínicas, será solicitado o TCLE do responsável legal dos pacientes. Antes da coleta do material, serão realizados esclarecimentos sobre o significado e o possível uso dos resultados previstos. Termo de Guarda de Material Biológico O Termo de Guarda de Material Biológico (ANEXO 3) será obtido de todos os participantes do presente estudo. Aos sujeitos da pesquisa será dada a possibilidade de autorizar ou não o armazenamento de dados e materiais biológicos coletados no âmbito da pesquisa. Todo participante terá acesso a seus dados, assim como terá o direito de retirá-los do banco onde estarão armazenados, a qualquer momento. Análises laboratoriais: Os parâmetros imunológicos de concentração plasmática e salivar de citocinas imunossupressoras (como IL-10 e TGF-) serão avaliados pelo método

ELISA. Para determinação do polimorfismo genético, o sangue será submetido à centrifugação, sendo o sobrenadante (plasma) estocado em frascos a -20°C. Os buffy coats (leucócitos já separados por centrifugação) serão congelados a -20°C, para posterior extração de DNA, cuja concentração será determinada por meio da corrida eletroforética em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídeo. O DNA obtido será estocado a -20°C até o momento da análise. Em seguida, a reação em cadeia da polimerase será realizada para os genes alvos. A imunohistoquímica será realizada visando detecção dos anticorpos primários relacionados ao controle do ciclo celular, à resposta inflamatória imunossupressora e à imortalidade celular (tais como: TGF-B1 anti-humano, IL10 anti-humana, p53 anti-humana, anticorpo policlonal anti-hTERT”

Critério de Inclusão:

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

“Grupo Controle: Será composto por 300 pacientes que aceitarem participar da pesquisa; maiores de 18 anos; saudáveis e que forem ser submetidos a cirurgia 49 para extração de terceiro molar ou biópsia de lesão pigmentada da cavidade bucal. As amostras serão incluídas na pesquisa caso não apresentem nenhuma alteração histopatológica (com devida assinatura do TCLE).”

Critério de Exclusão:

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

Objetivo da Pesquisa:

“Objetivo Primário:

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

Objetivo Secundário:

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

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com a pesquisadora: “Riscos: Os riscos físicos e inconvenientes para coleta da amostra da lesão não serão diferentes daqueles previstos durante os procedimentos normais para a obtenção de amostras biológicas necessária para o diagnóstico histopatológico 50 da doença. Os materiais utilizados nessa pesquisa serão aqueles considerados excedentes dos coletados através de uma biópsia incisional para o diagnóstico do CEC ou no caso do grupo controle, excedente de gengiva em casos de extração de terceiro molares ou fracionamento do tecido utilizado para diagnóstico de lesão pigmentada (como tatuagem por amálgama). Os riscos associados aos procedimentos da coleta de sangue podem incluir desmaio, dor e/ou hematoma (mancha roxa na pele). Raramente pode haver um pequeno coágulo sanguíneo ou infecção no local da picada da agulha. Os riscos associados aos procedimentos da coleta de saliva, podem ser representados por um breve incomodo na estimulação salivar, através da manipulação do “swab” na cavidade bucal. Os possíveis riscos e desconfortos descritos anteriormente, serão minimizados por meio de um atendimento humanizado, cujos procedimentos serão realizados por profissionais capacitados, dedicados e responsáveis. Dessa forma buscar-se-á o vínculo profissional propício para a confiança e entendimento dos benefícios da participação na pesquisa. Orientações técnicas adequadas serão fornecidas profilaticamente, específicas para cada procedimento, no intuito de evitar os possíveis riscos. Não haverá risco de perda de confidencialidade, uma vez que as informações coletadas das análises das amostras, bem como, os dados pessoais da ficha clínica serão mantidos de maneira confidencial e sigilosa. Os dados somente serão utilizados depois de anonimizados. Apenas os pesquisadores autorizados terão acesso aos dados pessoais, resultados de exames,

bem como às informações do registro médico dos pacientes. Não haverá quaisquer custos ou despesas (gastos) ao paciente pela sua participação nessa pesquisa

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

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora retirou da metodologia do projeto de pesquisa a análise dos prontuários paciente e dos blocos de parafina para fins assistencial do HRAN. 51 Além disso, comunicou que o lapso temporal de resposta as pendências desse comite ocorreram devido a intenção de concorrer a um edital da FAPDF como órgão de fomento. Os documentos protocolares da Plataforma Brasil foram atualizados. A carta resposta contém os esclarecimentos as solicitações deste CEP para a análise do projeto, conforme elencado no parecer consubstanciado no 1;744;626. postado em 26/09/2016. A carta resposta contém os esclarecimentos às solicitações deste CEP para a análise do projeto, conforme elencado no parecer consubstanciado nº2492274 postado em 08/02/2018 .

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos analisados para emissão do presente parecer:

1. "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_711767.pdf", postado em 23/02/2018;
2. "Carta_resposta_ao_CEP_segunda.pdf", postado em 20/02/2018;
3. "Projeto_Cancer_CEP_corrigido_pendencias_editavel.docx", postado em 23/02/2018;
4. "TCLE_projeto_Cancer_recorrigido.doc", postado em 20/02/2018.

Recomendações: Não se aplicam.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Análise das respostas às pendências emitidas no parecer consubstanciado N° 2492274:

No documento "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_711767.pdf", item "critério de exclusão", página 5 de 8, le-se: “Grupo Caso e Controle: Pacientes que não aceitarem participar da pesquisa; menores de 18 anos e que apresentem sinais de morbidade

significativa ou problemas de saúde como: doenças autoimunes, infecção pelo HIV, disfunção renal, cardiopatias, infecções ativas e hepatite.” Considerando que os critérios de exclusão constituem um subgrupo de indivíduos que apresentam características ou motivos éticos e clínicos que podem interferir na qualidade dos dados, assim como na interpretação dos resultados, a recusa do participante em assinar o TCLE não consiste em critério de exclusão em pesquisa e solicita-se correção deste item no projeto. RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: A solicitação foi atendida e corrigida no 52º texto do projeto na página 16 (anexo projeto), bem como na plataforma. ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: No referido parágrafo, le-se: “Grupo Caso e Controle: Pacientes menores de 18 anos e que apresentem sinais de morbidade significativa ou problemas de saúde como: doenças autoimunes, infecção pelo HIV, disfunção renal, cardiopatias, infecções ativas e hepatite.” PENDÊNCIA ATENDIDA.

