



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

EXPRESSÃO DO RECEPTOR DE ESTROGÊNIO NOS BÓCIOS  
SUBMETIDOS À TIREOIDECTOMIAS EM MANAUS

GECILDO SORIANO DOS ANJOS

MANAUS

2012

EXPRESSÃO DO RECEPTOR DE ESTROGÊNIO NOS BÓCIOS  
SUBMETIDOS À TIREOIDECTOMIAS EM MANAUS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PROGRAMA MULTI-INSTITUCIONAL DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

GECILDO SORIANO DOS ANJOS

EXPRESSÃO DO RECEPTOR DE ESTROGÊNIO NOS BÓCIOS  
SUBMETIDOS À TIREOIDECTOMIAS EM MANAUS

Tese apresentada ao Programa Multi-Institucional de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas, como parte do requisito para a obtenção do título de Doutor em Biotecnologia. Área de concentração: saúde.

Orientador: Prof. Dr. LD João Bosco Lopes Botelho (UEA)

Coorientador: Prof. Dr. Spartacos Astolfi Filho (UFAM)

Coorientadora: Profa. Dra. Beatriz Barry (Paris/FR)

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Amélia Duarte Ferreira (Porto/PG)

MANAUS

2012

Ficha Catalográfica  
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

Anjos, Gecildo Soriano dos

A599e Expressão do receptor de estrogênio nos bócios submetidos à tireoidectomias em Manaus / Gecildo Soriano dos Anjos. - Manaus: UFAM, 2012.  
59 f.; il. color.

Tese (Doutorado em Biotecnologia) — Universidade Federal do Amazonas, 2012.

Orientador: Prof. Dr. LD João Bosco Lopes Botelho

Coorientador: Prof. Dr. Spartacos Astolfi Filho

Coorientadora: Profa. Dra. Beatriz Barry

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Amélia Duarte Ferreira

1. Bócio 2. Receptor de estrogênio 3. Tireoide I. Botelho, João Bosco Lopes (Orient.) II. Astolfi Filho Spartaco (Coorient.) III. Barry, Beatriz (Coorient.) IV. Ferreira, Maria Amélia Duarte (Coorient.) V. Universidade Federal do Amazonas VI. Título

CDU 616.441-006.5(043.3)

GECILDO SORIANO DOS ANJOS

EXPRESSÃO DO RECEPTOR DE ESTROGÊNIO NOS BÓCIOS  
SUBMETIDOS À TIREOIDECTOMIAS EM MANAUS

Aprovada em 11 de dezembro de 2012

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. João Bosco Lopes Botelho – Presidente da Banca  
Universidade do Estado do Amazonas/UEA

---

Prof. Dr. Ozório José de Menezes Fonseca  
Universidade do Estado do Amazonas/UEA

---

Prof. Dr. Sidney Raimundo da Silva Chalub  
Universidade do Federal do Amazonas/Ufam

---

Prof. Dr. Euler Esteves Ribeiro  
Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG

---

Dr. Antônio Luís Ribeiro Boechat Lopes  
Universidade do Estado do Amazonas/UEA

## SUPLENTE

---

Prof. Dr. Cláudio do Carmo Chaves  
Universidade Federal de Minas Gerais/UFMG

---

Prof. Dr. Evandro Barbosa Ribeiro  
Universidade do Estado do Amazonas/UEA

## DEDICATÓRIA

**À minha esposa, Graciella Pazini dos Anjos**, pelo amor, carinho, paciência e compreensão na busca dos meus sonhos.  
**Aos meus filhos, Gabriel, Daniel e Railine**, obrigado pela própria existência, símbolos de amor e carinho.

**Aos meus pais, Luiz Gonçalves dos Anjos e Alcinda Soriano dos Anjos**, como inspiração e, acima de tudo, pelo exemplo, e pela estrutura familiar proporcionada ao longo da minha vida.

**Aos meus irmãos, Genival, Geny** (in memorian), **Genilda, Genildo, Jonas** (in memorian) **e Marcos**, pelo apoio e incentivo, amor e carinho.

**Aos amigos, Heleno José da Rocha & Helder Teixeira Grossi**, pela importância e incentivos durante minha formação profissional e pessoal.

## AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. João Bosco Lopes Botelho**, pelo exemplo, competência, amizade e orientação deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Spartaco Astolfi Filho**, pela colaboração, coorientação e incentivo.

Aos membros e suplentes da Banca examinadora, Doutores **João Bosco Lopes Botelho**, **Evandro Barbosa Ribeiro**, **Ozório José de Menezes Fonseca**, **Sidney Raimundo da Silva Chalub**, **Antônio Luís Ribeiro Boechat**, **Euler Esteves Ribeiro**, e **Cláudio do Carmo Chaves** pelas excelentes sugestões que contribuíram para um melhor norteamento da abrangência de conteúdo prático da Tese.

Ao Prof. Dr. **Carlos Eduardo Bacchi**, chefe do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina do Campus Botucatu da Universidade Estadual Paulista (UNESP), pela realização dos exames imuno-histoquímicos.

À **Nubiane dos Santos Pinon Freitas**, secretária do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Ufam, pela facilidade e profissionalismo na execução de suas tarefas.

Ao Dr. **Lúcio Feitosa**, pela revisão do abstract.

À **Gilmara Guimarães**, pela estatística.

Ao Prof. **Banayas Inácio Pereira**, pela valiosa revisão do português.

À **Dra Marilene Sena e Silva**, pela realização da ficha catalográfica.

Aos **pacientes**, sem as quais seria impossível a realização deste estudo, os meus sinceros agradecimentos.



## RESUMO

O bócio é uma condição clínica caracterizada pelo aumento da glândula tireoide à custa de nódulo(s), palpável ou não, cuja incidência, em geral varia de 4% a 7%, principalmente em mulheres. É endêmico na Amazônia, e problema de saúde pública. **Objetivo:** Avaliar a imunexpressão do receptor de estrogênio (RE) de forma qualitativa em peças cirúrgicas com o diagnóstico histopatológico de bócio de pacientes submetidos à tireoidectomias na cidade de Manaus/AM. **Métodos:** Selecionaram-se quarenta e nove pacientes com diagnóstico histopatológico de bócio e, a partir de seus blocos de parafina, foi avaliada a expressão do receptor de estrogênio (não específico) por imuno-histoquímica com a técnica da streptoavidina-biotina-imunoperoxidase e anticorpos primários anti-RE. A análise estatística utilizou o teste não paramétrico exato de Fisher, com nível de significância de 5%, e o Coeficiente de correlação de Pearson. **Resultados:** Quarenta e sete (95,9%) pacientes mostraram-se negativos para o receptor de estrogênio, enquanto que dois (4,1%) apresentaram imunexpressão positiva. Trinta e oito (84,45%) pacientes eram do sexo feminino e sete (15,6%) do gênero masculino. A maioria dos pacientes encontravam-se na faixa etária de 42 a 52 anos (19 pacientes), enquanto que a minoria (dois pacientes) estavam acima de 74 anos de idade. A idade mínima entre os pacientes foi de 31 anos e a idade máxima de 87 anos, com média de aproximadamente 53 anos. Não foi encontrada significância estatística (p-valor: 0,732) ao correlacionar-se o gênero dos pacientes com a imunexpressão positiva do receptor de estrogênio. Houve uma correlação razoável negativa (Correlação de Pearson – 13,9%) entre a análise imuno-histoquímica e a idade dos pacientes, no qual os dois pacientes RE positivos encontravam-se dentro da faixa etária (de 42 a

52 anos) de maior incidência (42,6% dos pacientes). **Conclusão:** não existe uma relação direta entre o desenvolvimento do bócio e a presença do receptor de estrogênio na glândula tireoide; não foi possível correlacionar a expressão do receptor de estrogênio com o gênero dos pacientes devido à baixa casuística dos pacientes masculinos (sete) comparados com os femininos (42).

**Palavras-chave:** Bócio; Receptor de estrogênio.

## ABSTRACT

The goiter is a clinical condition characterized by the increase of the thyroid gland at the expense of a nodule(s), tangible or not, whose incidence in general ranges from 4% to 7%, especially in women. It is endemic in Amazon Region, and a public health problem. Objective: To evaluate the expression of the estrogen receptor (RE) in a qualitative way in surgical pieces with the histopathologic diagnosis of goiter patients undergoing thyroidectomy in Manaus city. **Methods:** Forty-nine patients with goiter histopathological diagnosis were selected, and from its paraffin blocks, was evaluated the expression of the estrogen receptor (not specific) by immunohistochemistry using the technique of streptavidin-biotin immunoperoxidase staining and primary antibodies anti-ER. The statistical analysis used the non-parametric test Fisher's exact, with 5% significance level, and Pearson's correlation coefficient. **Results:** Forty-seven (95.9%) patients were negative for estrogen receptor, while two (4.1%) had positive immunoexpression. Thirty eight (84.45%) patients were female and seven (15.6%) were male. The majority of patients were in the age range 42 to 52 years (19 patients), while the minority (two patients) were above 74 years. The minimum patients age was 31 years and the maximum was 87 years, with an average of approximately 53 years. No statistical difference was found (p-value: 0.732) to correlate the gender of the patients with positive immunoexpression of estrogen receptor. There was a reasonable correlation negative (Pearson Correlation - 13.9%) between immunohistochemical analysis and the patients age, in which the two patients ER positive were within the range age (42 to 52 years) of higher incidence (42.6% of patients). **Conclusion:** there is not a direct relationship between the goiter development and the presence of the estrogen receptor in the thyroid gland.

**Keywords:** Goiter; estrogen receptor.

## Lista de Tabelas

	Página
Tabela 1. Características clínicas e anatomopatológicas dos 49 pacientes.....	33
Tabela 2. Faixa etária e gênero dos pacientes avaliados.....	36
Tabela 3. Resultado dos exames anatomopatológicos e o gênero dos pacientes.....	38
Tabela 4. Correlação entre o exame anatomopatológico e a análise imuno- histoquímica dos pacientes.....	38
Tabela 5. Correlação entre o gênero e a análise imuno-histoquímica dos pacientes.	39
Tabela 6. Correlação entre a faixa etária e a análise imuno-histoquímica dos pacientes.....	39

## Lista de Figuras

	<b>Página</b>
Figura 1. Bócio de grande volume.....	5
Figura 2. Paciente com bócio.....	6
Figura 3. Corte Histológico demonstrando proliferação dos folículos tireoidianos.....	7
Figura 4. Bócio Nodular.....	8
Figura 5. Bócio multinodular de grande volume visto no transoperatório.....	9
Figura 6. Efeitos “não genômicos” do receptor de estrogênio de membrana.....	18
Figura 7. Representação esquemática do receptor de estrogênio alfa (RE alfa).....	20
Figura 8. Descrição esquemática de um dímero da isoforma beta do receptor de estrogênio.....	21
Figura 9. Estrutura do gene do receptor de estrogênio alfa (RE alfa).....	22

## Lista de Gráficos

	Página
Gráfico 1. Distribuição por gênero dos pacientes avaliados.....	35
Gráfico 2. Distribuição por faixa etária dos pacientes avaliados.....	36
Gráfico 3. Resultados dos exames anatomopatológicos dos pacientes avaliados...37	
Gráfico 4. Resultado da análise imuno-histoquímica dos pacientes.....	37

## Lista de Abreviaturas e Siglas

ADH	Enzima álcool–desidrogenase
Aro	Aromatase
BMN	Bóciomultinodular
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementar
CO <sub>2</sub>	Dióxido de Carbono
D	Diluição
DEP	Desnutrição energético-proteica
DNT	Doença nodular da tireoide
DNA	Acido desoxirribonucleico
ERE	Elemento responsivo de esteróide
HE	Hematoxilina/Eosina
H-R	Hormônio-receptor
RE	Receptor de estrogênio
RE alfa	Receptor de estrogênio alfa
RE beta	Receptor de estrogênio beta
Rm	Receptor de membrana
RNA	Ácido Ribonucleico
THYROMOBIL	Projeto Thyromobil de pesquisa de iodo em urina de escolares
T3	Triiodotironina
T4	Tetraiodotironina
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
USA	Estados Unidos da América



## Lista de Símbolos

$\alpha$	Alfa – primeira letra do alfabeto grego
$\beta$	Beta – segunda letra do alfabeto grego
%	Por cento
$^{\circ}\text{C}$	Graus célsius
Kd	Kilo-dalton
pH	Potencial hidrogeniônico
x	Número de vezes

## SUMÁRIO

<b>Lista de tabelas.....</b>	<b>xii</b>
<b>Lista de figuras.....</b>	<b>xiii</b>
<b>Lista de gráficos.....</b>	<b>xiv</b>
<b>Lista de abreviaturas e siglas.....</b>	<b>xv</b>
<b>Lista de símbolos.....</b>	<b>xvi</b>
<b>Resumo.....</b>	<b>viii</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>x</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
2.1 Objetivo geral.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
<b>3. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
3.1 Bócio.....	4
3.2 Hormônio estrogênio e seus receptores: alfa e Beta e de membrana.....	12
3.3 Imuno-histoquímica e pesquisa de receptores de estrogênio.....	24
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
4.1 Delineamento do estudo.....	26
4.2 Pacientes.....	26
4.2.1 Seleção dos pacientes.....	26
4.2.1.1 Critérios de inclusão.....	26

4.2.1.2 Critérios de exclusão.....	26
4.3 Tamanho da amostra.....	27
4.4 Procedimentos.....	28
4.4.1 Coleta das amostras.....	28
4.4.2 Procedimento histopatológico.....	28
4.4.3 Processamento imuno-histoquímico.....	28
4.5 Controle das amostras.....	30
4.6 Critério de avaliação imuno-histoquímica das amostras.....	31
4.7 Análise estatística.....	31
4.8 Ética.....	32
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
ANEXOS.....	56

*Só quem sonha com o azul do voo sabe o seu  
poder de pássaro.*

Thiago de Mello

## 1 INTRODUÇÃO

O bócio, do ponto de vista clínico, representa qualquer aumento da glândula tireoide, não importando a etiologia ou a fisiopatologia, porém, do ponto de vista histopatológico, representa uma hipertrofia difusa ou localizada da glândula tireoide em consequência da hiperplasia das células foliculares (BOTELHO *et al.*, 2008; BOTELHO *et al.*, 2009).

O bócio representa, ainda hoje, uma das doenças mais difundidas, constituindo em alguns países sério problema de saúde pública, não somente pela extensão com que atinge certos grupos populacionais como, também, pelas inúmeras consequências que dele advêm, como disfunção glandular, aumento do risco de malignização, sintomas compressivos locais, como disfagia, dispneia, tosse, extensão intratorácica com risco de morte iminente por insuficiência respiratória aguda e, problemas estéticos.

A deficiência de iodo na alimentação é, reconhecidamente, a maior responsável pelo aparecimento dos bócios, que hoje priva aproximadamente um terço da população mundial (BOTELHO *et al.*, 2008).

