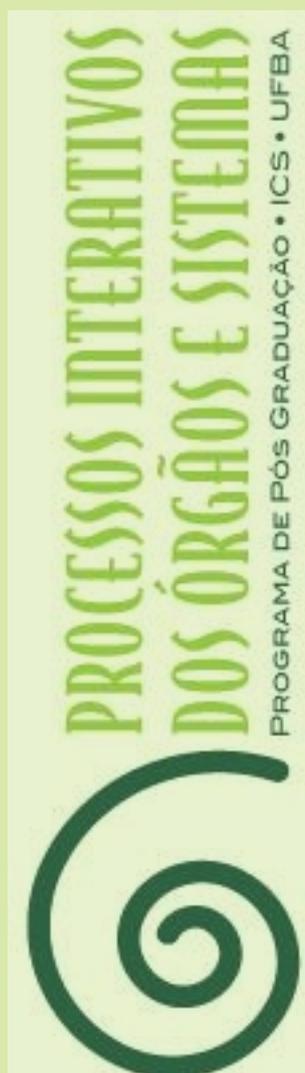


ELISA AIRES



AVALIAÇÃO DE OITO POLIMORFISMOS EM GENES CANDIDATOS RELACIONADOS À FUNÇÃO TIREOIDIANA NO IDOSO

Salvador
2022

ELISA AIRES

**AVALIAÇÃO DE OITO POLIMORFISMOS EM GENES CANDIDATOS
RELACIONADOS À FUNÇÃO TIREOIDIANA NO IDOSO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Helton Estrela Ramos
Coorientador: Fabyan Beltrão

Salvador

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Aires, Elisa.

Avaliação de oito polimorfismos em genes candidatos relacionados à função tireoidiana no idoso / Elisa Aires. - 2022.

80 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Helton Estrela Ramos.

Coorientador: Prof. Dr. Fabyan Esberard de Lima Beltrão.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas, Salvador, 2022.

1. Glândula tireoide. 2. Tri-Iodotironina. 3. Tiroxina. 4. Tireotropina. 5. Envelhecimento. 6. Polimorfismo de nucleotídeo único. I. Ramos, Helton Estrela. II. Beltrão, Fabyan Esberard de Lima. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas. IV. Título.

CDD 616.44 - 23. ed.

Elaborada por Maria Auxiliadora da Silva Lopes - CRB-5/1524



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
Instituto de Ciências da Saúde



TERMO DE APROVAÇÃO DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO

ELISA LEAL AIRES PIMENTEL

**AVALIAÇÃO DE OITO POLIMORFISMOS EM GENES CANDIDATOS
RELACIONADOS À FUNÇÃO TIREOIDIANA NO IDOSO**

Salvador, Bahia, 05 de dezembro de 2022

COMISSÃO EXAMINADORA:

DocuSigned by:

Helton Estrela Ramos

6C51554603C4489

PROF. DR. HELTON ESTRELA RAMOS (Examinador Interno)

DocuSigned by:

Fernando de Mello Almada Giuffrida

D5D616AD5D2845A

PROF. DR. FERNANDO DE MELLO ALMADA GIUFFRIDA (Examinador Externo)

DocuSigned by:

Laura Sterian Ward

D14DC572601B498

PROFA. DRA. LAURA STERIAN WARD (Examinadora Externa)

Para minha família.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Helton Ramos, por ser a força propulsora necessária nesta jornada. Agradeço pelos inúmeros ensinamentos, paciência e dedicação durante estes anos. Ele imprime a marca da excelência e ética em tudo o que faz. Exemplifica com a sua vida que tudo podemos. Isso inspira e provoca grandes pequenas revoluções internas.

Ao Dr. Fabyan, pela gentileza e pelo conhecimento compartilhado. Sua ajuda foi grandiosa e seu exemplo arrasta! Da mesma forma, agradeço à Ana Clara e Fábio pela disponibilidade e ensinamentos na estatística.

Aos meus queridos, divertidos e generosos colegas de mestrado, Jocyel e Ana Clara. A presença de vocês garantiu risadas e alento, tornando a caminhada até aqui mais leve. Ao amigo Carlos, do PIOS, pela gentileza e disposição em nos ajudar sempre!