1. A fonte de financiamento apresentado no arquivo “Planilha_detalhada.doc” difere do informado no arquivo "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_711767.pdf". Solicita-se uniformizar a informação nos arquivos e esclarecer a fonte financiadora. RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: No momento inicial da avaliação pretendia-se concorrer a um edital da FAPDF como órgão de fomento. No entanto, como não havia aprovação, foi informado como fonte de financiamento, o financiamento próprio. Essa pendência fez com que ocorresse uma estagnação no presente processo, a fim de buscar fonte financiadora para o mesmo. No dia 27/11/2017 a FAPDF me comunicou por e-mail a seguinte informação: a proposta intitulada “Estudo de padrões moleculares do câncer de boca em pacientes atendidos pelo SUS/DF”, protocolo nº 16713.78.31275.26042017, submetida por V.Sa. ao Edital 04/2017 - SELEÇÃO PÚBLICA DE PROPOSTAS DE PESQUISA CIENTÍFICA, TECNOLÓGICA E INOVAÇÃO DEMANDA ESPONTÂNEA FOI CONVOCADA PARA FINANCIAMENTO, considerando a decisão do Conselho Diretor da FAPDF, consignada na Ata 427, baseada na cláusula de Reserva do Edital, autorizando a convocação de novos proponentes, tendo em vista a não contratação de propostas por pendências documentais (documentos serão enviados em anexo como Universidade de Brasília – UnB Faculdade de Ceilândia – FCE comprovação desse fato novo – e-mail convocatório e publicação no Diário Oficial do GDF). Sendo assim, informo nesse item de pendência, que a fonte financiadora foi alterada, inclusive com um novo valor (antes de 60.000,00 – agora 70.000,00) e os documentos reenviados para apreciação desse Comitê. Aproveito para justificar o lapso temporal e, sobretudo, a retomada desse processo. Saliento que foi alterado na plataforma, bem como novo documento de planilha de orçamento foi reenviado.” ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. No arquivo "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_711767.pdf", no 53 item Riscos, pagina 5 de 8, lê-se: "Os riscos associados aos procedimentos da coleta de sangue podem incluir desmaio, dor e/ou hematoma (mancha roxa na pele). Raramente pode haver um pequeno coágulo sanguíneo ou infecção no local da picada da agulha. Não há riscos associados aos procedimentos da coleta de saliva, talvez um breve incômodo na estimulação salivar, através da manipulação do "swab" na cavidade bucal." Conforme item V, Res. CNS 466/2012, risco da pesquisa e a "possibilidade de danos a dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer pesquisa e dela decorrente", ainda sendo necessário estratégias de cuidados para minimizá-los. Solicita-se descrever os meios de minimizar os possíveis riscos e desconfortos que os participantes serão submetidos. RESPOSTA: A solicitação foi atendida na reformulação do texto do item riscos no projeto (páginas 16 e 17). ANÁLISE: No referido parágrafo, lê-se: " Os possíveis riscos e desconfortos descritos anteriormente, serão minimizados por meio de um atendimento humanizado, cujos procedimentos serão realizados por profissionais capacitados, dedicados e responsáveis. Dessa forma buscar-se-á o vínculo profissional propício para a confiança e entendimento dos benefícios da participação na pesquisa. Orientações técnicas adequadas serão fornecidas profilaticamente, específicas para cada procedimento, no intuito de evitar os possíveis riscos." PENDÊNCIA ATENDIDA.

3. Quanto ao documento "TCLE_projeto_Cancer.doc", postado em 04/08/2016" são listadas as seguintes pendências: A escrita do TCLE deve ser clara e adequada, no que se refere a terminologia utilizada, verifica-se termos médicos muito técnico, exemplos: "aspectos moleculares do câncer de boca", "marcador que possa melhorar o diagnóstico" e "fragmento da amostra da lesão", dificultando o entendimento e o consentimento dos participantes da pesquisa. Solicita-se adequar a terminologia para prestar informações com linguagem clara e acessível, utilizando-se termos mais apropriados à cultura, faixa etária, condição socioeconômica dos participantes da pesquisa (Res. CNS 466/2012, item VI.1, subitem.) RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitação atendida através da adequação da terminologia utilizada no TCLE. Novo TCLE foi reenviado, buscando sanar todas as pendências e solicitações desse parecer. Novo TCLE também foi incluído no projeto 54 como anexo 2 (páginas 26 e 27). ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: No primeiro parágrafo do novo TCLE, lê-se: "O (a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto: "Estudo de padrões moleculares do câncer de boca em pacientes atendidos pelo SUS/DF", sob responsabilidade da pesquisadora Profa Jamila Reis de Oliveira. O nosso objetivo é pesquisar sobre o câncer de boca, através de testes feitos em laboratório, tentando encontrar alguma

informacao que possa melhorar o nosso conhecimento no diagnostico e tratamento dessa doenca.” PENDENCIA ATENDIDA.

No terceiro parágrafo, lê-se “A sua participação será através de um fragmento da amostra da lesão (que será retirada em parte para diagnostico da doença) ou de um fragmento de gengiva quando do momento da cirurgia de remoção de terceiro molar ou um fragmento de lesão pigmentada de boca, além de sangue e saliva. Também será preenchida uma ficha clinica. ”

Solicita-se adicionar informações detalhadas, sobre os possíveis riscos (desmaio, hematomas, dor e outros), os meios de minimizá-los e a descrição dos procedimentos invasivos, bem como a duração e local que serão realizados. (Res. CNS 466/12 itens IV.3, subitem c).

RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitacao atendida atraves da insercao, no TCLE, de informacoes mais detalhadas sobre os possíveis riscos e descricao dos procedimentos que serao realizados. ANALISE - parecer Nº 1.744.626: Nos referidos paragrafos, le-se: “A sua participacao e colaboracao com essa pesquisa sera: 1) permitindo que utilizemos uma parte da amostra que precisa ser retirada da lesao (area alterada), para diagnostico da doenca que o(a) Sr(a) esta buscando diagnostico e tratamento nesse hospital ou permitindo que utilizemos parte da gengiva que e removida no momento da cirurgia de retirada de um dente (exemplo o terceiro molar, conhecido como dente do siso); 2) participara atraves da coleta de aproximadamente 10ml de sangue, que sera retirado apenas uma vez, com uso de uma agulha fina descartavel, de um vaso sanguineo periferico (geralmente no antebraço) e armazenado num tubo (como num exame de sangue de rotina); 3) atraves da coleta de saliva (aproximadamente 1ml), atraves do uso de uma especie de cotonete na boca, durante cinco minutos, para estimular a producao da saliva e sua coleta num tubo de vidro; 4) 55 informando questoes referentes a sua saude, com as quais sera preenchido uma ficha clinica. Todos os procedimentos de coletas de amostras ou de informacoes serao realizados num consultorio adequado e reservado, evitando qualquer exposicao e/ou constrangimento.”... e “Os possiveis riscos relacionados aos procedimentos da coleta de sangue podem incluir desmaio, dor e/ou hematoma (mancha roxa na pele). Raramente pode haver um pequeno coagulo sanguineo ou infeccao no local da picada da agulha. Os possiveis riscos associados aos procedimentos da coleta de saliva, podem ser representados por um breve incomodo na estimulacao salivar, atraves da manipulacao do “cotonete” na cavidade bucal. Esses possiveis riscos e/ou desconfortos serao minimizados por meio de um atendimento humanizado, cujos procedimentos serao realizados por profissionais capacitados, dedicados e responsaveis. Serao dadas orientacoes tecnicas adequadas antes, durante e depois dos procedimentos para evitar os possiveis transtornos relatados.” Verifica-se pendencia devido ausencia de