As deficiências nutricionais de maior importância epidemiológica como a desnutrição energético-proteica (DEP), as anemias, a hipovitaminose A e o bócio, acham-se estreitamente associadas ao quadro estrutural da pobreza (CORRÊA-FILHO *et al.*, 2002).

No Brasil, três quartos de seu território é considerado área endêmica para bócio, em virtude de seu solo, caracterizado pelos relevos de áreas geológicas antigas e erodido, possuir baixo teor de iodo solúvel nas camadas superficiais (CORRÊA-FILHO *et al.*, 2002).

Em inquérito nacional sobre a prevalência do bócio endêmico em escolares brasileiros entre seis a quatorze anos, realizado de 1994 a 1996, constatou-se que a Amazônia apresenta um percentual significativo de pacientes com aumento do volume da glândula tireoide, mesmo tendo verificado uma redução, em relação ao inquérito anterior, de 1975 (CORRÊA-FILHO *et al.*, 2002).

Na Amazônia, onde é considerada doença endêmica, o bócio está relacionado com o baixo índice de iodeto de potássio presente no sal de cozinha, ligados à falta de fiscalização do mesmo; ao baixo índice deste mesmo oligoelemento presente na principal fonte proteica da região, que é o pescado; e à provável associação com a ingestão de tiocianato presente na farinha de macaxeira, largamente consumida na região (BOTELHO *et al.*, 2008).

Apesar da incidência maior de bócio em pacientes do sexo feminino (7:1) (SARAIVA, 2002), e da prevalência populacional girando em torno de 3% a 7% (CORRÊA-FILHO *et al.*, 2002), poucos estudos existem atualmente que tente correlacioná-lo com a expressão do receptor do estrogênio, que hoje, representa o principal marcador tumoral na carcinogênese mamária (JORDAN, 2004).

Dessa forma, a proposição deste trabalho foi avaliar a expressão do receptor do estrogênio no bócio, por intermédio da técnica de imuno-histoquímica, e com isso estabelecer uma correlação desse marcador tumoral com aquela afecção.

Neste estudo também foi feita uma correlação entre o receptor de estrogênio e os bócios de grande volume, além de procurar explicar a expressão deste marcador no sexo feminino, onde sua incidência é maior.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral:**

Identificar, de forma qualitativa, a presença do receptor de estrogênio (não específico) em bócios de pacientes submetidos à tireoidectomias na cidade de Manaus/AM.

### **2.2 Objetivos específicos:**

2.2.1 Análise imuno-histoquímica do perfil de expressão do receptor de estrogênio e sua correlação com os bócios;

2.2.2 Estabelecer correlação da expressão do receptor de estrogênio com o gênero dos pacientes.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Bócio

O bócio é uma condição clínica definida pelo aumento do volume da glândula tireoide, caracterizada pelo crescimento excessivo e transformação estrutural e/ou funcional de uma ou mais áreas do parênquima tireoidiano normal, não relacionado a um processo inflamatório, doença autoimune e neoplásico (KRHON *et al.*, 2005; BOTELHO *et al.*, 2007; BOTELHO *et al.*, 2008).

É uma das doenças mais antigas conhecidas. Tratados chineses do século V a.C. demonstram sinais do seu reconhecimento, quando descrevem o uso de pó de algas marinhas como tratamento. Baixos-relevos egípcios, da segunda dinastia, representam mulheres com a afecção, perto de 2000 anos a.C., assim como esculturas incas do século XIII. Em Zurique, Jacobus Rueff, em 1556, apresenta os primeiros desenhos anatômicos referentes ao tema, em Tratado de Medicina. Após a viagem pela América do Sul, entre 1799 e 1804, o cientista alemão Alexander Von Humboldt publica várias observações sobre a existência de bócio e cretinismo na região do rio Orenoco na Venezuela e Planalto de Bogotá (MEDEIROS-NETO, 1977; FERRAZ & BRANDÃO, 1989).

No Brasil, as primeiras descrições do bócio datam do século XIX e foram feitas por autores como, Auguste de Saint-Hilaire, Von Spix e Von Martius, que falam de sua existência em negros (figura 1), mestiços e brancos, no Vale do Paraíba e em direção ao oeste e ao norte, sendo, porém, ausente entre os índios. No início do século XX, Carlos Chagas, Penna de Azevedo, Lobo Leite, Villela, entre outros, realizaram extensos estudos sobre a doença em nosso meio (MEDEIROS-NETO, 1977; FERRAZ & BRANDÃO, 1989).





Figura 1: paciente com bócio multinodular de grande volume. Imagem do início da década de quarenta.

A preocupação com as doenças tireoideas permanece até hoje, dado que é considerada a segunda alteração endócrina mais comum, depois do diabetes melito, como refere Denardin (2001). Na população adulta, 4% a 7% apresentam nódulos palpáveis na glândula tireoide, podendo atingir 30% a 50% quando são considerados estudos de necropsias ou quando o ultrassom é utilizado para diagnóstico (DEAN & GHARIB, 2008, HEGEDÜS, 2004; MATSUO *et al.*, 2004; MENEZES, 2001). Hegedüs e colaboradores (2003) comprovam essas informações e ressaltam a maior incidência de nódulos no sexo feminino e com o avançar da idade, chegando a acometer mais da metade das pessoas acima dos sessenta anos.



Figura 2: paciente com bócio. Fonte: arquivo pessoal

Distribuídos principalmente em países subdesenvolvidos e em áreas bociogênicas, os bócios tem sua incidência relacionada principalmente com a baixa ingestão de iodo na alimentação. Acrescenta-se a este fato, uma peculiaridade dos povos amazônicos, o uso exagerado de farinha de mandioca, alimento bociogênico, rico em ácido cianídrico, reconhecido antitireoideo, que se transforma em tiocianato, após a ingestão, sob ação da enzima rodanase (BOTELHO *et al.*, 2008).

As transformações morfológicas da glândula tireoide são definidas pela diminuição ou pelo aumento das unidades celulares (folicúlos tireoidianos) que a compõem, constituindo os bócios difusos ou nodulares. Como o iodo é matéria-prima fundamental para o funcionamento da glândula, a carência alimentar está relacionada com o bócio endêmico (HEGEDÜS, 2004).

Com a lei federal nº 1944 de 14 de agosto 1953 que tornou obrigatória à iodação do sal, houve uma queda na prevalência nacional do bócio, tornando imperativa a adição de iodeto de potássio, na dose de 40 mg/kg a 60 mg/kg de sal, até 2003. Estudos epidemiológicos como o THYROMOBIL em 2000, desenvolvido em vários Estados do País e, em 2003, no Estado de São Paulo, demonstra eficácia

no controle do bócio endêmico; em contrapartida, foi notada a elevação dos níveis de iodo excretado na urina, o que sugere consumo exagerado, relacionado com aumento na incidência de tireoidite crônica. Atualmente, a legislação baixou a exigência de iodeto por quilograma de sal, para 20mg a 30mg (DUARTE *et al.*, 2004).

Histologicamente o bócio representa uma hipertrofia do tecido tireoidiano em consequência da hiperplasia das células foliculares (figura 3). Dividem-se em bócios endêmicos, esporádicos, nodulares (figura 4), multinodulares (figura 5), multinodular hiperfuncionante, mergulhante ou torácico ou mediastínico, e bócios de grande volume (BOTELHO *et al.*, 2001; GRAF, 2004).

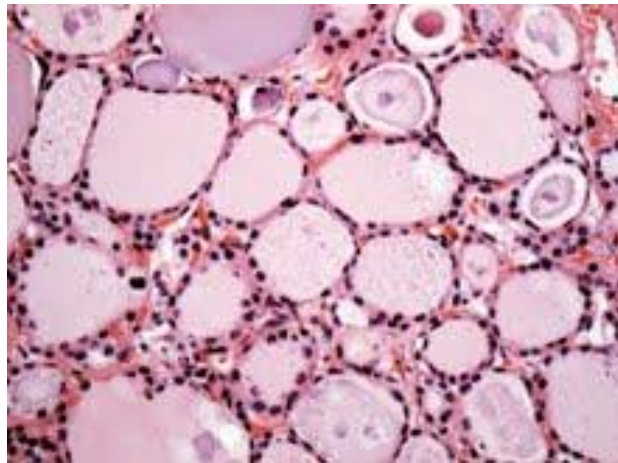


Figura 3. Corte histológico de bócio demonstrando proliferação de folículos tireoidianos de diferentes tamanhos revestidos por epitélio cuboidal sem atipias. Há considerável quantidade de coloide no lúmen dos folículos (Hematoxina-Eosina; aumento original 200x). Fonte: arquivo do Prof. Dr. Carlos Eduardo Bacchi.

Dentre as apresentações clínicas benignas do bócio, a doença nodular da tireoide (DNT) representa um aumento nodular clinicamente evidente da tireoide, caracterizado pelo crescimento excessivo e transformação estrutural e/ou funcional de uma ou várias áreas tireoidianas (HEGEDÜS *et al.*, 2003). É uma doença comum, e representa o diagnóstico final em 82% das tireoidectomias (FERRAZ *et al.*, 2002). É considerado endêmico quando a prevalência em crianças de seis a nove anos é

superior a 5%, e esporádico quando inferior a isto (HEGEDÜS *et al.*, 2003). A prevalência é bastante variável, e depende do método de avaliação utilizado; na população em geral é de 3% a 7%, predominantemente no sexo feminino, idosos e em áreas pobres de iodo. Se pesquisado com ultrassonografia, a prevalência de nódulos maiores que 10 mm de diâmetro pode variar de 20 a 30% na população geral (CHAMMAS *et al.*, 2005), e em autópsias, de 30% a 60% dos exames, sendo quase um terço representado por nódulos únicos (WEISS & LADO, 2002).

O bócio pode cursar com eutireoidismo (Bócio nodular ou multinodular atóxico) ou hipertireoidismo (Bócio multinodular atóxico), que pode ser clínico (níveis de TSH suprimidos e de hormônios tireoidianos livres elevados) ou subclínico (níveis de TSH suprimidos e de hormônios tireoidianos livres normais) (WEISS & LADO, 2002).



Figura 4: Bócio nodular. Fonte: arquivo pessoal

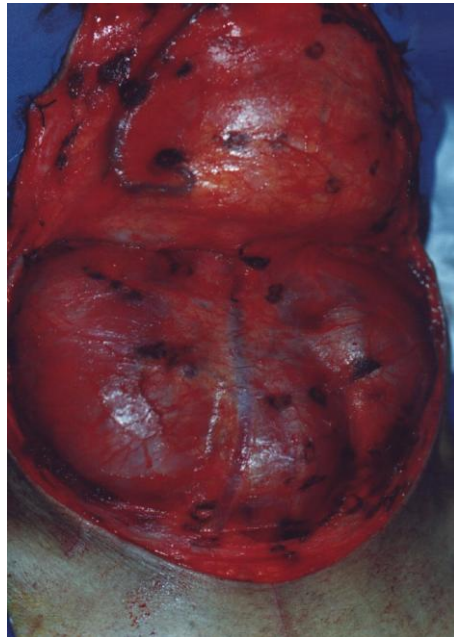


Figura 5: Bócio multinodular de grande volume visto no transoperatório. Fonte: arquivo do Dr. João Bosco Lopes Botelho.

A etiologia da doença nodular da tireoide é multifatorial (HEGEDÜS *et al.*, 2003; TAVANGAR *et al.*, 2007). Uma associação familiar tem sido reconhecida na DNT, embora não tenha sido demonstrado um modo de transmissão simples. A influência genética é multifatorial e o fenótipo representa o efeito somatório de todos os fatores genéticos e ambientais (HEGEDÜS *et al.*, 2003; KAWABATA *et al.*, 2003).

A deficiência de iodo é o fator de risco ambiental para o desenvolvimento da DNT mais bem estudado, cuja prevalência é inversamente proporcional à ingestão de iodo. A ingestão adequada diária de iodo deve ficar em torno de 100 a 150  $\mu\text{g}/\text{dia}$  em adultos e adolescentes. A dosagem da concentração de iodo na urina é útil para identificar a deficiência de iodo, quando o nível de iodo em amostra de urina coletada durante vinte e quatro horas é menor que 100 a 150  $\mu\text{g}/\text{dia}$ . Na situação oposta, níveis urinários maiores que 300  $\mu\text{g}/\text{dia}$  são sugestivos de ingestão de iodo além do recomendado (DUNN, 2003). Verifica-se correlação direta entre o grau de deficiência de iodo com a prevalência de bócio de uma população e também com o

tamanho do mesmo. Na presença de deficiência de iodo, ocorre uma redução na produção de T4, acarretando maior secreção hipofisária de TSH, a qual por sua vez, leva à hiperplasia dos folículos tireoidianos. A deficiência de iodo também se correlaciona com o desenvolvimento da autonomia glandular, a qual pode ser revertida com a suplementação de iodo. Entretanto, a suplementação de iodo mais frequentemente pode causar hipertireoidismo em pacientes previamente eutireoidianos com autonomia glandular, devido ao efeito Jodd- Basedow. Por outro lado, nem todo paciente com deficiência de iodo desenvolve bócio, o qual também pode surgir em pacientes com ingestão adequada do mineral, ou até mesmo excessiva (TAVANGAR *et al.*, 2007).

O tabagismo também tem sido considerado um fator de risco (GRAF, 2004). Em qualquer população, a DNT é o resultado da interação da suscetibilidade genética com os fatores ambientais, como a baixa ingestão de iodo e o tabagismo (HEGEDÜS *et al.*, 2003).

A apresentação clínica do bócio simples vai desde um pequeno nódulo achado de forma incidental a um grande bócio multinodular intratorácico. Sua evolução natural é caracterizada por um aumento progressivo da glândula com o desenvolvimento de múltiplos nódulos, sintomas compressivos locais e/ou queixas cosméticas. Entretanto, a história natural com relação ao crescimento e função é difícil de prever, em função de não existir um parâmetro específico (HEGEDÜS *et al.*, 2003). Com relação aos nódulos, um estudo prospectivo em 140 pacientes não tratados, 15 anos após o diagnóstico inicial, mostrou um aumento do nódulo em 13%, manutenção do volume em 34%, diminuição do nódulo em 23% e não palpção do nódulo em 30%. Os nódulos que cresceram eram predominantemente

sólidos, ao passo que aqueles que desapareceram eram predominantemente císticos (GRAF, 2004; HEGEDÜS, 2004).

O bócio multinodular (BMN) é definido como aumento da glândula tireoide devido à proliferação multifocal de tireócitos, resultando em estruturas foliculares difusamente heterogêneas. A apresentação inicial poderá incluir um aumento difuso, porém a glândula muitas vezes desenvolve nodularidade assimétrica. Inicialmente, a hiperplasia é eutireoidea; entretanto, com o crescente aumento de tamanho, podem ocorrer elevações de T3 e T4, e progredir gradualmente para o hipertireoidismo clínico (PAGE & STRUNSKI, 2007).