informação se todas os procedimentos serão realizados em uma única data e especificar o local das intervenções. Solicita-se descrever no TCLE o tempo total das intervenções e o local que serão realizados. NOVA RESPOSTA/ANÁLISE - parecer Nº 2.492.274: A solicitação foi atendida e corrigida TCLE, incluindo em seu quarto parágrafo, página 1, o seguinte texto: “Todos os procedimentos de coletas de amostras (sangue e saliva) ou de informações serão realizados num consultório adequado e reservado, no HRAN, evitando qualquer exposição e/ou constrangimento, em um único momento, com uma duração aproximada de 30 minutos. A amostra de tecido bucal será obtida após a cirurgia para diagnóstico (biópsia) ou da gengiva para remoção do siso, motivo pelo qual levou o (a) senhor (a) a procurar atendimento. Os procedimentos poderão ser realizados no mesmo dia, no entanto, a necessidade de retorno ficará a critério do Cirurgião-dentista responsável pelo procedimento cirúrgico (não tendo nenhuma relação com essa pesquisa).” O TCLE foi corrigido também no arquivo: Projeto_corrigido_pedencias_19_02_18. pdf, no anexo 2. PENDÊNCIA ATENDIDA.

O TCLE não traz informações adequadas sobre a quantidade a ser coletada do material biológico, o propósito da coleta, local e o tempo de armazenamento. 56 Solicita-se incluir as informações, relacionadas ao armazenamento, a utilização e ao destino final do material biológico (Port. No 2.201/2011, Art.4) RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitação atendida através da inserção, no TCLE, de informações mais detalhadas sobre quantidade de material biológico a ser coletado, armazenamento e destino do material biológico. Percebeu-se a necessidade de solicitação do termo de guarda de material biológico, o qual foi acrescentado ao projeto, com a devida justificativa. Termo de Guarda de Material Biológico foi anexado na plataforma, bem como no projeto (páginas 14 e 15 e como anexo 3 pg 28) . ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: . Conforme a Res. CNS no 441/2011 e Portaria MS No 2.201/2011, as informações sobre coleta, armazenamento, processamento e descarte do material biológico devem constar no TCLE. Diante disso, solicita-se: (a) Não utilizar o Termo de Guarda de Material Biológico; (b) Descrever de forma clara, concisa e completa, as informações relacionadas a coleta, armazenamento, utilização e destino final do material biológico. A saber, a natureza do material do material biológico que será coletado (exemplo: sangue, urina, etc.), a quantidade, o propósito da coleta (análises que serão realizadas), o destino do material biológico após o seu processamento (descarte ou armazenamento), o local e tempo de armazenamento. (c) Informar a possibilidade de utilização futura do material biológico e a necessidade de nova submissão de projeto de pesquisa ao CEP e a obtenção de novo consentimento do participante de pesquisa; (d) Informar que o consentimento para a

guarda e utilizacao do material biologico pode ser retirado a qualquer momento pelo participante de pesquisa. NOVA RESPOSTA/ANALISE - parecer N° 2.492.274: A solicitação foi atendida eliminando o Termo de Guarda de material biológico e incluindo seu conteúdo no TCLE (abrangendo as solicitações dos itens de “b” a “d”), com a inserção do parágrafo 6, página 2, com o seguinte texto: “Todas as amostras coletadas para esse projeto serão encaminhadas para armazenamento e análise no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, onde ficará guardado sob a responsabilidade da Profa. Jamila Reis de Oliveira, por um período de 20 anos, após esse período todo material será incinerado. Todo o material armazenado será utilizado somente para verificar as análises moleculares referentes ao presente estudo, mediante a sua autorização. As amostras serão identificadas com um número e não com 57 seu nome. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número, mantendo-se assim o sigilo e respeito à confidencialidade dos seus dados. Os trabalhos resultantes destas pesquisas mostrarão apenas os resultados e nunca seu nome ou qualquer outra informação que ponha em risco sua privacidade. Todas as informações, bem como resultados dos seus exames estarão sempre à sua disposição, bastando para isso entrar em contato com a pesquisadora responsável. Também terá o direito de retirar seu material biológico a qualquer momento se for da sua vontade. Toda nova pesquisa a ser feita com o material guardado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa e novamente seu consentimento será necessário.” O TCLE foi corrigido também no arquivo: Projeto_corrigido_pedencias_19_02_18. pdf, no anexo 2, bem como o Termo de Guarda de Material Biológico, anexo 3, foi suprimido. Foi realizada a mesma correção na plataforma. PENDÊNCIA ATENDIDA.

De acordo com Res.466/2012 itens II.21, ressarcimento e a “compensacao material, exclusivamente de despesas do participante e seus acompanhantes, quando necessario, tais como transporte e alimentacao”. Alem disso, o item IV.3.g informa que o TCLE deve conter obrigatoriamente a “explicitacao da garantia de ressarcimento e como serao cobertas as despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes”. Solicita-se descrever no TCLE a garantia de ressarcimento e a cobertura de todas as despesas tidas pelos participantes e seus os acompanhantes (quando necessario) decorrentes da pesquisa. Os custos com os ressarcimentos devem compor a planilha orcamentaria. RESPOSTA - parecer N° 1.744.626: Solicitacao atendida atraves da adequacao do TCLE as exigencias quanto ao ressarcimento, bem como inclusao de previsao na planilha orcamentaria. ANALISE - parecer N° 1.744.626: No paragrafo: “Todas as despesas que o(a) sr.(a) (e seu acompanhante, quando necessario)

tiver (relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentacao no local da pesquisa ou exames para realizacao da pesquisa) serao cobertas pelo pesquisador responsavel.” PENDENCIA ATENDIDA.