A incidência de carcinoma no bócio multinodular tem sido descrita como sendo de 5% a 10%. Nódulos que apresentarem baixa captação cintilográfica, ditos hipocaptantes, são considerados suspeitos para malignidade (LEWY, 2007).

O bócio mergulhante ou torácico ou mediastínico, é outra apresentação clínica do bócio, relativamente rara, cuja primeira descrição data de 1749. Caracteriza-se por uma extensão intratorácica geralmente relacionada aos bócios multinodulares, cuja formação se expande para baixo e para dentro do mediastino anterior. Em geral, é um quadro crônico, de evolução lenta e de aspecto insidioso, sendo assintomático em até 65% dos casos. É mais frequente em indivíduos do sexo feminino, com idade superior a 60 anos e história pregressa de cirurgia tireoidiana. Estima-se que de cada cem casos de bócio, apenas um é do tipo mergulhante. É responsável por cerca de 7% dos tumores do mediastino e 3% a 20% das tireoidectomias. A maior parte consiste em lesão benigna, localizada no mediastino anterossuperior (MAIA & ARAÚJO, 2002).

A fisiopatogenia do bócio mergulhante ainda não está bem estabelecida, sendo assunto polêmico e controverso. A maioria dos casos corresponde a bócio

multinodular atóxico. Não se compreende exatamente os mecanismos que levam à invasão da cavidade torácica pela glândula tireoide. Supõe-se que o tamanho do pescoço, a musculatura cervical hipertrofiada e a cifose acentuada podem ser fatores predisponentes do bócio mergulhante. A musculatura hipertrófica anteriormente à tireoide impediria o crescimento normal do bócio por obstrução mecânica. Como consequência, a tireoide tenderia a crescer em direção ao estreito superior do tórax, invadindo a cavidade torácica, gerando o quadro de bócio mergulhante. Não foi evidenciada qualquer relação com fatores familiares ou genéticos em sua gênese (MAIA & ARAÚJO, 2002).

A cirurgia tem sido por muitos grupos, considerada o tratamento de escolha para bócios. Entretanto, pode estar contraindicada em pacientes idosos devido à presença de outras comorbidades, como patologias cardíacas ou pulmonares. Além disso, essa modalidade terapêutica só é eficaz quando se realiza a retirada completa da glândula, o que aumenta os riscos inerentes à cirurgia e leva ao desenvolvimento de hipotireoidismo na totalidade dos casos (OZBAS, 2005), mas que pode ser compensado pela reposição oral de levotiroxina.

### **3.2 Hormônio estrogênio e seus receptores: alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) e de membrana**

Muitos aspectos do desenvolvimento, diferenciação e homeostase do organismo humano são regulados por hormônios e moléculas sinalizadoras que controlam a expressão gênica por ligação com receptores proteicos nucleares, os quais são fatores transcricionais ativados por ligação específica, que regulam a expressão de genes-alvo (CARUSO *et al.*, 2003).



Dentre os inúmeros hormônios conhecidos, têm-se o estrogênio, que além do fenótipo feminino ao qual lhe é atribuído, é responsável pelo crescimento, diferenciação e funcionamento dos tecidos reprodutivos, como por exemplo, o crescimento da glândula mamária e do endométrio uterino durante a gravidez (IKEDA & INOUE, 2004). Também desempenha papéis importantes em órgãos não reprodutivos, entre os quais ossos, fígado, pele, músculos, cérebro e adipócitos (CHENG *et al.*, 2006; ISHIDA *et al.*, 2007), bem como, na cognição e no comportamento (DEROO & KORACH, 2006). Nesses locais, o estrogênio atua em processos metabólicos tais como: ação nos vasos sanguíneos, metabolismo de lipídeos e carboidratos, mineralização óssea e junção epifzeal (CHENG *et al.*, 2006).

O estrogênio é derivado do metabolismo do colesterol, faz parte da família dos hormônios esteroidais e é sintetizado principalmente pelos ovários e testículos, mas também em tecidos periféricos (NILSSON *et al.*, 2001; PAVÃO & TRAISH, 2001). É metabolizado principalmente no fígado via complexo P450, tendo seus metabólitos menos ativos excretados na urina e nas fezes. Seu metabolismo varia dependendo da fase do ciclo menstrual, menopausa, etnia e polimorfismos genéticos. Com o envelhecimento, as alterações do metabolismo do estrogênio podem modificar seus efeitos via receptores nos vasos (NASCIMENTO *et al.*, 2009).

Os estrogênios naturais (estradiol, estrona e estriol) são moléculas lipofílicas, que tem sua biossíntese através da conversão da testosterona pela ação da enzima microsomal denominada aromatase (aromatização dos andrógenos) (CHENG *et al.*, 2006), que ocorre no citoplasma celular, na membrana bilipídica do retículo endoplasmático (GHOSH *et al.*, 2009). São transportados no plasma ligados à albumina e à globulina (MILLER & DUCKLES, 2008).

O modelo clássico para descrever o mecanismo de ação do estrogênio, juntamente com os demais hormônios esteroides (progesterona, androgênios, glicocorticoides e mineralocorticoides), foi proposto em 1993 por Schuchard e colaboradores, que descreve uma ação nuclear dos receptores destes hormônios. Segundo o modelo, os hormônios esteroides difundem-se através da membrana celular, formando complexos de alta afinidade com o seu receptor, resultando na ativação do mesmo (MILLER & DUCKLES, 2008). A ativação envolve mudanças conformacionais e associações proteína-proteína, que capacitam o complexo hormônio-receptor a ligar-se com alta afinidade a regiões do DNA chamadas elementos responsivos a esteroides (EREs). Esses elementos responsivos correspondem a sequências de DNA de quinze a vinte pares de bases localizadas anteriormente (*upstream*) ao sítio de início da transcrição do gene responsivo ao esteroide. Uma vez ligado a essa sequência, o complexo hormônio-receptor atua como fator de transcrição, modulando a taxa de transcrição do gene alvo. O modelo propõe ainda que a ligação do complexo hormônio-receptor (H-R) aos EREs ativa a transcrição dos chamados genes regulatórios precoces (*early genes*), cuja resposta ocorre poucos minutos após a estimulação hormonal. As proteínas codificadas por estes genes retornam ao núcleo e modulam a expressão dos chamados genes estruturais tardios (*late genes*). Esses genes codificam proteínas envolvidas no efeito biológico determinado pelo hormônio (SCHUCHARD *et al.*, 1993; SMILEY & KHALIL, 2009).

Estudos posteriores contribuíram para um maior esclarecimento sobre o funcionamento dos receptores dos hormônios esteroides. Esses receptores caracterizam-se pela organização em domínios funcionais específicos, e apresentam diferentes graus de semelhança estrutural entre diferentes espécies. Os domínios

funcionais incluem domínios de ligação ao hormônio (na região carboxi-terminal), de ligação ao DNA (central), domínios de transativação (na região amino-terminal), responsáveis pelo recrutamento de coativadores da transcrição, e ainda domínios inibitórios, responsáveis pelo recrutamento de correpressores da transcrição gênica. Existem ainda domínios de dimerização, através dos quais os receptores, ligados ao hormônio, dimerizam-se, e assim formam o complexo hormônio-receptor ativado (MULAC-JERICEVIC & CONNEELY, 2004). Porém, estudos atuais questionam a necessidade de dimerização dos receptores para que sejam ativados, ficando este tema em aberto (HENECHAN *et al.*, 2006). Demonstrou-se, ainda, que as regiões de ligação ao DNA e N-terminal da mesma molécula, uma vez o hormônio tendo se ligado ao receptor, interagem entre si, estabilizando o complexo e otimizando a ligação com proteínas correguladoras (TAKIMOTO *et al.*, 2003).

A aromatase (Aro), também conhecida como P450arom e CYP19, é uma das diversas enzimas da família do citocromo P450 (CYP), responsáveis não somente pela produção e biodisponibilidade do estrogênio, como também pela sua degradação (CHENG *et al.*, 2006; GHOSH *et al.*, 2009). Essa enzima apresenta em sua estrutura dois sítios de ligações: um deles apresentando uma molécula de ferro e o outro um sítio de ligação esteroideal, no qual, o androgênio se liga para a produção do estrogênio. Sua expressão é regulada pela presença de hormônios, como o androgênio, e pela presença de fatores teciduais específicos, como por exemplo, o fator esteroideogênico (GHOSH *et al.*, 2009).

O gene da aromatase está localizado no braço longo do cromossomo 15 na região 21.2 com uma região codificadora de 30 kd e uma região regulatória de 93 kd (CZAJKA-ORANIEC & SIMPSON, 2010; GHOSH *et al.*, 2009). Esse gene apresenta um mecanismo regulatório complexo. A região codificadora comum apresenta nove

éxons que iniciam com o II, e a região regulatória contém muitos éxons alternativos. Os éxons variáveis são alternativamente agrupados na região imediatamente acima da região codificadora comum. Os éxons variáveis estão nos RNAs mensageiros transcritos nos tecidos específicos e podem servir como uma assinatura na identificação do promotor utilizado naquele tecido. Nove éxons são citados na literatura incluindo: I.1, I.2, I.3, I.4, I.5, I.6, I.7, P.II e I.f. O éxon I.1 é dirigido pelo promotor I.1 e é considerado como exclusivo da placenta, enquanto o promotor II (P.II) é mais utilizado pelos ovários e testículos. Os fibroblastos da pele e a maioria do RNA da aromatase no tecido adiposo tem o éxon I.4. O éxon I.7, dirigido pelo promotor I.7, que é tipicamente encontrado nas células endoteliais, é também encontrado em tecido de câncer de mama (CHENG *et al.*, 2006).

Quanto aos polimorfismos desse gene, sabe-se que existem mais de oitenta, sendo a maioria de um único nucleotídeo; esses polimorfismos não representam necessariamente relação com alterações patológicas. No entanto, sugere-se que o polimorfismo encontrado no íntron IV, um microsatélite (TTTA) repetido na posição 77 e outro (TCT) deletado ou inserido na posição 27, possam estar associados ao câncer de mama, de próstata, de endométrio, osteoporose e endometriose, sugerindo a participação da aromatase na patogênese de condições neoplásicas (CZAJKA-ORANIEC & SIMPSON, 2010).

A aromatase é expressa tanto em tecido reprodutivos como em sítios extra-gonadais, como a pele, os músculos, cérebro e adipócitos. Acredita-se que a presença da aromatase e, conseqüentemente, a produção de estrógeno local seja a maior fonte de estrogênio para os homens, e para as mulheres na menopausa. Especula-se ainda que essa enzima possa agir de forma autócrina no crescimento de tumores em órgãos não reprodutivos (CHENG *et al.*, 2006).

Apesar do estrogênio, juntamente com o androgênio serem específicos para a determinação do gênero e para as funções reprodutivas de cada gênero, os dois hormônios estão presentes em homens e mulheres, diferindo em quantidade, locais de produção e função, o que faz com que a aromatase seja necessária em ambos os sexos (BAKKER & BAUM, 2007).

Recentemente, têm-se analisado importantes efeitos do estrógeno no sistema reprodutivo masculino e em um número significativo de tecidos não associados à reprodução, tais como: ossos, sistemas cardiovasculares, sistema nervoso central, gastrintestinais, urogenital, imunológicos, como também em tecidos normais de tireoide, glândulas parótidas, glândulas submandibulares e mucosas sadias de assoalho da boca. Em tumores, como carcinomas papilíferos de tireoide, adenomas pleomórficos de parótida, carcinoma de células escamosas de assoalho de boca e de maxila, também foram encontrados (NILSSON *et al.*, 2001; PAVÃO & TRAISH 2001).

Existe, ainda, um grande número de afecções associadas a mudanças na produção de estrógeno (expressão local da aromatase e síntese de estrogênio) ou resposta celular hormonal tais como: osteoporose, aterosclerose e cânceres de mama, endométrio, próstata e cavidade bucal, bem como no leiomioma uterino (NILSSON *et al.*, 2001; PAVÃO & TRAISH, 2001; CHENG *et al.*, 2006; ISHIDA *et al.*, 2007).

Para que o estrógeno desempenhe suas diversas funções na regulação do metabolismo celular em diferentes tecidos, é necessária a presença de receptores celulares intranucleares proteicos específicos (CARUSO *et al.*, 2003). Os receptores de estrogênio, juntamente com os receptores dos hormônios da tireoide (T3 e T4), pertencem à superfamília dos receptores nucleares para fatores de transcrição.

A ligação do estrogênio com seu receptor depende de fatores coativadores (auxiliam na ação dos receptores sobre o DNA celular) e correpressores (dificultam-na). Após essa interação, os receptores do estrogênio passam de monômeros a dímeros e acoplam-se em regiões específicas do DNA celular, onde ocorre a transcrição, homeostase e metabolismo celular (SARAIVA, 2002). Entretanto, Zhang e colaboradores (2004) citam a importância funcional de receptores citoplasmáticos através da ação por vias não genômicas, que incluem reações em cascata via segundo mensageiro, as quais modulam os canais de cálcio (Figura 6).

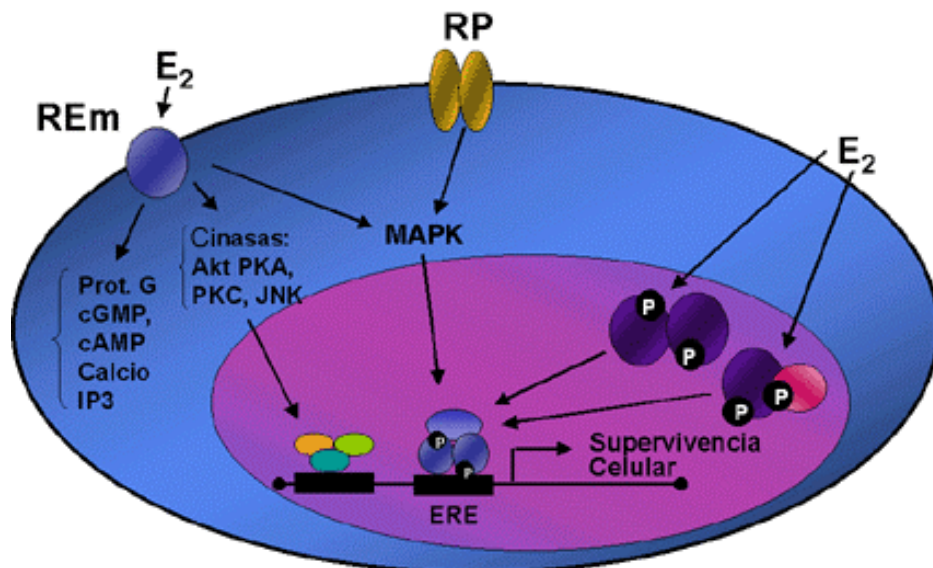


Figura 6. Efeitos “não genômicos” do receptor de estrogênio de membrana. O estradiol 17- $\beta$  (E<sub>2</sub>) se une ao receptor de membrana de estrogênio (REm) e ativa diferentes cascatas de sinais que podem direta, ou comunicação cruzada, estimular a ativação de mecanismos genômicos. Entre os efeitos mediados pelo receptor de membrana estão a ativação de canais de Ca<sup>2+</sup>, proteína G, interação com receptores de peptídeos (RP), ativação de cinases, etc. (BRYANT, 2002; SIMONCINI, GENAZZANI, LIAO, 2002; WASSMANN *et al.*, 2002).