4.5 Solicita-se retirar a restricao de horario e acrescentar a possibilidade de ligacao a cobrar. RESPOSTA - parecer N° 1.744.626: Solicitacao atendida atraves da adequacao do TCLE as exigencias dessa pendencia. ANÁLISE: A pesquisadora respondeu: “Solicitacao atendida atraves da adequacao do TCLE as exigencias dessa pendencia”. ANÁLISE - parecer N° 1.744.626: Lê-se paragrafo: “Se o Senhor(a) tiver qualquer duvida em relacao a pesquisa, por favor telefone para: Dra Jamila Reis de Oliveira, na Faculdade de Ceilandia da Universidade de Brasilia, pelos telefones: (61) 3377-0615 ou pelo celular (61) 99801-5110, disponivel inclusive para ligacao a cobrar. O contato tambem podera ser feito atraves do e-mail: jamila@unb.br.” PENDENCIA ATENDIDA.

4. Considerando que segundo o pesquisador, "O sangue e a saliva tem sido alvos de investigações objetivando encontrar possíveis biomarcadores que possa ser relacionados com a evolução clinica, prognostico, diagnostico diferencial, bem como resposta aos tratamentos em diversos tipos de cânceres.", e que a propriedade do material biológico e SEMPRE do participante de pesquisa, esforços para consentir os pacientes cujos blocos de parafina com as amostras serão utilizados para analise devem ser realizados. Diante do exposto: 5. Considerando que segundo o pesquisador, "O sangue e a saliva tem sido alvos de investigações objetivando encontrar possíveis biomarcadores que possa ser relacionados com a evolução clinica, prognostico, diagnostico diferencial, bem como resposta aos tratamentos em diversos tipos de cânceres.", e que a propriedade do material biológico e SEMPRE do participante de pesquisa, esforços para consentir os pacientes cujos blocos de parafina com as amostras serão utilizados para analise devem ser realizados. Diante do exposto: Solicita-se que seja apresentado TCLE para o contato com esses participantes. Contudo, tendo em vista a dificuldade de estabelecer contato com os pacientes, solicita-se a apresentacao de termo de dispensa de TCLE para aqueles participantes que não possam ser localizados e contatados. Solicita-se, ainda, apresentação de protocolo detalhado para estabelecimento 59 de contato com esses participantes de pesquisa e manutenção do sigilo e confidencialidade." Ressalta-se a necessidade de armazenamento das amostras em parafina para re-teste clinico, caso seja necessário. A Sociedade Brasileira de Patologia recomenda que este material seja armazenado pelo menos 20 anos apos a sua coleta no ambito assistencial. Assim, o material não deve ser esgotado em uma pesquisa cientifica. Solicita-se apresentar declaração de compromisso quanto ao nao esgotamento de material do acervo assistencial da instituição.

RESPOSTA/ANALISE - parecer N° 2.492.274: Diante da dificuldade da busca retroativa de pacientes portadores de cancer, da possibilidade de nao mais encontra-los vivos, da delicada situacao em contatar com os familiares, foi ponderado pela equipe executora do projeto e decidido retirar da pesquisa TODA a parte retrospectiva. A parte prospectiva do projeto e a porcao de maior peso para os objetivos desejados. Assim, todas essas pendencias, que compoem o item 5, tornam-se inexistentes. Foram removidas mencoes quanto ao aspecto retrospectivo em varias partes do projeto: resumo (paginas 2 e 3); Objetivos primarios e secundarios (pgs 12 e 13); Metodologia (pg 13). PENDENCIA ATENDIDA.

6. No documento não editável "Folha_de_rosto_atualizada_01_12_2017.pdf" postado em 01/12/2017, os campos a serem preenchidos na folha de rosto não foram datados e assinados. Solicita-se o adequado preenchimento e assinatura com identificação dos signatários. RESPOSTA/ANALISE - parecer N° 2.492.274: A folha de rosto está devidamente preenchida. PENDÊNCIA ATENDIDA.

7. Quanto ao cronograma pesquisa apresentado no Arquivo "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_711767.pdf" postado em 01/12/2017 solicita-se atualizar e acrescentar a informação de que a pesquisa será iniciada apos aprovação dos Comitês de Éticas da FEPECS e FS. RESPOSTA/ANALISE - parecer N° 2.492.274: A solicitação foi atendida e corrigida na plataforma, bem como foi incluído no projeto (arquivo: Projeto_corrigido_pedencias_19_02_18. pdf), o item 15, na página 19. PENDÊNCIA ATENDIDA

Todas as pendências foram sanadas.

Não há óbices éticos para a realização deste projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

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

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

FUNDACAO DE APOIO A PESQUISA DO DISTRITO FEDERAL FAPDF

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.544.422

Apresentação do Projeto:

“O câncer é uma doença de grande impacto mundial e está entre as causas de óbito mais frequentes no Brasil. O termo câncer de boca abrange um conjunto de neoplasias que acometem a cavidade bucal em suas mais variadas etiologias e aspectos histopatológicos. O carcinoma espinocelular (CEC) ou epidermoide de boca corresponde entre 90% a 95% dos casos de câncer na boca, ocupando uma posição de destaque por sua prevalência dentre os cânceres de cabeça e pescoço, sobretudo nos homens, e por sua elevada morbimortalidade. Devido a possível e desejável detecção precoce dessa neoplasia na rede básica de atendimento odontológico, associada à sua elevada letalidade, pacientes apresentando esse tipo de neoplasia maligna, representam um sério problema de saúde pública. O CEC é considerado uma doença multifatorial onde exposições múltiplas interagem com o perfil genético individual resultando em modulação do risco. Polimorfismos genéticos têm sido associados ao risco desenvolvimento de neoplasias malignas. Dessa forma, esse estudo pretende avaliar a associação entre o polimorfismo de genes reguladores do ciclo celular (como Bax, Bcl-2 e p53); genes de citocinas 46 imunossupressoras (como IL-10 e TGF-) e gene regulador da imortalização celular (como hTERT) e o CEC de boca. Adicionalmente, pretende-se analisar a imunexpressão desses genes nas biópsias de lesões de CEC de boca, bem como correlacioná-las com os achados genéticos. O sangue e a saliva têm sido alvos de investigações objetivando encontrar possíveis biomarcadores que possa ser relacionados com a evolução clínica, prognóstico, diagnóstico diferencial, bem como resposta aos tratamentos em diversos tipos de canceres. O presente projeto tratase de um estudo de Caso-Controle prospectivo, através da investigação em pacientes atendidos no Setor de Estomatologia do Hospital Regional da Asa Norte /DF (HRAN), que é considerado centro de referência, para esse tipo de tumor, na rede de saúde pública do DF, bem como análise retrospectiva de amostras de CEC em blocos de parafina e seus respectivos prontuários. O objetivo desse estudo é avaliar parâmetros moleculares associados ao CEC de boca e associá-los à parâmetros clinicopatológicos. Embuídos no propósito de buscar de biomarcadores para prognóstico no CEC de boca, serão avaliadas as concentrações plasmáticas e salivares de citocinas imunossupressoras (como IL-10 e TGF-), as quais serão comparadas com indivíduos saudáveis e correlacionadas com suas expressões nas lesões tumorais. Os parâmetros clínicos-patológicos serão caracterizados com base no preenchimento de uma