O estrogênio possui três receptores conhecidos: o receptor de estrogênio alfa (RE $\alpha$ ) (Figura 7) e o receptor de estrogênio beta (RE $\beta$ ) (figura 8), ditos clássicos (DIEL, 2002), codificados por genes diferentes (ESR1 e ESR2, respectivamente), encontrados em locais cromossômicos diferentes, e os receptores de membrana

acoplados à proteína G (GPR30), ditos não clássicos, de efeito não genômico (BAKER & MARTINEZ-MAZA, 2005; CARRUBA, 2007).

Há evidências que o GPR30 se liga com o estradiol, tendo alta afinidade e agindo independentemente dos receptores clássicos (NASCIMENTO *et al.*, 2009).

A regulação dos receptores pode ser dependente do tecido envolvido e da duração do tratamento com o estrogênio, bem como de outros hormônios e fatores de crescimento (MILLER & DUCKLES, 2008).

O receptor de estrogênio alfa foi descoberto em 1986 por Green por meio de técnica de clonagem do ácido desoxirribonucleico complementar (DNAC); já o receptor beta, este fato só ocorreu dez anos após, em 1996, pela mesma técnica de clonagem do DNAC do RE alfa. Assim, vários estudos seguiram-se a respeito da existência dessas duas isoformas de receptores de estrógeno com alta afinidade e especificidade em humanos, cujo fenômeno possibilita a ação seletiva do hormônio em diferentes tecidos. Ambos os receptores são formados por uma cadeia polipeptídica única composta de 565 aminoácidos para a RE alfa e, 530 para o RE beta. Apresentam homologia de cerca de 95% entre seus domínios de ligação ao DNA, e de aproximadamente 60% entre seus domínios de ligação ao ligante, o que confere propriedades diferenciadas de ligação do hormônio aos dois receptores (LI, BALDWIN, KARLAN, 2003). Há seis regiões homólogas (de alto grau) no domínio de ligação de DNA, de A a F, porém diferem consideravelmente no domínio N terminal e no domínio E (JORDAN, 2004). Essas diferenças sugerem que esses dois receptores apresentam funções distintas para as respostas biológicas e na regulação da transcrição gênica sob o comando do estrogênio (BARDIN *et al.*, 2004). O modo de ação de cada receptor depende da quantidade e do nível da expressão encontrada de cada um nos tecidos (CARRUBA, 2007). A responsividade

de um tecido ou de um tipo celular expressando somente um dos tipos de receptor ou ambos pode variar, conforme a formação de homodímeros ou heterodímeros (LI, BALDWIN, KARLAN, 2003)



Figura 7. Representação esquemática do receptor de estrogênio alfa (RE alfa).

Acredita-se que o desequilíbrio entre a quantidade de receptores alfa e beta nos órgãos reprodutivos possa estar relacionada ao surgimento de neoplasias (CARRUBA, 2007).

Evidências crescentes apontam para a existência de receptores alfa e beta, mutados em tecidos normais e patológicos, no entanto, ainda não se sabe determinar o tipo dessas mutações e nem como atuam (CARRUBA, 2007).

Dessa forma, questionou-se também a possibilidade da participação do estrogênio, através de seus receptores, e da aromatase, nas vias da carcinogênese em tecidos não reprodutivos (CHENG *et al.*, 2006; ISHIDA *et al.*, 2007; KU & CROWE, 2007).



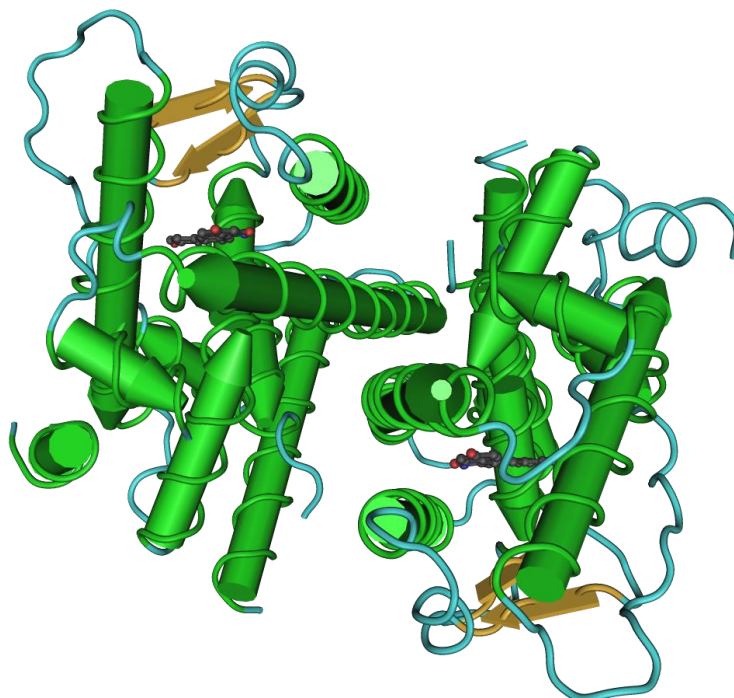


Figura 8. Descrição esquemática de um dímero da isoforma beta do receptor de estrogênio, e descrição/ representação esquemática de um dímero da região ligante de receptor de estrogênio beta em complexo.

O receptor de estrogênio beta é expresso de forma unipresente em tecidos responsivos a hormônios, enquanto a expressão do receptor alfa flutua em resposta ao meio hormonal. Os efeitos celulares e teciduais de um composto estrogênico parecem refletir uma interação dinâmica entre as ações destas isoformas do receptor de estrogênio. Essas observações realçam a complexidade das interações estrogênicas com o tecido normal e neoplásico (BAKER, MARTINEZ-MAZA, BEREK, 2005).

Ademais, foi demonstrado que o estrogênio pode regular co-dependentemente a expressão gênica de suas isoformas de receptores sem resultar em um efeito na fisiologia celular. A exposição contínua ao estrogênio promove a redução dos receptores alfa e aumento dos receptores beta, modulando o balanço na abundância desses dois receptores. Weatherman e colaboradores (2001),

demonstraram, ainda, que essa regulação depende de sequências de DNA específicas das regiões promotoras dos receptores de estrogênio alfa e beta, que configuram os elementos de respostas ao estrogênio no DNA. Essas regiões apresentam pequenas variações entre as populações, caracterizando um polimorfismo genético nos receptores de estrogênio (KANG *et al.*, 2002; CAI *et al.*, 2003; SHIN *et al.*, 2003; HAN *et al.*, 2003; MATTHEWS & GUSTAFFSON, 2003; FORSTI *et al.*, 2003). Um esquema geral do gene do receptor de estrogênio é mostrado na Figura 9.

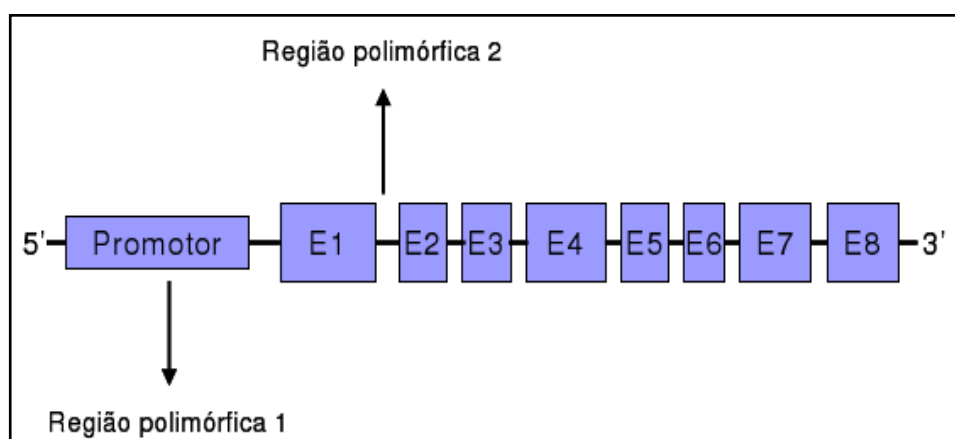


Figura 9: Estrutura do gene do receptor de estrogênio alfa (RE alfa). O gene do RE alfa apresenta os éxons E1 até E8. Polimorfismos são encontrados em vários destes éxons (não mostrados) sendo estas relacionadas a variações na afinidade de ligação do estrogênio. As regiões polimórficas um e dois são aquelas relacionadas com o controle da expressão da isoforma alfa do receptor de estrogênio (GENNARI *et al.*, 2002).

O polimorfismo representa, nesse caso, uma capacidade de regulação diferenciada na abundância dos receptores alfa e beta durante a exposição ao estrogênio, aumentando nas mulheres que não os apresentam, e conseqüentemente, maior susceptibilidade ao desenvolvimento de câncer mamário (HAN *et al.*, 2003; JORDAN, 2004).

A distribuição dos receptores de estrogênio nos tecidos normais e patológicos se faz em concentrações significativas nos seguintes tecidos: ovário, endométrio, hipotálamo, músculo liso vascular, endotélio (MILLER & DUCKLES, 2008), carcinoma papilar da tireoide, tireoide normal, glândulas parótidas e submandibulares normais, adenoma pleomórfico de parótida, mucosas sadias de assoalho de boca e nariz, carcinoma de células escamosas de assoalho de boca e de maxila. O RE alfa é mais encontrado em órgãos envolvidos na reprodução como útero, vagina e mama, enquanto que o RE beta é mais encontrado em tecidos do sistema nervoso central, cardiovascular, trato geniturinário, trato gastrintestinal, mucosa oral, glândulas salivares e pulmão (CARUSO *et al.*, em 2003; CERESINI *et al.*, 2006).

Os receptores de estrogênio são mais bem estudados e aplicados como marcadores prognósticos no câncer de mama, doença responsável como uma das maiores causas de morte na população feminina acima de 45 anos (CLEATOR & ASHWORTH, 2004; COTRAN, 2010). O reconhecimento de que a presença das isoformas alfa ou beta do receptor de estrogênio no câncer de mama, como marcador de melhor e pior prognóstico, respectivamente, resultou numa nova diretriz no estudo dos fenômenos que resultam na carcinogênese mamária (JORDAN, 2004; NAKOPOULOU *et al.*, 2004).

A utilização clínica destes marcadores teve início na década de oitenta após a confirmação de sua correlação com o grau tumoral. Tumores que respondem a terapia hormonal expressam altos níveis de receptor de estrogênio, enquanto que aqueles não respondem, esses níveis são baixos ou indetectáveis. Quando diagnosticados, os cânceres mamários positivos para os receptores de estrogênio

geralmente apresentam-se de menor tamanho, de menor grau histológico e nuclear, com melhor resposta hormonal e com melhor prognóstico (COTRAN, 2010).

### **3.3 Imuno-histoquímica e pesquisa dos receptores de estrogênio**

A imuno-histoquímica é um teste semiquantitativo, de escolha, para a pesquisa dos receptores de estrogênio, pelo seu baixo custo, facilidade de execução e alta sensibilidade e especificidade. Dentro de um laboratório de patologia cirúrgica, é a técnica complementar indispensável na resolução de certos problemas de diagnóstico diferencial formulados nas lâminas coradas com coloração básica de rotina de Hematoxilina e Eosina (HE) (JAFFER & BLEIWEISS, 2004). Surgiu com as pesquisas em imunopatologia que começaram na década de 1940, mas só a partir de 1974, quando foi possível demonstrar alguns antígenos tissulares pela técnica de imunoperoxidase em tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina, é que a imuno-histoquímica foi aceita como um método simples e prático na rotina diagnóstica de patologia cirúrgica (BODEY, 2002).

O desenvolvimento de anticorpos monoclonais, que propiciaram uma enorme fonte de reagentes altamente específicos para a demonstração de vários antígenos tissulares ou celulares, e o advento da recuperação antigênica, foram fatos marcantes na evolução da imuno-histoquímica (BODEY, 2002; ROSAI, 2004). Houve tal avanço na contribuição e na aplicação da imuno-histoquímica na patologia cirúrgica que o fenômeno passou a ser conhecido como a revolução marrom do laboratório de histopatologia (JAFFER & BLEIWEISS, 2004).

Apesar de ser um método relativamente simples, a imuno-histoquímica tem certas particularidades e seu resultado é influenciado por diversos fatores, começando pela fixação do espécime, passando pela escolha dos anticorpos a

serem analisados em cada caso e pelas reações propriamente ditas, e chegando até a interpretação das lâminas. Ou seja, o grau de utilidade e contribuição da imuno-histoquímica para resolução de problemas em patologia cirúrgica é diretamente proporcional à experiência das mãos que realizam as reações e dos olhos que interpretam os resultados (JAFFER & BLEIWEISS, 2004).

A imuno-histoquímica pode ser empregada como um marcador tumoral típico, além de permitir uma avaliação morfológica tecidual e um manuseio fácil das lâminas. Assinala também as linhagens de desenvolvimento de células e requer uma menor quantidade de tecido fresco para a sua realização (CERESINI *et al.*, 2006).

O emprego de diferentes anticorpos na imuno-histoquímica para a pesquisa de receptores de estrogênio alfa e beta, como ocorre atualmente, é interessante, pois aumenta a sensibilidade e a especificidade do método (CARUSO *et al.*, 2003).

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Delineamento do estudo**

Trata-se de um estudo horizontal e prospectivo, cujo objetivo principal foi avaliar o padrão de expressão do receptor de estrogênio por imuno-histoquímica com a técnica da streptoavidina-biotina-imunoperoxidase e anticorpos primários anti-receptor de estrogênio (anti-RE), em amostras de tecidos tireoidianos incluídos em parafina com diagnóstico histopatológico de bócio.

### **4.2 Pacientes**

Foram incluídos no estudo quarenta e nove pacientes atendidos nos Serviços de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-Facial do Hospital Universitário Getúlio Vargas (HUGV), Fundação Hospital Adriano Jorge (FHAJ) e Hospital Santa Júlia (HSJ), no período de março de 2008 a agosto de 2012.

#### 4.2.1 Seleção dos (as) pacientes

##### 4.2.1.1 Critérios de inclusão

Pacientes submetidos à tireoidectomia, com diagnóstico histopatológico de bócio, com registro de peso da peça cirúrgica, de ambos os sexos e de toda faixa etária;

##### 4.2.1.2 Critérios de exclusão

Pacientes submetidos à tireoidectomia com diagnóstico histopatológico de doença de Basedaw-Graves, tireoidites (tireoidite subaguda ou granulomatosa, tireoidite de Riedel, tireoidite de Hashimoto e outras), neoplasia de células de Hürthle

(adenomas e carcinomas), carcinoma (papilífero, folicular, medular, anaplásico e indiferenciado de pequenas células), linfoma primitivo da tireoide, sarcoma tireoideo e tumores metastáticos.

### 4.3 Tamanho da Amostra

O tamanho da amostra foi estimado em relação à incidência de bóciolos no Brasil, que segundo Ferraz e colaboradores (2002) é de aproximadamente 1%, e pela população da cidade de Manaus estimada por meio do CENSO 2010 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) que foi de 1.718.584. Considerando uma precisão de aproximadamente 2,8%, com 95% de confiança, obteve-se um tamanho de amostra de 49 pacientes.

O tamanho de amostra foi calculado utilizando-se a seguinte expressão matemática (FONSECA & MARTINS, 2006):

$$n = \frac{Z^2 \cdot \hat{p} \cdot \hat{q} \cdot N}{d^2 (N - 1) + Z^2 \cdot \hat{p} \cdot \hat{q}}$$

Onde:

$n$ : Tamanho estimado da população de Manaus-AM ( $N=1.718.584$ )

$\hat{p}$ : Casos incidentes de bóciolos no Brasil ( $\hat{p} = 0,01$ );

$\hat{q}$ : Os casos não incidentes de bóciolos no Brasil ( $\hat{q} = 0,99$ );

$d$ : Margem de erro ( $d = 0,028$ );

$Z$ : Coeficiente de confiança ( $Z = 95\%$ )

## 4.4 Procedimentos

### 4.4.1 Coleta das amostras

As amostras de tecido tireoidiano foram coletadas durante o ato cirúrgico (Tireoidectomia parcial ou total), pelo cirurgião responsável, participante deste estudo, no qual foi ressecado um espécime central, livre de necrose, do nódulo dominante suspeito da glândula tireoide, que em seguida foi acondicionado em criotubo devidamente identificado, congelado imediatamente em nitrogênio líquido, e armazenados em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ , para futuros estudos. A peça cirúrgica principal foi enviada para análise anatomopatológica.

### 4.4.2. Procedimento histopatológico

O material coletado (peça cirúrgica principal), oriundo das tireoidectomias, foi fixado em solução de formol a 10% e incluído em vários blocos de parafina, em no máximo 24 horas, para análise anatomopatológica (ROSAI, 2004). De cada bloco de parafina realizam-se cortes de 4 mm para preparação de duas lâminas coradas com a técnica de hematoxilina/eosina (HE); em seguida os blocos de parafina foram estocados para realização do exame de imuno-histoquímica, que ocorreu após o término da coleta das amostras.

### 4.4.3 Processamento imuno-histoquímico:

Toda parte imuno-histoquímica foi realizada no Laboratório de Imuno-histoquímica do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista (UNESP), sob a direção e a coordenação do Prof. Dr. Carlos Eduardo Bacchi .



Após a comprovação diagnóstica de bócio por meio do laudo anatomopatológico da peça cirúrgica, foi realizada a pesquisa imuno-histoquímica do receptor de estrogênio (não específico), a partir dos blocos de parafina estocados utilizados no exame histopatológico.

Para pesquisa dos receptores de estrogênio, os blocos de parafina foram cortados e confeccionados lâminas com 4 µm de espessura com o adesivo 3-aminopropiltriétoxissilane (ELIAS, MARGIOTTA, GABORC, 1989; SWANSON *et al.*, 1994).

Utilizou-se para a pesquisa dos receptores de estrogênio o anticorpo primário anti-RE (clone SP1 – mab rabbit – neomarkers RM 9101-S, PTLINK de 40 minutos, pH alto e diluição de 1:750). Estes anticorpos tem a capacidade de reagir especificamente com o terminal amino do receptor de estrogênio.

O Protocolo Imuno-histoquímico utilizou a técnica da streptavidina-biotina-peroxidase (StrepABC), de acordo com o princípio proposto por Hsu e colaboradores (1981):

1. O passo inicial foi realizado em PTLINK (DAKO), equipamento responsável pela desparafinização e recuperação antigênica dos tecidos parafinados, em tampão de pH alto.

2. As lâminas foram retiradas do equipamento e incubadas em solução de lavagem (Envision Flex Wash Buffer) salina tamponada com Tris contendo Tween 20 em pH 7.6, por cinco minutos.

3. Aplicação de solução de bloqueio de peroxidase por cinco minutos (Envision Flex peroxidase block) – tampão fosfato contendo peróxido de hidrogênio,  $\text{NaN}_3$  e detergente.

4. Solução de lavagem por cinco minutos.
5. Aplicação do anticorpo primário (incubar overnight)
6. Solução de lavagem por cinco minutos.
7. Aplicação de polímero (Envision Flex/HRP) – dextran acoplado com moléculas de peroxidase e anticorpo secundário direcionado contra imunoglobulinas de coelho e camundongo.
8. Solução de lavagem por cinco minutos.
9. Aplicação de solução de trabalho (Envision Flex Substrate Working Solution – DAB mais solução tamponada contendo peróxido de hidrogênio)
10. Solução de lavagem por cinco minutos.
11. Contracoloração com hematoxilina.
12. Montagem com lamínula e resina sintética para microscopia de luz.

#### **4.5 Controle das amostras:**

O controle positivo de cada reação foi feito através da incubação de cada anticorpo (anti-RE) em cortes de tecido que sabidamente expressam o anticorpo estudado (carcinoma ductal de mama). O controle positivo foi submetido simultaneamente ao tecido tireoidiano em estudo. O controle negativo foi excluído da pesquisa imuno-histoquímica em tecido tireoidiano.

#### **4.6 Critérios de avaliação imuno-histoquímica das amostras (Procedimento qualitativo):**

As lâminas dos bócios foram examinadas em microscopia ótica de luz por um patologista experiente, e adotou-se o critério qualitativo para análise e apresentação final dos resultados da reação imuno-histoquímica: coloração positiva (presença de reação) ou negativa (ausência de reação), segundo determinação do National Institutes of Health – EUA (DABBS, 2002).

A imunorreatividade positiva para receptores de estrógeno foi identificada pela presença de precipitado castanho escuro no citoplasma ou no núcleo das células do tecido tireoidiano, independentemente de sua intensidade, sendo esta avaliação feita utilizando-se microscópio (ROSAI, KUHN, CARCANJIU, 2006).

Os cortes histológicos corados por HE e submetidos ao procedimento imuno-histoquímico foram analisados em microscópio de luz Olympus Optical CO, LTD., (Japan, 120 v, 0,24 A, 60 Hz), e fotografados em microscópio de luz Zeiss (Germany).

#### **4.7 Análise estatística**

Os dados foram tabulados no programa Excel e analisados por meio do programa estatístico MINITAB versão 14.1. Foi realizada análise descritiva e exploratória dos dados. Os mesmos foram apresentados em tabelas de distribuição de frequências e gráficos. A correlação entre o exame anatomopatológico e a análise imuno-histoquímica dos pacientes, bem como entre a idade a análise imuno-histoquímica foram encontradas por meio do coeficiente de Correlação Paramétrica

de Pearson, e a relação entre o gênero e a análise imuno-histoquímica foi obtida por meio do teste Exato de Fisher, considerando um nível de 5% de significância.

#### **4.8 Ética**

O presente estudo foi submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Fundação Hospital Adriano Jorge (CEP-FHAJ) e registrado sob o número CAAE – 0022.0.193.000-07, em obediência da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos (CONEP), e do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde, obtendo parecer de aprovado (Anexo 1). Todos os pacientes foram devidamente informados que participavam da presente investigação, e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 3) por escrito, segundo resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, doando uma amostra do tumor removido cirurgicamente.

## 5 RESULTADOS

A casuística consta de quarenta e nove pacientes, cadastrados em nosso banco de dados, com as características clínicas e anatomopatológicas apresentadas na Tabela 1.

No.	GÊNERO	IDADE	ANATOMOPATOLÓGICO	IMUNO-HISTOQUÍMICA
1	F	52	Bócio coloide	Negativo
2	M	58	Bócio coloide multinodular	Negativo
3	M	65	Bócio coloide	Negativo
4	F	63	Bócio adenomatoso	Negativo
5	F	33	Bócio coloide multinodular	Negativo
6	F	68	Bócio adenomatoso	Negativo
7	F	56	Bócio adenomatoso	Negativo
8	F	54	Bócio coloide	Negativo
9	F	45	Bócio adenomatoso	Negativo
10	F	47	Hiperplasia multinodular	Negativo
11	F	49	Bócio coloide multinodular	Negativo
12	F	37	Bócio coloide	Negativo
13	F	54	Bócio coloide	Negativo
14	F	87	Bócio coloide	Negativo
15	F	31	Bócio coloide	Negativo
16	F	60	Bócio adenomatoso	Negativo
17	F	55	Bócio coloide	Negativo
18	F	56	Bócio micronodular	Negativo
19	F	53	Bócio adenomatoso	Negativo
20	F	47	Bócio coloide	Negativo
21	F	54	Bócio multinodular	Negativo
22	F	45	Bócio multinodular	Negativo

23	F	62	Hiperplasia multinodular	Negativo
24	F	53	Hiperplasia multidodular	Negativo
25	F	43	Bócio coloide	Negativo
26	F	47	Hiperplasia multinodular com	Negativo
27	F	52	Bócio coloide	Negativo
28	F	58	Bócio multinodular	Negativo
29	M	51	Bócio coloide	Negativo
30	F	49	Bócio coloide	Negativo
31	F	47	Bócio coloide multinodular	Negativo
32	F	54	Bócio coloide	Negativo
33	M	55	Bócio coloide	Negativo
34	F	76	Bócio coloide multinodular	Negativo
35	F	36	Hiperplasia multinodular	Negativo
36	M	53	Bócio coloide difuso	Negativo
37	F	49	Bócio adenomatoso com	Negativo
38	F	61	Nódulo coloide hipercelular	Negativo
39	F	51	Bócio coloide	Negativo
40	M	67	Bócio coloide	Negativo
41	F	52	Bócio coloide	Negativo
42	F	51	Bócio coloide	Negativo
43	F	44	Bócio multinodular	Negativo
44	F	51	Bócio coloide	Negativo
45	M	46	Bócio coloide nodular	Negativo
46	F	45	Bócio coloide	Positivo
47	F	59	Bócio coloide	Negativo
48	F	47	Bócio adenomatoso	Positivo
49	F	52	Bócio multinodular	Negativo

Tabela 1: Características clínicas e anatomopatológicas dos 49 pacientes.

Desses pacientes, apenas sete (14,3%) são de gênero masculino, enquanto 42 (85,7%) são de gênero feminino, o que corresponde à maioria dos pacientes (Gráfico 1).

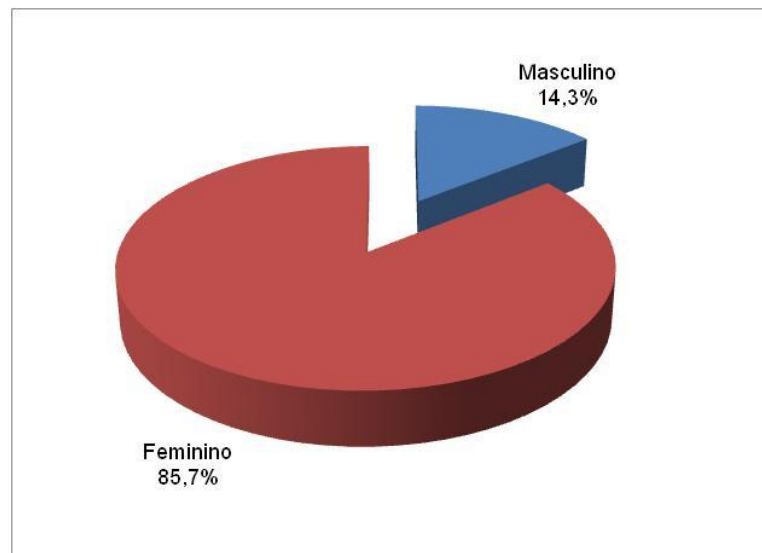


Gráfico 1: Distribuição por gênero dos pacientes avaliados

Com relação à idade, conforme apresentado no Gráfico 2, a maioria dos pacientes está na faixa etária de 42 a 52 anos (22 pacientes), enquanto que a minoria está acima de 74 anos de idade (dois pacientes). A idade mínima entre os pacientes foi de 31 anos e máxima de 87 anos, com média de 53 anos.

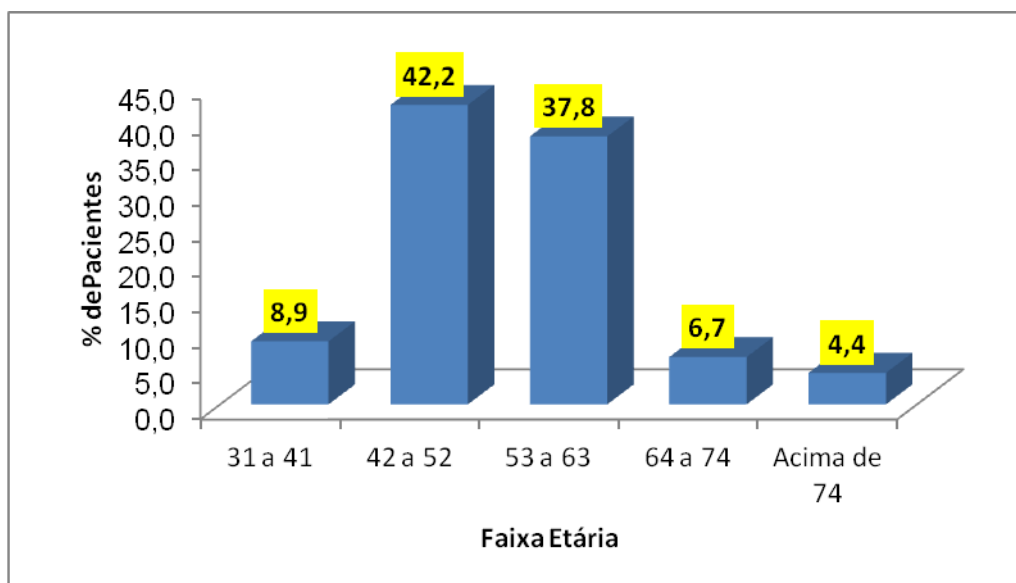


Gráfico 2: Distribuição por faixa etária dos pacientes avaliados

Das 42 pacientes de gênero feminino, 20 (47,6%) encontravam-se na faixa etária de 42 a 52 anos de idade, enquanto que dos sete pacientes de gênero masculino, três (42,9%) estavam-se entre 53 e 63 anos de idade (Tabela 2).