ficha de avaliação, contendo dados concernentes ao tumor, segundo o Sistema TNM de classificação dos tumores malignos, para determinação do estadiamento clínico (localização do tumor, tamanho, comprometimento de linfonodos regionais e metástase à distância) e gradações histopatológicas (segundo o grau de diferenciação celular). Dados epidemiológicos básicos do paciente (idade, sexo, raça/cor) e fatores de risco (uso de tabaco e álcool) também serão catalogados. Palavras-chave: Câncer de boca, Carcinoma espinocelular, polimorfismo genético, imunohistoquímica, marcadores tumorais...”

Hipótese:

“Com o presente estudo espera-se contribuir para o entendimento da tumorigênese do CEC, através da avaliação de um amplo perfil molecular, em pacientes atendidos em centro de referência da Secretaria de Estado de Saúde do DF, na expectativa da determinação de um ou mais biomarcador tumoral. Além de contribuir para uma caracterização epidemiológica desse tipo de câncer diagnosticado em pacientes usuários do Sistema único de saúde do DF.”

Metodologia:

“Análise Prospectiva: Serão incluídos na pesquisa participantes mediante assinatura do TCLE, caso tenham condições de compreender e assiná-lo. Os que não apresentarem condições clínicas de compreensão para assinatura, será solicitada assinatura do responsável legal dos mesmos. Serão selecionados 300 pacientes, do ambulatório de Estomatologia do HRAN, que apresentarem lesão bucal compatível com hipótese de diagnóstico de CEC e posteriormente diagnóstico histopatológico confirmado, como grupo caso. Será preenchido uma ficha de identificação e de aspectos clínicos da lesão (baseados no Sistema TNM de estadiamento de tumores) (ANEXO 1). O grupo controle será composto por 300 pacientes saudáveis e que forem ser submetidos a cirurgia para extração de terceiro molar ou biópsia de lesão pigmentada da cavidade bucal. As amostras serão incluídas na pesquisa caso não apresentem nenhuma alteração histopatológica. Coleta das amostras biológicas: O material obtido da lesão durante a biópsia incisional será seccionado, sendo que um fragmento será armazenado em criotubos e imediatamente acondicionados em caixa com gelo e transportados para o Laboratório de Análises Clínicas da Unb/FCE onde será armazenado em freezer a -80°C e outro será fixada em solução de formol a 10% para posterior processamento em parafina. Após diagnóstico confirmado de CEC, os pacientes serão convidados a abster-se de comer, beber, fumar, ou de proceder procedimentos de higiene oral, pelo menos 1 hora antes da coleta de saliva. A amostra de saliva total será coletada por um período de 5 minutos

usando um cotonete de algodão inserido na boca. A amostra de saliva será subsequentemente diluída em solução salina tamponada contendo inibidores da protease e 0,05% de Tween- 20 e será armazenada a 20°C até a análise. O sangue venoso, aproximadamente 10 mL com tubo VacuTainer contendo EDTA a 5%, dos participantes será colhido por um membro da equipe do projeto qualificado para tal procedimento. O material será mantido em recipiente contendo gelo, até o transporte para o laboratório, onde ocorrerão os processamentos das amostras.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 48 O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO 2) será obtido de todos os participantes do presente estudo caso tenham condições de compreender e assinar o TCLE. Se os pacientes não apresentaram condições clínicas, será solicitado o TCLE do responsável legal dos pacientes. Antes da coleta do material, serão realizados esclarecimentos sobre o significado e o possível uso dos resultados previstos. Termo de Guarda de Material Biológico O Termo de Guarda de Material Biológico (ANEXO 3) será obtido de todos os participantes do presente estudo. Aos sujeitos da pesquisa será dada a possibilidade de autorizar ou não o armazenamento de dados e materiais biológicos coletados no âmbito da pesquisa. Todo participante terá acesso a seus dados, assim como terá o direito de retirá-los do banco onde estarão armazenados, a qualquer momento. Análises laboratoriais: Os parâmetros imunológicos de concentração plasmática e salivar de citocinas imunossupressoras (como IL-10 e TGF-) serão avaliados pelo método ELISA. Para determinação do polimorfismo genético, o sangue será submetido à centrifugação, sendo o sobrenadante (plasma) estocado em frascos a -20°C. Os buffy coats (leucócitos já separados por centrifugação) serão congelados a - 20°C, para posterior extração de DNA, cuja concentração será determinada por meio da corrida eletroforética em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídeo. O DNA obtido será estocado a -20°C até o momento da análise. Em seguida, a reação em cadeia da polimerase será realizada para os genes alvos. A imunohistoquímica será realizada visando detecção dos anticorpos primários relacionados ao controle do ciclo celular, à resposta inflamatória imunossupressora e à imortalidade celular (tais como: TGF-B1 anti-humano, IL10 anti-humana, p53 anti-humana, anticorpo policlonal anti-hTERT”

Critério de Inclusão:

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

do TCLE).”

“Grupo Controle: Será composto por 300 pacientes que aceitem participar da pesquisa; maiores de 18 anos; saudáveis e que forem submetidos a cirurgia 49 para extração de terceiro molar ou biópsia de lesão pigmentada da cavidade bucal. As amostras serão incluídas na pesquisa caso não apresentem nenhuma alteração histopatológica (com devida assinatura do TCLE).”