FAIXA ETÁRIA (em anos)	GÊNERO				TOTAL
	Feminino	%	Masculino	%	
31 a 41	4	9,5	0	0,0	4
42 a 52	20	47,6	2	28,6	22
53 a 63	14	33,3	3	42,9	17
54 a 74	2	4,8	2	28,6	4
Acima de 74	2	4,8	0	0,0	2
<b>TOTAL</b>	<b>42</b>	<b>100,0</b>	<b>7</b>	<b>100,0</b>	<b>49</b>

Tabela 2: Faixa etária e gênero dos pacientes avaliados

Quanto ao exame anatomopatológico, 29 (61,7%) pacientes apresentaram bócio coloide, um (2,1%) apresentou bócio micronodular, e um (2,1%) apresentou nódulo coloide, sendo esses dois últimos os menos frequentes encontrados entre os pacientes avaliados (Gráfico 3).



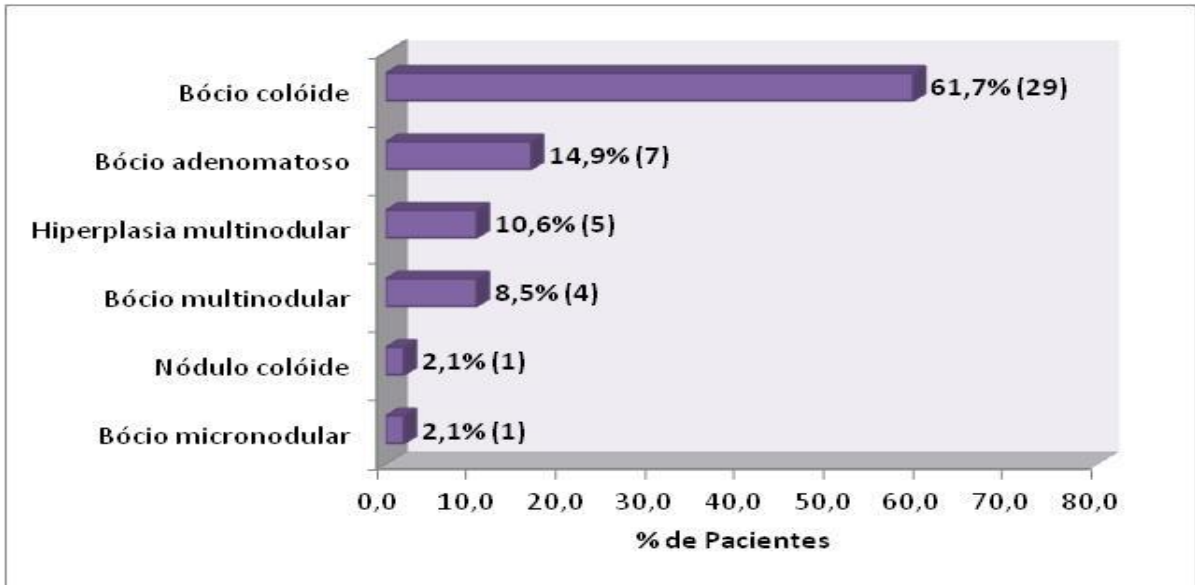


Gráfico 3: Resultado dos exames anatomopatológicos dos pacientes avaliados.

Quanto a análise imuno-histoquímica dos pacientes, verificou-se que dois deles (4,1%) apresentaram positividade para o receptor de estrogênio, enquanto que 47 (95,9%) apresentaram resultado oposto (Gráfico 4).

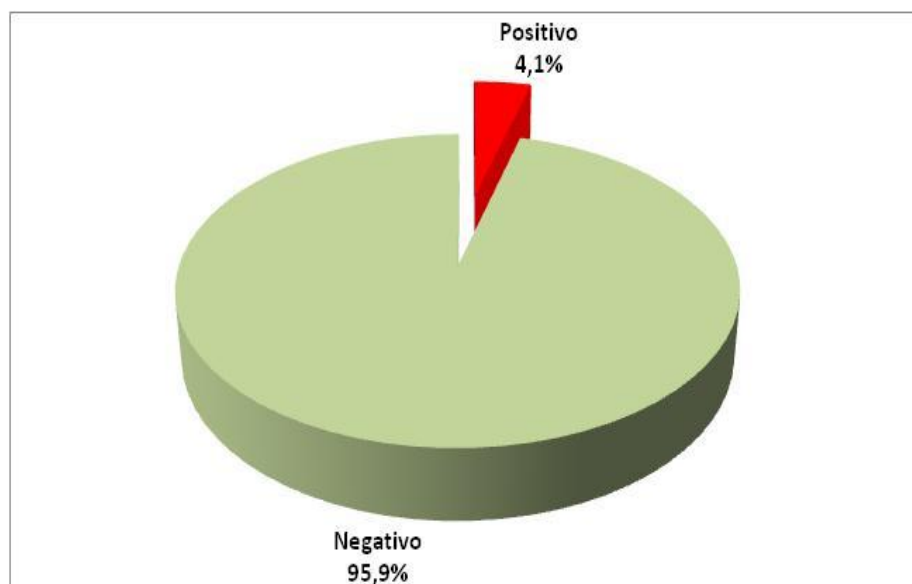


Gráfico 4: Resultado da análise imuno-histoquímica dos pacientes

Das quarenta e duas pacientes da casuística, 22 (52,4%) apresentaram Bócio Coloide ao anatomopatológico, enquanto que no gênero masculino, todos os sete (100%) pacientes apresentaram o referido diagnóstico (Tabela 3).

ANATOMOPATOLÓGICO	GÊNERO				TOTAL
	Feminino	%	Masculino	%	
Bócio adenomatoso	8	19,0	0	0,0	8
Bócio colóide	22	52,4	7	100,0	29
Bócio micronodular	1	2,4	0	0,0	1
Bócio multinodular	5	11,9	0	0,0	5
Hiperplasia multinodular	5	11,9	0	0,0	5
Nódulo colóide	1	2,4	0	0,0	1
<b>TOTAL</b>	<b>42</b>	<b>100,0</b>	<b>7</b>	<b>100,0</b>	<b>49</b>

Tabela 3: Distribuição dos resultados dos exames anatomopatológicos e o gênero dos pacientes avaliados.

De acordo com a Tabela quatro, a correlação observada entre o exame anatomopatológico e a análise imuno-histoquímica foi fraca e negativa (Correlação de Pearson = - 8,4% ).

HISTOPATOLOGIA	IMUNOHISTOQUÍMICA				TOTAL
	Positivo	%	Negativo	%	
Bócio adenomatoso	1	50,0	7	14,9	8
Bócio colóide	1	50,0	28	59,6	29
Bócio micronodular	0	0,0	1	2,1	1
Bócio multinodular	0	0,0	5	10,6	5
Hiperplasia multinodular	0	0,0	5	10,6	5
Nódulo colóide	0	0,0	1	2,1	1
<b>TOTAL</b>	<b>2</b>	<b>100,0</b>	<b>47</b>	<b>97,9</b>	<b>49</b>

Nota: p-valor: -8,84%

Tabela 4: Correlação entre o exame anatomopatológico e a análise imuno-histoquímica dos pacientes.

Ao verificar a relação entre o gênero e a análise imuno-histoquímica, não foram encontradas evidências de que exista relação entre as referidas variáveis, embora 100% dos casos positivos sejam de gênero feminino, considerando um nível de 5% de significância, por meio do teste Exato de Fisher (Tabela 5).

GÊNERO	IMUNOHISTOQUÍMICA				TOTAL
	Positivo	%	Negativo	%	
Feminino	2	100,0	40	85,1	42
Masculino	0	0,0	7	14,9	7
<b>TOTAL</b>	<b>2</b>	<b>100,0</b>	<b>47</b>	<b>100,0</b>	<b>49</b>

p-valor = 0,732

Tabela 5: Correlação entre o gênero e a análise imuno-histoquímica dos pacientes.

Considerando a idade e a análise imuno-histoquímica, observou-se que há uma correlação razoável negativa entre as referidas variáveis (Correlação de Pearson – 13,9%). Os dois casos positivos estavam na faixa etária de 42 a 52 anos, conforme apresentado na Tabela 6.

FAIXA ETÁRIA (em anos)	IMUNOHISTOQUÍMICA				TOTAL
	Positivo	%	Negativo	%	
31 a 41	0	0,0	4	8,5	4
42 a 52	2	100,0	20	42,6	22
53 a 63	0	0,0	17	36,2	17
54 a 74	0	0,0	4	8,5	4
Acima de 74	0	0,0	2	4,3	2
<b>TOTAL</b>	<b>2</b>	<b>100,0</b>	<b>47</b>	<b>100,0</b>	<b>49</b>

Tabela 6: Correlação entre a faixa etária e a análise imuno-histoquímica dos pacientes

## 6 DISCUSSÃO

Desde 1896, quando George Beatson observou que mulheres portadoras de tumores de mama e submetidas à ooforectomia apresentavam redução do tumor (CUNHA *et al.*, 2004), iniciaram-se os estudos para avaliar o papel desempenhado pelos hormônios na carcinogênese. Com a observação de Beatson, o hormônio que passou a ser alvo das pesquisas foi o estrogênio, e o modelo de carcinogênese hormonal que se tornou mais detalhado e compreendido foi o de mama, o que possibilitou o surgimento de importantes marcadores prognósticos e o estabelecimento de terapias anti-hormonais (GRAIQ *et al.*, 2007).

A partir de então, buscou-se compreender o mecanismo pelo qual o estrogênio e outros hormônios esteroides poderiam atuar nas vias da carcinogênese.

Em 2005, o Comitê de Consenso em Tratamentos Adjuvantes para câncer de mama em fase inicial recomendou que a primeira consideração na seleção do tipo fosse à resposividade endócrina. O reconhecimento desse fato aumentou a relevância da avaliação patológica quanto às informações biológicas.

Mulheres que apresentam câncer de mama, aproximadamente 2/3 possuem receptores estrogênicos (RE +). A incidência dessas neoplasias positivas é maior em mulheres na pós-menopausa do que na pré-menopausa. As neoplasias de mama que apresentam esses receptores possuem um prognóstico relativamente satisfatório e maior probabilidade de obter benefício da terapia hormonal. A pesquisa da presença do RE no carcinoma primário de mama é um importante indicador de prognóstico, pois a ausência do RE indica alta probabilidade de recorrência e curta sobrevida (GRAIQ *et al.*, 2007).

É conhecida a analogia estatística entre as patologias mamárias e tireoidianas, no qual ambas apresentam maior incidência sexo feminino. Tal analogia nos guiou a este estudo no sentido avaliar a expressão do RE nos bócios.

Poucos estudos existem na Amazônia a despeito do bócio. Os Inquéritos epidemiológicos nacionais realizados em 1973, 1983 e 2003 sobre a prevalência de bócios em escolares através da iodúria, demonstraram diminuição significativa (até 80%) no número de casos. No entanto, esses mesmos inquéritos relatam números expressivos de pacientes com aumento da glândula tireoide na Amazônia.

O presente estudo demonstrou que as características dos nossos pacientes não diferiram da literatura, no que concerne a maior incidência no sexo feminino (85,7%) e a idade média de acometimento (53 anos).

A alta incidência de patologias da tireoide entre as mulheres é uma característica complexa a ser entendida. No entanto, fatores como o desequilíbrio dos hormônios femininos, poderiam explicar a alta incidência de desenvolvimento de nódulos tireoidianos entre as mulheres (HERNANDES, CÉSPEDES, XAMENA, 2003). Por outro lado, fatores nutricionais, especialmente as dietas deficientes de iodo, a exposição terapêutica a radiação e as falhas nos sistemas de controle do ciclo celular estariam associados com a carcinogênese tireoidiana, além do polimorfismo genético (LIMA *et al.*, 2007). Entretanto, os bócios coloides não são considerados neoplasias verdadeiras, apesar de também estarem associados a dietas deficientes de iodo (BOTELHO *et al.*, 2007; BOTELHO *et al.*, 2009).

Por outro lado, autores como Krohn e colaboradores (2005) afirmam que a maioria dos componentes do bócio simples são de tecidos neoplásicos, e não puramente hiperplásicos secundários à deficiência de iodo. Apesar do grande avanço no entendimento desses aspectos patogênicos, estudos adicionais com

enfoque na proliferação e no controle do crescimento celular serão importantes na compreensão dos mecanismos etiopatogênicos do BMN com implicações terapêuticas futuras.

O bócio é caracterizado pela heterogeneidade na função e crescimento das células foliculares. O bócio esporádico e o endêmico são fundamentalmente a mesma patologia da glândula tireoide. Desse modo, a etiologia do bócio deve ser explicada no próprio tireócito, em analogia com a maioria das neoplasias.

A maior incidência do bócio entre as mulheres provavelmente seja relacionada não só com fatores genéticos, mas também com os hormônios sexuais femininos. O estrogênio tem a capacidade de estimular o crescimento de células tireoidianas normais de camundongo (FURLANETTO *et al.*, 1999) como também de células cancerígenas (MANOLE *et al.*, 2001), o que ajudaria a explicar a maior incidência de bócio entre as mulheres. Já os receptores de estrogênio são responsáveis pela mediação dos efeitos do estrogênio nos tecidos reprodutivos e não reprodutivos.

Grimaldi e colaboradores (2002) afirmam que o estrogênio pode contribuir com as desordens autoimunes, que também ocorrem com grande frequência no sexo feminino. Nesse caso, a susceptibilidade a doenças autoimunes endócrinas é poligênica, e outras variantes genéticas permitem a diferenciação da predisposição com a interação gênica.

As doenças autoimunes tireoidianas que afetam de 2% a 5% da população geral, especialmente mulheres adultas e idosas, permanecem com sua etiologia desconhecida, mas a interação entre a susceptibilidade genética e fatores ambientais parece ser de fundamental importância no seu desenvolvimento (SGARB & MACIEL, 2009).

Muitas doenças complexas são determinadas por três fatores principais: o estilo de vida, a exposição ambiental e a susceptibilidade genética (SGARB & MACIEL, 2009).

Em nosso estudo, 95,9% dos pacientes apresentaram imunexpressão negativa para o receptor de estrogênio. Esta praticamente ausência de imunorreatividade, sugere uma não associação entre o hormônio estrogênio (que depende do RE para atuar) e o surgimento do bócio colóide (normalmente o RE está presentes em tecidos tireoidianos normais). Entretanto, vale ressaltar que existem vias não genômicas do estrogênio, representados pelos receptores de estrogênio de membrana ligados a proteína G, que podem ativar a transcrição gênica.

Com relação aos inúmeros resultados nos exames anatomopatológicos descritos, todos são considerados sinônimos de bócios e, portanto, foram incluídos na casuística.

Neste estudo foi identificado um paciente com diagnóstico de bócio de grande volume; apresentava gênero masculino, idade de 53 anos e imunoreação negativa para o receptor de estrogênio. Não foi possível estabelecer uma correlação entre sua patologia e o referido marcador, em virtude da baixa casuística.

Para a detecção e quantificação do RE, optou-se pela imuno-histoquímica, constituindo-se, hoje, método de escolha.

A imuno-histoquímica permite a identificação dos receptores de estrogênio em sede intranuclear e intracitoplasmática, e determinação quantitativa e qualitativa. Essa técnica permite elevada sensibilidade. Contudo, deve-se ressaltar que a avaliação quantitativa (descrito em cruzes) ou qualitativa (presença ou ausência da imunocoloração) do resultado está condicionada a inúmeros fatores intrínsecos ao próprio método, como a escolha do anticorpo específico, a diluição a ser utilizada, a

eficácia do procedimento de recuperação da antigenicidade tissular, a escolha do sistema de detecção, do tempo e, da temperatura de incubação.

No presente estudo, optamos pelo método qualitativo na análise e apresentação final dos resultados da reação imuno-histoquímica, segundo determinação do National Institutes of Health – EUA (DABBS, 2002). A escolha por esse método pelo referido instituto, deveu-se as inúmeras controvérsias a despeito do resultado do exame: desde diversos sistemas de pontuação baseados no percentual e na intensidade da coloração, até percentuais simples de células neoplásicas positivas.



## 7 CONCLUSÃO

No presente estudo verifica-se que não existe uma relação direta entre o desenvolvimento do bócio e a presença do receptor de estrogênio na glândula tireoide. A não expressão dessa proteína verificada na maioria das amostras, sugere outras vias ou mecanismos ainda não conhecidos estão envolvidos na gênese dos bócios.

Poucos estudos foram realizados até o momento sobre a relação do papel desempenhado do receptor de estrogênio na glândula tireoide com relação ao surgimento do bócio. Dessa forma, investigações mais profundas se fazem necessárias para esclarecer essas questões.

A correlação entre o receptor de estrogênio com o gênero dos pacientes não foi possível de ser estabelecida devido à baixa casuística dos pacientes do gênero masculino (sete pacientes) comparados com os do gênero feminino (42 pacientes).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAKER, Vicki V.; MARTINEZ-MAZA, Otoniel; BEREK, Jonathan S. Novak **Tratado de Ginecologia, Biologia e Genética Molecular**. 13 ed. Guanabara Koogan S.A, Cap. 6, p. 116, 2005.

BAKKER, J.; BAUM, M. J. **Role for estradiol in female-typical brain and behavioral sexual differentiation**. Front Neuroendocrinol. n. 29(1), p. 1-16, Jan. 2008. Epub 26, jul., 2007.

BARDIN, A.; BOULLE, N.; LAZENNEC, G.; VIGNON, F.; PUJOL, P. **Loss of ERbeta expression as a common step in estrogen-dependent tumor progression**. Endocr. Relat. Cancer. 11(3), p. 537-551, 2004.

BODEY, B. **The significance of immunohistochemistry in the diagnosis and therapy of neoplasms**. Expert Opin. Biol. Ther, v. 2, n. 4, p. 371-93, 2002.

BOTELHO, João Bosco Lopes. **Incisão em U: nova via de acesso aos bóciós de grande volume**. Prêmio e Medalha Franz Escher. Centenário de Kocher. 94º Congresso Suíço de Otorrinolaringologia e Cirurgia Cérvico-facial. Berna. 2007.

BOTELHO, João Bosco Lopes; ANJOS, Gecildo Soriano dos; GOMES, Juber Machado; PIRES, Givanildo de Pádua; FERREIRA, Daniele Memória; MELO, Fernando Bezerra de; LEITE, Tarick de Oliveira. **Relações anatômicas das glândulas paratireoides cervicais com a tireoide: estudo em 53 tireoidectomias**. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, 35(2), p. 75, 2008.

BOTELHO, João Bosco; CATTEBEKE, L. C. H.; CATTEBEKE, T. M. H.; ANJOS, Gecildo Soriano dos; OLIVEIRA, V. S.; LIMA, R. M.; BARBOSA, M. F.; AGUIAR, G. M. **Histopathologie de 573 thyroïdectomies réalisées entre 1976 a 1998**. Manaus-Brésil. Oto-Rhino-Laryngologie Française, 66(2):47-49, 2001.

BOTELHO, João Bosco; ANJOS, Gecildo Soriano dos; PIRES, G. P.; FERREIRA, D. M. R.; LEITE, T. O.; RESENDE, G. A. S. **Protocolo anatomicocirúrgico das relações entre os nervos laringeos recorrentes e as artérias tireoideas inferiores: estudo em 79 tireoidectomias**. Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, v. 34, n. 3, p. 142-6, Maio-junho, 2007.

BOTELHO, João Bosco Lopes; NETO, José Cardoso; ANJOS, Gecildo Soriano dos; CARVALHO, Diego Monteiro de; MELO, Yanna da Silva de; JÚNIOR, Emanuel Gomes dos Santos; JÚNIOR, Eduardo Fernandes da Silva. **Relações do ramo externo do nervo laringeo superior com a artéria tireoidea superior: Estudo em 101 nervos.** Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, v. 36, n. 3, 2009.

BRYANT, H. **Selective estrogen receptor modulators.** Ver. Endocr. Metab. Dis., 3:231-41, 2002.

CAI, Q.; GAO, Y. T.; WEN, W.; SHU, X. O.; JIN, F.; SMITH, J. R.; ZHENG, W. **Association of breast cancer risk with a GT dinucleotide repeat polymorphism upstream of the estrogen receptor-alpha gene.** Cancer Res., 15, 63(18):5727-30. Sep. 2003.

CARRUBA, G. **Estrogen and prostate cancer: An eclipsed truth in an androgen-dominated scenario.** Journal of Cellular Biochemistry. n. 102, p. 899-911, 2007.

CARUSO, S.; ROCCASALVA, L.; FAZIO, E.; SAPIENZA, G.; AGNELLO, C.; FICARRO, S. *et al.* **Cytologic aspects of the nasal respiratory epithelium in postmenopausal women treated with hormone therapy.** Fertil Steil, 79(3):543-9, 2003.

CARRUBA, G. **Estrogen and prostate cancer: an eclipsed truth in an androgen dominated scenario.** Journal of Cellular Biochemistry. n. 102, p. 899-911, 2007.

CERESINI, G.; MORGANTI, S.; GRAIANI, M.; MILLI, B.; USBERTI, E.; VALENTI, G.; CEDA, G. P.; CORCIONE, L. **Estrogen receptor (ER) Beta, but not ER-alpha, is present in thyroid vessels: immunohistochemical evaluations in multinodular goiter and papillary thyroid carcinoma.** Thyroid, 16(12): 1215-20, 2006.

CHAMMAS, M. C.; GERHARD, R.; OLIVEIRA, I. R.; WIDMAN, A.; BARROS, N. DURAZZO, M., *et al.* **Thyroid nodules: evaluation with power Doppler and duplex Doppler ultrasound.** Otolaryngology. Head Neck Surg., 132:874-82, 2005.

CHENG, Y. S., MUES, G.; WOOD, D.; DING, J. **Aromatase expression in normal human keratinocytes and oral squamous cells carcinoma.** Arch. Oral Biol. P. 51(7): 612-620, 2006.

CLEATOR, S.; ASHWORTH, A. **Molecular profiling of breast cancer: clinical implications.** British Journal of Cancer, 90 (6), p. 1120-1124, 2004.

CORRÊA-FILHO, Heleno Rodrigues; VIEIRA, João Batista Furtado; SILVA, Yara Simoni Pereira; COELHO, Giovanini Evelim; CAVALCANTE, Felicidade dos Anjos; PEREIRA, Maria da Luz Luna. **Inquérito sobre a prevalência de bócio endêmico no Brasil em escolares de 6 a 14 anos: 1994 a 1996.** Rev. Panam. Salud Publica/Pan. Am. J. Public Health. 12 (5), p. 317-326, nov. 2002.

COTRAN, R. **Câncer de mama.** 8 ed., Elsevier, 1480 p. 2010. Robbins & Cotran Patologia Bases Patológicas das Doenças.

CUNHA, G. R.; RICKE, W.; THOMSON, A.; MARKER, P. C.; RISBRIDGER, G.; HAYWARD, S. W. **Hormonal cellular and molecular regulation of normal and neoplastic prostatic development.** J. Steroid Biochem, Mol. Biol., 92 (4), p. 221-236, Dez. 2004.

CZAJKA-ORANIEC, I; SIMPSON, E. R. **Aromatase research and its clinical significance.** Endokrynol Pol. 61(1), p. 126-134, 2010.

DABBS, David J. **Diagnostic immunohistochemistry.** 1 ed. Churchill Livingstone, 2002.

DEAN, D. S.; GHARIB, H. **Epidemiology of thyroid nodules.** Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab., 22(6), p. 901-911, 2008.

DENARDIN, O. V. P. **Avaliação laboratorial das tireoideopatias.** In: Brasilino M. B. Tratado de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia. São Paulo, Atheneu, v. 1, 561-571, 2001.

DEROO, B. J.; KORACH, K. S. **Estrogen receptors and human disease.** J. Clin. Invest. n. 116, p. 561-570, 2006.

DIEL, P. **Tissue-specific estrogenic response and molecular mechanisms.** Toxicol. Lett., 127(1-3):217-24, Feb. 2002.

DUARTE, G. C.; TOMIMORI, E. K.; BORIOLI, R. A.; FERREIRA J. E.; CATARINO, R. M.; CAMARGO, R. Y. A.; MEDEIROS-NETO, G. **Avaliação ultra-sonográfica da tireoide e determinação da iodúria em escolares de diferentes regiões do**

**Estado de São Paulo.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia. 40(6), dez., 2004.

DUNN, J. T. **Nutrient composition for fortified complementary foods – Iodine should be routinely added to complementary foods.** The Journal of Nutrition. n. 133, p. 3008s-3010s, 2003.

ELIAS, J. M.; MARGIOTTA, M.; GABORC, D. **Sensitivity and detection efficiency of the peroxidase antiperoxidase (PAP), avidin-biotin peroxidase complex (ABC), and peroxidase-labeled avidin-biotin (LAB) methods.** Am. J. Clin. Pathol., n. 92, p. 62-67, 1989.

EGAWA, C.; MIYOSHI, Y.; IWAO, K.; SHIBA, E.; NOGUCHI, S. **Quantitative analysis of estrogen receptor-alpha and beta messenger RNA expression in normal and malignant thyroid tissues by real-time polymerase chain reaction.** Oncology, 61(4):293-8, 2001.

FERRAZ, A. R.; BRANDÃO, L. G. **Bócios simples.** In: Brandão L. G., Ferraz, A. R. Cirurgia de Cabeça e Pescoço. São Paulo: Roca, v. 1, p. 569-581, 1989.

FERRAZ, A. R.; CODEIRO, A. C.; BRANDÃO, L. G.; SILVA, FILHO, G.; CERNEA, C. R.; MEDINA DOS SANTOS, L. R. **Atualização e comparação dos perfis observados em pacientes submetidos à tireoidectomias numa mesma instituição no período de 45 anos.** Revista Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço, 29:15-9, 2002.

FONSECA, Jairo Simon da; MARTINS, Gilberto de Andrade Atlas. **Curso de Estatística.** 6º Ed. São Paulo: ATLAS, 2006.

FORSTI, A.; ZHAO, C.; ISRAELSSON, E.; DAHLMAN, Wright K.; GUSTAFSSON, J. A.; HEMMINKI, K. **Polymorphisms in the estrogen receptor beta gene and risk of breast cancer: no association.** Breast Cancer Res. Treat., 79 (3), p. 409-13, jun. 2003.

FURLANETTO, T. W.; NGUYEN, L. Q.; JAMESON, J. L. **Estradiol increases proliferation and down-regulates the sodium/iodide symporter gene in FRTL-5 cells.** Endocrinology, v. 140, p. 5705-5711, 1999.

GENNARI, L.; BECHERINI, L.; FALCHETTI, A.; MASI, L.; MASSART, F.; BRANDI, M. L. **Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms.** J. Steroid Biochem. Mol. Biol., (81) 1-24, 2002.

GRAIQ, Jordan V.; LEWIS-WAMBI, J.; KIM, H.; CUNLIFFE, H.; ARIAZI, E.; SHARMA, C. G.; SHUPP, H. A.; SWABY, R. **Exploiting the apoptotic actions of estrogen to reverse antihormonal drug resistance in estrogen receptor positive breast cancer patients.** The Breast, 16(2), p. 105-113, dez, 2007.

GHOSH, D.; GRISWOLD, J.; ERMAN, M.; PANGBORN, W.; **Structural basis for androgen specificity and estrogen synthesis in human aromatase.** Nature, 457(7226), p. 219-23, 2009.

GRAF, Hans. **Doença nodular da tireoide.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia, v. 48, n. 1, fev. 2004.

GRIMALD, C. M.; CLEARY, J.; DAGTAS, A. S.; MOUSSAI, D.; DIAMOND, B. **Estrogen alters thresholds for B cell apoptosis and activation.** J. Clin. Invest. n. 109 (12), p. 1625-1633, Jun. 2002.

HAN, W.; KANG, D.; LEE, K. M.; KIM, H. J.; AHN, S. J.; KIM, S. W.; CHUNG, K. W.; LEE, E. S.; NOH, D. Y. **Full sequencing analysis of estrogen receptor-alpha gene polymorphism and its association with breast cancer risk.** Anticancer Res., 23(6C):4703-7, Nov-Dec. 2003.

HEGEDÜS, L. **The thyroid nodule.** N. Engl. J. Med., 351 (17), p. 1764-1771, 2004.

HEGEDÜS, L.; BONNENA, S. J.; BENNEDBAEK, F. N. **Management of Simple Nodular Goiter: Current Status and Future Perspectives.** Endocr. Ver., v. 24, p. 102-32, 2003.

HENEGHAN, A. F.; CONNAGHAN-JONES, K. D.; MIURA, M. T.; BAIN, D. L. **Cooperative DNA binding by the B-isoform of human progesterone receptor:**

**thermodynamic analysis reveals strongly favorable and unfavorable contributions to assembly.** *Biochemistry*, 45(10), p. 3285-3286, 2006.

HERNÁNDES, A.; CÉSPEDES, A.; XAMENA, N. **Glutathione S-transferase polymorphisms in thyroid cancer patients.** *Can. Lett.* n. 190, p. 37-44, 2003.

HSU, S.; RAIME, L.; FANGER, H. **The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase.** *Am. J. Clin. Pathol.*, v. 75, p. 816, 1981.