Critério de Exclusão:

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

Objetivo da Pesquisa:

“Objetivo Primário:

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

Objetivo Secundário:

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

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com a pesquisadora: “Riscos: Os riscos físicos e inconvenientes para coleta da amostra da lesão não serão diferentes daqueles previstos durante os procedimentos normais para a obtenção de amostras biológicas necessária para o diagnóstico histopatológico 50 da

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

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

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisadora retirou da metodologia do projeto de pesquisa a análise dos prontuários paciente e dos blocos de parafina para fins assistencial do HRAN. 51 Além disso, comunicou que o lapso temporal de resposta as pendências desse comite ocorreram devido a intenção de concorrer a um edital da FAPDF como órgão de fomento. Os documentos protocolares da Plataforma Brasil foram atualizados. A carta resposta contém os esclarecimentos as solicitações deste CEP para a análise do projeto, conforme elencado no parecer consubstanciado no 1;744;626. postado em 26/09/2016. A carta resposta contém os

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

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos analisados para emissão do presente parecer:

1. "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_711767.pdf", postado em 23/02/2018;
2. "Carta_resposta_ao_CEP_segunda.pdf", postado em 20/02/2018;
3. "Projeto_Cancer_CEP_corrigido_pedencias_editavel.docx", postado em 23/02/2018;
4. "TCLE_projeto_Cancer_recorrigido.doc", postado em 20/02/2018.

Recomendações: Não se aplicam.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

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

No documento "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_711767.pdf", item "critério de exclusão", página 5 de 8, le-se: “Grupo Caso e Controle: Pacientes que não aceitem participar da pesquisa; menores de 18 anos e que apresentem sinais de morbidade significativa ou problemas de saúde como: doenças autoimunes, infecção pelo HIV, disfunção renal, cardiopatias, infecções ativas e hepatite.” Considerando que os critérios de exclusão constituem um subgrupo de indivíduos que apresentam características ou motivos éticos e clínicos que podem interferir na qualidade dos dados, assim como na interpretação dos resultados, a recusa do participante em assinar o TCLE não consiste em critério de exclusão em pesquisa e solicita-se correção deste item no projeto. RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: A solicitação foi atendida e corrigida no 52º texto do projeto na página 16 (anexo projeto), bem como na plataforma. ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: No referido parágrafo, le-se: “Grupo Caso e Controle: Pacientes menores de 18 anos e que apresentem sinais de morbidade significativa ou problemas de saúde como: doenças autoimunes, infecção pelo HIV, disfunção renal, cardiopatias, infecções ativas e hepatite.” PENDÊNCIA ATENDIDA.

1. A fonte de financiamento apresentado no arquivo “Planilha_detalhada.doc” difere do informado no arquivo "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_711767.pdf". Solicita-se uniformizar a informação nos arquivos e esclarecer a fonte financiadora. RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: No momento inicial da avaliação pretendia-se concorrer a um edital da FAPDF como órgão de fomento. No entanto, como não havia aprovação, foi

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

2. No arquivo "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_711767.pdf", no 53 item Riscos, pagina 5 de 8, lê-se: "Os riscos associados aos procedimentos da coleta de sangue podem incluir desmaio, dor e/ou hematoma (mancha roxa na pele). Raramente pode haver um pequeno coagulo sanguíneo ou infecção no local da picada da agulha. Não ha riscos associados aos procedimentos da coleta de saliva, talvez um breve incomodo na estimulação salivar, através da manipulação do "swab" na cavidade bucal." Conforme item V, Res. CNS 466/2012, risco da pesquisa e a "possibilidade de danos a dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual do ser humano, em qualquer pesquisa e dela decorrente", ainda sendo necessário estratégias de cuidados para minimizá-los. Solicita-se descrever os meios de minimizar os possíveis riscos e desconfortos que os participantes serão submetidos. RESPOSTA: A solicitacao foi atendida na reformulacao do texto do item riscos no projeto (paginas 16 e 17). ANALISE: No referido paragrafo, le-se: “ Os possiveis riscos e desconfortos descritos anteriormente, serao minimizados por meio de um atendimento humanizado, cujos procedimentos serao realizados por profissionais capacitados, dedicados e responsaveis. Dessa forma buscarse-a o vinculo profissional propicio para a confianca e entendimento dos beneficios da participacao na pesquisa. Orientacoes tecnicas adequadas

serão fornecidas profilaticamente, específicas para cada procedimento, no intuito de evitar os possíveis riscos.” PENDENCIA ATENDIDA.

3. Quanto ao documento “TCLE_projeto_Cancer.doc”, postado em 04/08/2016” são listadas as seguintes pendências: A escrita do TCLE deve ser clara e adequada, no que se refere a terminologia utilizada, verifica-se termos médicos muito técnico, exemplos: “aspectos moleculares do câncer de boca”, “marcador que possa melhorar o diagnóstico” e “fragmento da amostra da lesão”, dificultando o entendimento e o consentimento dos participantes da pesquisa. Solicita-se adequar a terminologia para prestar informações com linguagem clara e acessível, utilizando-se termos mais apropriados a cultura, faixa etária, condição socioeconômica dos participantes da pesquisa (Res. CNS 466/2012, item VI.1, subitem.)

RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitação atendida através da adequação da terminologia utilizada no TCLE. Novo TCLE foi reenviado, buscando sanar todas as pendências e solicitações desse parecer. Novo TCLE também foi incluído no projeto 54 como anexo 2 (páginas 26 e 27). ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: No primeiro parágrafo do novo TCLE, lê-se: “O (a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto: “Estudo de padrões moleculares do câncer de boca em pacientes atendidos pelo SUS/DF”, sob responsabilidade da pesquisadora Profa Jamila Reis de Oliveira. O nosso objetivo é pesquisar sobre o câncer de boca, através de testes feitos em laboratório, tentando encontrar alguma informação que possa melhorar o nosso conhecimento no diagnóstico e tratamento dessa doença.” PENDENCIA ATENDIDA.

No terceiro parágrafo, lê-se “A sua participação será através de um fragmento da amostra da lesão (que será retirada em parte para diagnóstico da doença) ou de um fragmento de gengiva quando do momento da cirurgia de remoção de terceiro molar ou um fragmento de lesão pigmentada de boca, além de sangue e saliva. Também será preenchida uma ficha clínica. ”

Solicita-se adicionar informações detalhadas, sobre os possíveis riscos (desmaio, hematomas, dor e outros), os meios de minimizá-los e a descrição dos procedimentos invasivos, bem como a duração e local que serão realizados. (Res. CNS 466/12 itens IV.3, subitem c).

RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitação atendida através da inserção, no TCLE, de informações mais detalhadas sobre os possíveis riscos e descrição dos procedimentos que serão realizados. ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: Nos referidos parágrafos, lê-se: “A sua participação e colaboração com essa pesquisa será: 1) permitindo que utilizemos uma parte da amostra que precisa ser retirada da lesão (área alterada), para diagnóstico da doença que o(a) Sr(a) está buscando diagnóstico e tratamento nesse hospital ou permitindo que utilizemos parte da gengiva que é removida no momento da cirurgia de retirada de um dente (exemplo o

terceiro molar, conhecido como dente do siso); 2) participara através da coleta de aproximadamente 10ml de sangue, que sera retirado apenas uma vez, com uso de uma agulha fina descartavel, de um vaso sanguineo periferico (geralmente no antebraço) e armazenado num tubo (como num exame de sangue de rotina); 3) através da coleta de saliva (aproximadamente 1ml), através do uso de uma especie de cotonete na boca, durante cinco minutos, para estimular a producao da saliva e sua coleta num tubo de vidro; 4) 55 informando questoes referentes a sua saude, com as quais sera preenchido uma ficha clinica. Todos os procedimentos de coletas de amostras ou de informacoes serao realizados num consultorio adequado e reservado, evitando qualquer exposicao e/ou constrangimento.”... e “Os possiveis riscos relacionados aos procedimentos da coleta de sangue podem incluir desmaio, dor e/ou hematoma (mancha roxa na pele). Raramente pode haver um pequeno coagulo sanguineo ou infeccao no local da picada da agulha. Os possiveis riscos associados aos procedimentos da coleta de saliva, podem ser representados por um breve incomodo na estimulacao salivar, através da manipulacao do “cotonete” na cavidade bucal. Esses possiveis riscos e/ou desconfortos serao minimizados por meio de um atendimento humanizado, cujos procedimentos serao realizados por profissionais capacitados, dedicados e responsaveis. Serao dadas orientacoes tecnicas adequadas antes, durante e depois dos procedimentos para evitar os possiveis transtornos relatados.” Verifica-se pendencia devido ausencia de informacao se todas os procedimentos serao realizados em uma unica data e especificar o local das intervenções. Solicita-se descrever no TCLE o tempo total das intervencoes e o local que serao realizados. NOVA RESPOSTA/ANALISE - parecer N° 2.492.274: A solicitação foi atendida e corrigida TCLE, incluindo em seu quarto parágrafo, página 1, o seguinte texto: “Todos os procedimentos de coletas de amostras (sangue e saliva) ou de informações serão realizados num consultório adequado e reservado, no HRAN, evitando qualquer exposição e/ou constrangimento, em um único momento, com uma duração aproximada de 30 minutos. A amostra de tecido bucal será obtida após a cirurgia para diagnóstico (biópsia) ou da gengiva para remoção do siso, motivo pelo qual levou o (a) senhor (a) a procurar atendimento. Os procedimentos poderão ser realizados no mesmo dia, no entanto, a necessidade de retorno ficará a critério do Cirurgião-dentista responsável pelo procedimento cirúrgico (não tendo nenhuma relação com essa pesquisa).” O TCLE foi corrigido também no arquivo: Projeto_corrigido_pedencias_19_02_18. pdf, no anexo 2. PENDÊNCIA ATENDIDA.

O TCLE não traz informações adequadas sobre a quantidade a ser coletada do material biológico, o propósito da coleta, local e o tempo de armazenamento. 56 Solicita-se incluir as

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

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

NOVA RESPOSTA/ANALISE - parecer N° 2.492.274: A solicitação foi atendida eliminando o Termo de Guarda de material biológico e incluindo seu conteúdo no TCLE (abrangendo as solicitações dos itens de “b” a “d”), com a inserção do parágrafo 6, página 2, com o seguinte texto: “Todas as amostras coletadas para esse projeto serão encaminhadas para armazenamento e análise no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília, onde ficará guardado sob a responsabilidade da Profa. Jamila Reis de Oliveira, por um período de 20 anos, após esse período todo material será incinerado. Todo o material armazenado será utilizado somente para verificar as análises moleculares referentes ao presente estudo, mediante a sua autorização. As amostras serão identificadas com um número e não com 57 seu nome. Somente os pesquisadores saberão a quem pertence cada número, mantendo-se assim o sigilo e respeito à confidencialidade dos seus dados. Os trabalhos resultantes destas pesquisas mostrarão apenas os resultados e nunca seu nome ou qualquer outra informação que ponha em risco sua privacidade. Todas as informações, bem como resultados dos seus exames estarão sempre à sua disposição, bastando para isso entrar em contato com a pesquisadora

responsável. Também terá o direito de retirar seu material biológico a qualquer momento se for da sua vontade. Toda nova pesquisa a ser feita com o material guardado será submetida para aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e, quando for o caso, da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa e novamente seu consentimento será necessário.” O TCLE foi corrigido também no arquivo: Projeto_corrigeo_pedencias_19_02_18. pdf, no anexo 2, bem como o Termo de Guarda de Material Biológico, anexo 3, foi suprimido. Foi realizada a mesma correção na plataforma. PENDÊNCIA ATENDIDA.

De acordo com Res.466/2012 itens II.21, ressarcimento e a “compensacao material, exclusivamente de despesas do participante e seus acompanhantes, quando necessario, tais como transporte e alimentacao”. Alem disso, o item IV.3.g informa que o TCLE deve conter obrigatoriamente a “explicitacao da garantia de ressarcimento e como serao cobertas as despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes”. Solicita-se descrever no TCLE a garantia de ressarcimento e a cobertura de todas as despesas tidas pelos participantes e seus os acompanhantes (quando necessario) decorrentes da pesquisa. Os custos com os ressarcimentos devem compor a planilha orcamentaria. RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitacao atendida atraves da adequacao do TCLE as exigencias quanto ao ressarcimento, bem como inclusao de previsao na planilha orcamentaria. ANALISE - parecer Nº 1.744.626: No paragrafo: “Todas as despesas que o(a) sr.(a) (e seu acompanhante, quando necessario) tiver (relacionadas diretamente ao projeto de pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentacao no local da pesquisa ou exames para realizacao da pesquisa) serao cobertas pelo pesquisador responsavel.” PENDENCIA ATENDIDA.

4.5 Solicita-se retirar a restricao de horario e acrescentar a possibilidade de ligacao a cobrar. RESPOSTA - parecer Nº 1.744.626: Solicitacao atendida atraves da adequacao do TCLE as exigencias dessa pendencia. ANÁLISE: A pesquisadora respondeu: “Solicitacao atendida atraves da adequacao do TCLE as exigencias dessa pendencia”. ANÁLISE - parecer Nº 1.744.626: Lê-se paragrafo: “Se o Senhor(a) tiver qualquer duvida em relacao a pesquisa, por favor telefone para: Dra Jamila Reis de Oliveira, na Faculdade de Ceilandia da Universidade de Brasilia, pelos telefones: (61) 3377-0615 ou pelo celular (61) 99801-5110, disponivel inclusive para ligacao a cobrar. O contato tambem podera ser feito atraves do e-mail: jamila@unb.br.” PENDENCIA ATENDIDA.