IKEDA, K.; INOUE, S. **Estrogen receptors and their downstream targets in cancer.** *Arch. Histol. Cytol.* v. 67, n. 5, p. 435-42, 2004.

ISHIDA, H.; WADA, K.; MASUDA, T.; OKURA, M.; KOHAMA, K.; SANO, Y. **Critical role of estrogen on anoikis and invasion of squamous cell carcinoma.** *Cancer Sci.* v. 98, n. 5, p. 636-46, 2007.

JAFFER, S.; BLEIWEISS, I. J. **Beyond hematoxylin and eosin: the role of immunohistochemistry in surgical pathology.** *Cancer Invest.*, v. 22, n. 3, p. 445-65, 2004.

JORDAN, V. C. **Selective estrogen receptor modulation: concept and consequences in cancer.** *Cancer Cell.*, 5(3):207-13, Mar. 2004.

KANG, H. J.; KIM, S. W.; KIM, H. J.; AHN, S. J.; BAE, J. Y.; PARK, S. K.; KANG, D.; HIRVONEN A.; CHOE K. J.; NOH D.Y. **Polymorphisms in the estrogen receptor-alpha gene and breast cancer risk.** *Cancer Lett.*, 178(2):175-80, Apr. 2002.

KROHN, K.; FÜHRER, D.; BAYER, Y.; ESZLINGER, MARKUS; BRAUER, VOLKER; NEUMANN, SIZANNE; PASCHKE, RALF. **Molecular pathogenesis of euthyroid and toxic multinodular goiter.** *Endocrine Reviews*, v. 26, n. 4, p. 504 – 524, 2005.

KU, T. K. S., CROWE, D. L. **Coactivator-mediated estrogen response in human squamous cell carcinoma lines.** Journal of Endocrinology. 193(1), p. 147-155, 2007.

KAWABATA, W.; SUZUKI, T.; MORIYA, T.; FUJIMORI, K; NAGANUMA, H; INOUE, S; KINOUCI, Y; KAMEYAMA, K; TAKAMI, H; SHIMOSEGAWA, T; SASANO, H. **Estrogen receptors (alpha and beta) and 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 2 in thyroid disorders: possible in situ estrogen synthesis and actions.** Mod. Pathol., 16(5):437-44, May 2003.

LEWY, Trena I. **Estrogen and progesterone receptors in neoplasm and non-neoplasm thyroid lesions.** Pol. J. Pathol., v. 52, p. 67-72, 2007.

LIMA, M. A.; FAGUNDES, T. A.; RAFFAELI, A. M.; FERREIRA, B. P.; RESENDE, E. M.; FONSECA, E. C. R.; BORGES, M. F. **Alcoolização de nódulo tireoidiano em região endêmica de bócio colóide.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia. 51(6), p. 1007-1012, 2007.

LI, A. J.; BALDWIN, R. L.; KARLAN, B. Y. **Estrogen and progesterone receptor subtype expression in normal and malignant ovarian epithelial cell cultures.** Am. J. Obstet. Gynecol., 189(1), p. 22-27, 2003.

MAIA, Frederico; ARAÚJO, Levimar R. **Bócio Mergulhante - Quando Operar ?** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia. V. 46, n. 6, Dezembro 2002.

MATSUO, S. E.; MARTINS, L.; LEONI, S. G.; HAJJAR, D.; RICARTE – FILHO, J. C. M.; EBINA, K. N.; KIMURA, E. T. **Marcadores biológicos tireoidianos.** Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, 48(1), p. 114-125, 2004.

MATTHEWS, J.; GUSTAFSSON, J. A. **Estrogen signaling: a subtle balance between ER alpha and ER beta.** Mol. Interv., 3(5):281-292, Aug. 2003.

MANOLE, D.; SCHILDKNECHT, B.; GOSNELL, B.; ADAMS, E.; DERWAHL, M. **Estrogen promotes growth of human thyroid tumor cells by different molecular mechanisms.** J. Clin. Endocrinol. Metab., 86(3):1072-7, Mar. 2001.

MEDEIROS–NETO, G. A. **Bócio esporádico: mecanismo fisiopatológico e evolução.** In: Medeiros – Neto G., Nicolau W. Temas atuais em tireoidologia. São Paulo, Editamed, p. 58-66, 1977.



MENEZES, Marcelo Benedito. **Diagnóstico e Tratamento dos Bócios não tóxicos.** In: Tratado de Cirurgia de Cabeça e Pescoço e Otorrinolaringologia. Atheneu, v. 1, cap. 44, p. 551-560, 2001.

MILLER, V. M.; DUCKLES, S. P. **Vascular actions of estrogens: functional implications.** Pharmacol. Rev. 60(2), p. 210-241, 2008.

MULAC-JERICEVIC, B.; CONNEELY, O. M. **Reproductive tissue selective actions of progesterone receptors.** Reproduction, 128(2), p. 139-146, 2004.

NAKOPOULOU, L.; LAZARIS, A. C.; PANAYOTOPOULOU, E. G.; GIANNOPOULOU, I.; GIVALOS, N.; MARKAKI, S.; KERAMOPOULOS, A. **The favorable prognostic value of estrogen receptor beta immunohistochemical expression in breast cancer.** J. Clin. Pathol., 57(5), p. 523-8, may 2004.

NASCIMENTO, Graciliano R. A. do; BARROS, Yaskara V. R.; WELLS, Amanda K.; KHALIL, Raouf A. **Research into Specific Modulators of Vascular sex Hormone Receptors in the Management of Postmenopausal Cardiovascular Disease.** Curr. Hypertens Rev. 5(4), p. 283-306, Nov. 2009.

NILSSON, S.; MÄKELÄ, S.; TREUTER, E.; TJUANGE, M.; THOMSEN, J.; ANDERSON, G. **Mechanisms of estrogen action.** Physiol. Ver., 81:1535-65, 2001.

OZBAS, S. **Comparison of the complications of subtotal, near total and total thyroidectomy in the surgical management of multinodular goiter.** Endocr. J. v. 52, p.199-205, 2005.

PAGE, C.; STRUNSKI, V. **Parathyroid risk in total thyroidectomy for bilateral, benign, multinodular goiter: report of 351 surgical cases.** J. Laryngol. Otol., 121(3):237-241, 2007.

PAVÃO, M.; TRAISH, A. M. **Estrogen receptor antibodies: specificity and utility in detection, localization and analyses of estrogen receptor alpha and beta.** Steroids, 66:1-16, 2001.

ROSAI, J. **Surgical Pathology.** 9 ed. Philadelphia: Mosby Elsevier, p. 562-563, 2004.

ROSAI, J.; KUHN, E.; CARCANJIU, M. L. **Pitfalls in thyroid tumor pathology.** Histopathology, 49(2):107-20, Aug. 2006.

SARAIVA, P. P. **Estudo clínico e molecular da relação entre câncer de mama e doenças tireoidianas.** 2002. 64f. Dissertação. Botucatu, (Mestrado em Fisiopatologia em Clínica Médica) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

SCHUCHARD, M.; LANDERS, J. P.; SANDHU, N. P.; SPELSBERG, T. C. **Steroid hormone regulation of nuclear proto-oncogenes.** *Endoc. Rev.*, 14(6), p. 659-669, 1993.

SGARB, J. A. & MACIEL, R. M. B. **Patogênese das doenças tireoidianas autoimunes.** *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, 53(1), p. 5-14, 2009.

SHIN, A.; KANG, D.; NISHIO, H.; LEE, M. J.; PARK, S. K.; KIM, S. U.; NOH, D. Y.; CHOE, K. J.; AHN, S. H.; HIRVONEN, A.; KIM, J. H.; YOO, K. Y. **Estrogen receptor alpha gene polymorphisms and breast cancer risk.** *Breast Cancer Res. Treat.*, 80(1):127-31, Jul. 2003.

SIMONCINI, T.; GENAZZANI, A. R.; LIAO, J. K. **Non genomic mechanisms of endothelial nitric oxide synthetase activation by the selective estrogen receptor modulator raloxifene.** *Circulation*, 105:1368-73, 2002.

SMILEY, D. A.; KHALIL, R. A. **Estrogenic compounds, estrogen receptors and vascular cell signaling in the aging blood vessels.** *Curr. Med. Chem.* 16(15), p. 1863-1887, 2009.

SWANSON, P. E.; DEHNER, L. P.; SIRGI, K. E.; WICK, M. R. **Cytokeratin immunoreactivity in malignant tumors of bone and soft tissue. A reappraisal of cytokeratin as a reliable marker in diagnostic immunohistochemistry.** *Appl. Immunohistochem.*, n 2, p. 103-112, 1994.

TAKIMOTO, G. S.; TUNG, L.; ABDEL-HAFIZ, H.; ABEL, M. G.; SARTORIUS, C. A.; RICHER, J. K.; JACOBSEN, B. M.; BAIN, D. L.; HORWITZ, K. B. **Functional properties of the N-terminal region of progesterone receptors and their mechanistic relationship to structure.** *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 85(2-5), p. 209-219, 2003.

TAVANGAR, S. M.; MONAJEMZADEH, M.; LARIJANI, B.; HAGHPANAH, V. **Immunohistochemical study of estrogen receptors in 351 human thyroid glands.** *Singapore Med. J.*, 48(8), p. 744-747, 2007.

WASSMANN, S.; LAUFS, U.; STAMENKOVIC, D.; LINZ, W.; STASCH, J. P.; HLBORY, K. **Raloxifene improves endothelial dysfunction in hypertension by reduced oxidative stress and enhanced nitric oxide production.** *Circulation.* 105:2083-91, 2002.

WEATHERMAN, R.V.; CLEGG, N. J.; SCANLAN, T. S. **Differential SERM activation of the estrogen receptors (ERalpha and ERbeta) at AP-1 sites.** *Chem. Biol.*, 8(5):427-36, May 2001.

WEISS, R. E.; LADO-ABEAL, J. **Thyroid nodules: diagnosis and therapy.** *Curr. Opin. Oncol.*, 14:46-52, 2002.

ZHANG, Z.; CERGHET, M.; MULLINS, C.; WILLIAMSON, M.; BESSERT, D.; SKOFF, R. **Comparison of in vivo and in vitro sub cellular localization of estrogen receptors and in oligodendrocytes.** *J. Neurochem.*, 89(3):674-84, 2004.

## ANEXO 1



## Comitê de Ética em Pesquisa Fundação Hospital Adriano Jorge



FR-166798

## PARECER DO PROCESSO N.º 020/07

**Título do Projeto:** Expressão dos receptores de estrogênio alfa e beta nos bócios submetidos à tireoidectomias em Manaus

**Pesquisador Responsável:** Gecildo Soriano dos Anjos

**Data da Versão:** 03.02.2008.

**CAAE (SISNEP):** 0022.0.193.000-07

**Data da Reunião:** 29.11.2007

**Grupo e Área Temática (Classificação utilizada pela CONEP):** GRUPO III

**Objetivo Geral do Projeto:** Identificar de forma quantitativa a presença de receptores de estrogênio em bócios de pacientes submetidos a tireoidectomia na cidade de Manaus.

**Comentários do CEP/FHAJ:**

- ✓ Todos os documentos apresentam-se em conformidade com a Resolução N° 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

**Observações:**

- ✓ Qualquer proposta de modificação no projeto (original) deve ser apresentada ao CEP juntamente com a justificativa que a motivou, para gerar outro protocolo de pesquisa;
- ✓ Disponibilizar a este CEP o relatório final da pesquisa tão logo a mesma seja concluída.

**Parecer do CEP/FHAJ:**  
Projeto **Aprovado**.

**Data do Parecer:**  
31 de março de 2008.

CEP/FHAJ:  
*Gilmara N. Guimarães*  
**Gilmara Noronha Guimarães**  
Coordenadora do CEP/FHAJ

## ANEXO 2

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Título do Estudo:** Expressão do receptor de estrogênio nos bócios submetidos à tireoidectomias em Manaus.

**Justificativas e o problema de saúde a ser estudado:** Este estudo poderá ajudar os médicos a compreender porque as mulheres são mais afetadas pelas doenças da glândula tireoide do que os homens, e com isso ajudar os médicos a conhecerem melhor a doença e ajudar as pessoas doentes. Manaus e, toda a Amazônia, possui muitas pessoas com o bócio, que é o aumento de uma glândula que fica localizada no pescoço chamada de tireoide.

**Objetivo do estudo:** Encontrar uma substância presente no bócio, removido do paciente através de cirurgia, através de exame de laboratório.

**Benefícios do estudo:** Com este trabalho espera-se obter esclarecimentos ou respostas ao fato de que os moradores da região Amazônica, incluindo Manaus, adoecem mais de doenças da glândula tireoide, como o bócio, do que em outras regiões.

**Riscos associados ao estudo:** Não apresenta.

**Confidencialidade:** Será mantida sob sigilo absoluto a identidade das pessoas que participarão deste trabalho, bem como os dados obtidos através desse estudo. Informo também que todas as informações dos participantes serão utilizadas apenas para fins do presente estudo.

**Acompanhamento assistencial:** Os pacientes participantes deste estudo terão, sempre que necessário esclarecimento de dúvidas, podendo entrar em contato com o Dr. Gecildo Soriano dos Anjos, no endereço: Av. Boulevard Álvaro

Maia, Hospital Universitário Getúlio Vargas, Centro, SN, Manaus/AM, ou pelo telefone (92) 81319922, ou pelo e-mail drgecildo@ig.com.br.

**Autonomia, voluntariedade e retirada do estudo:** O participante tem autonomia para decidir participar ou não do estudo, como também pode se retirar do mesmo, sem a necessidade de justificar esse gesto e sem qualquer prejuízo ao seu tratamento. Também tem o direito de fazer qualquer pergunta sobre o estudo em qualquer fase de execução do mesmo.

**Formas de ressarcimento e indenização:** O Dr. Gecildo Soriano dos Anjos e a Universidade Federal do Amazonas (UFAM) ficarão responsáveis pela assistência integral, inclusive indenizatória aos participantes, quando esses sofrerem danos a sua saúde em decorrência do presente estudo.

### **CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO**

Após ter recebido informações claras, eu concordo com minha participação no estudo.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente ou responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador: Gecildo

Soriano dos Anjos

RG:

Manaus/AM, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**ANEXO 3**

**FORMULÁRIO PADRÃO**

**PACIENTE:**.....

**IDADE:**.....

**SEXO:** ( ) Masculino ( ) Feminino

**ENDEREÇO:**.....

.....

.....

.....

**TELEFONE:**.....

**PROCEDÊNCIA:** ( ) MANAUS

( ) INTERIOR:.....

**HISTOPATOLÓGICO:**.....

.....

**PESO DA PEÇA CIRÚRGICA:**.....

**PESQUISA IMUNO-HISTOQUÍMICA PARA RECEPTOR DE ESTROGÊNIO**

( ) POSITIVO

( ) NEGATIVO