4. Considerando que segundo o pesquisador, "O sangue e a saliva tem sido alvos de investigações objetivando encontrar possíveis biomarcadores que possa ser relacionados com a evolução clinica, prognostico, diagnostico diferencial, bem como resposta aos tratamentos em diversos tipos de cânceres.", e que a propriedade do material biológico e SEMPRE do

participante de pesquisa, esforços para consentir os pacientes cujos blocos de parafina com as amostras serão utilizados para análise devem ser realizados. Diante do exposto: 5. Considerando que segundo o pesquisador, "O sangue e a saliva tem sido alvos de investigações objetivando encontrar possíveis biomarcadores que possa ser relacionados com a evolução clinica, prognostico, diagnostico diferencial, bem como resposta aos tratamentos em diversos tipos de cânceres.", e que a propriedade do material biológico e SEMPRE do participante de pesquisa, esforços para consentir os pacientes cujos blocos de parafina com as amostras serão utilizados para análise devem ser realizados. Diante do exposto: Solicita-se que seja apresentado TCLE para o contato com esses participantes. Contudo, tendo em vista a dificuldade de estabelecer contato com os pacientes, solicita-se a apresentacao de termo de dispensa de TCLE para aqueles participantes que não possam ser localizados e contatados. Solicita-se, ainda, apresentação de protocolo detalhado para estabelecimento 59 de contato com esses participantes de pesquisa e manutenção do sigilo e confidencialidade." Ressalta-se a necessidade de armazenamento das amostras em parafina para re-teste clinico, caso seja necessário. A Sociedade Brasileira de Patologia recomenda que este material seja armazenado pelo menos 20 anos apos a sua coleta no ambito assistencial. Assim, o material não deve ser esgotado em uma pesquisa científica. Solicita-se apresentar declaração de compromisso quanto ao nao esgotamento de material do acervo assistencial da instituição. RESPOSTA/ANALISE - parecer N° 2.492.274: Diante da dificuldade da busca retroativa de pacientes portadores de cancer, da possibilidade de nao mais encontra-los vivos, da delicada situacao em contatar com os familiares, foi ponderado pela equipe executora do projeto e decidido retirar da pesquisa TODA a parte retrospectiva. A parte prospectiva do projeto e a porcao de maior peso para os objetivos desejados. Assim, todas essas pendencias, que compoem o item 5, tornam-se inexistentes. Foram removidas mencoes quanto ao aspecto retrospectivo em varias partes do projeto: resumo (paginas 2 e 3); Objetivos primarios e secundarios (pgs 12 e 13); Metodologia (pg 13). PENDENCIA ATENDIDA.

6. No documento não editável "Folha_de_rosto_atualizada_01_12_2017.pdf" postado em 01/12/2017, os campos a serem preenchidos na folha de rosto não foram datados e assinados. Solicita-se o adequado preenchimento e assinatura com identificação dos signatários. RESPOSTA/ANALISE - parecer N° 2.492.274: A folha de rosto está devidamente preenchida. PENDÊNCIA ATENDIDA.

7. Quanto ao cronograma pesquisa apresentado no Arquivo "PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_711767.pdf" postado em 01/12/2017 solicita-se atualizar e acrescentar a informação de que a pesquisa será iniciada apos

aprovação dos Comitês de Ética da FEPECS e FS. RESPOSTA/ANALISE - parecer N° 2.492.274: A solicitação foi atendida e corrigida na plataforma, bem como foi incluído no projeto (arquivo: Projeto_corrigido_pedencias_19_02_18. pdf), o item 15, na página 19.
PENDÊNCIA ATENDIDA

Todas as pendências foram sanadas.

Não há óbices éticos para a realização deste projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

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

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_711767.pdf	23/02/2018 13:13:09		Aceito
Outros	Carta_resposta_ao_CEP_segunda_editavel.doc	23/02/2018 13:12:31	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Cronograma	Cronograma_editavel.docx	23/02/2018 13:10:57	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Cancer_CEP_corrigido_pedencias_editavel.docx	23/02/2018 13:09:44	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	20/02/2018 11:53:04	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Cancer_CEP_corrigido_pedencias.pdf	20/02/2018 11:52:08	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Carta_resposta_ao_CEP_segunda.pdf	20/02/2018 11:44:48	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_projeto_Cancer_recorrigido.doc	20/02/2018 11:43:09	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Orçamento	Planilha_detalhada_atualizada.pdf	01/12/2017 18:33:03	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	DODF_226_27_11_2017_FOMENTO_A_PROVADO.pdf	01/12/2017 18:28:55	Jamila Reis de Oliveira	Aceito

Outros	Email_convocatorio_EDITAL_04_2017_DEMANDA_ESPONTANEA.pdf	01/12/2017 18:27:06	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	folhaDeRosto_01_12_17_editavel.pdf	01/12/2017 18:19:58	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_concordancia_Corparticipacao_HRAN_atualizado_editavel.doc	01/12/2017 18:17:41	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_concordancia_HRAN_01_12_2017_atualizado.pdf	01/12/2017 18:13:18	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_Aceite_HRAN_atualizado_editavel.doc	01/12/2017 18:12:45	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_aceite_HRAN_01_12_17.pdf	01/12/2017 18:11:03	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Termo_de_aceite_da_FCE_atualizado.pdf	01/12/2017 17:46:16	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TERMO_DE_ACEITE_DA_FCE_editavel_atualizado.doc	01/12/2017 17:45:48	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_atualizada_01_12_2017.pdf	01/12/2017 16:44:58	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	cartaencaminhprojeto_editavel.doc	04/08/2016 09:21:07	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_Resp_Pesq_editavel.doc	04/08/2016 09:17:24	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Luiz_Alexandre.pdf	01/08/2016 20:27:22	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Jamila.pdf	01/08/2016 20:26:42	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Izabel.pdf	01/08/2016 20:26:07	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Eliziario.pdf	01/08/2016 20:25:05	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Diego.pdf	01/08/2016 20:24:11	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Lattes_Aline.pdf	01/08/2016 20:22:16	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Outros	Carta_de_encaminhamento_assinada.pdf	01/08/2016 20:20:24	Jamila Reis de Oliveira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_de_responsabilidade_assinado.pdf	01/08/2016 17:32:18	Jamila Reis de Oliveira	Aceito

Situação do Parecer

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 07 de Maio de 2018

Assinado por
Marie Togashi (Coordenador)