Ao meu marido, Junior, pelo amor, paciência e suporte neste período. Você me encoraja e tira meus pés do chão.

À minha filha Bia, por ser doce e tão compreensiva com minhas ausências.

À minha mãe e irmãos, Angelina, Laura, Lucas e Clara, por estarem ao meu lado em absolutamente todos os momentos da minha vida. Aos meus sobrinhos, Marina e Jan, por proporcionarem a minha vida mais sorrisos.

Ao brilho dos olhos do meu saudoso pai que, para mim, permanece tão vivo.

AIRES, Elisa. **Avaliação de oito polimorfismos em genes candidatos relacionados à função tireoidiana no idoso.** 2021. Orientador: Helton Estrela Ramos. 80 f. il. Dissertação (Mestrado em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

RESUMO

Introdução: Estudos populacionais transversais e longitudinais apontam para níveis de TSH mais elevados com o envelhecimento. Além disso, em faixas etárias mais avançadas ocorre maior prevalência de fragilidade, comorbidades e polifarmácia, o que exige cautela na interpretação dos testes tireoidianos. Os parâmetros séricos da tireoide apresentam ampla variabilidade interindividual e estreita intraindividual, sugerindo fatores genéticos como principais determinantes dos pontos de ajustes da função tireoidiana. Diversos *loci* genéticos foram associados à função tireoidiana, em grandes estudos de associação entre genótipo e fenótipo, numa população adulta. Porém, esses achados ainda não foram analisados em população idosa. **Objetivo:** Analisar, numa população idosa, a relação entre oito polimorfismos de genes associados à função tireoidiana e a níveis séricos de TSH, T4 livre e T3 livre. **Material e Métodos:** Trata-se de estudo transversal com mulheres idosas, conduzido entre os anos 2018 e 2019. Excluíram-se indivíduos do sexo masculino e com doença da tireoide subclínica ou manifesta e incluiu-se a coleta de dados sociodemográficos e antropométricos. Realizaram-se exames sobre função tireoidiana e para extração de DNA, seguida de genotipagem de oito polimorfismos de nucleotídeo único selecionados. **Estatística:** O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi utilizado em todas as análises com variáveis quantitativas. Dados foram apresentados como mediana e intervalo interquartil. Para as variáveis de natureza categórica, empregou-se o teste qui-quadrado para comparar duas proporções e o teste Exato de Fisher, para avaliar a associação entre duas variáveis qualitativas. O *Hardy-Weinberg-Equilibrium* foi calculado usando-se o teste chi-quadrado. O software estatístico STATA versão 10 foi utilizado para a realização das análises descritivas e dos testes estatísticos. O nível de significância adotado foi de 0,05. A associação entre os SNP e testes séricos da tireoide foi avaliada utilizando-se o modelo genético dominante. **Resultados:** Incluíram 64 indivíduos do sexo feminino. A mediana da idade foi de 70 anos (65-73). A mediana do IMC foi de 26,3kg/m² (24-30,6). As medianas do TSH, T4l e T3l foram, respectivamente, de 2,17 mU / L (1,58-2,97), 1,12 ng / dL (1,04-1,20) e 2,78 pg / mL (2,64-2,98). Mais da metade dos indivíduos tinha hipertensão arterial sistêmica (62,26%), um quarto (24,53%), diabetes *mellitus*, e menos da metade (39,62%), dislipidemia. Houve diferença nos níveis de TSH com significância estatística entre os alelos selvagem (C) e polimórfico (T) no SNP rs12885300 do *gene DIO2*, p = 0,03. Nesse polimorfismo, o genótipo C/C (presente em 69,44% dos indivíduos) apresentou medianas do TSH, T3l e T4l de 1,89mU/L (1,17-2,42), 2,85pg/dL (2,69-2,98) e 1,15ng/mL (1,11-1,21), respectivamente; o conjunto de genótipos C/T e T/T (presente em 30,56% dos indivíduos), 2,82mU/L (2-4,2), 2,83pg/dL (2,64-3,17) e 1,16 ng/mL, respectivamente. Houve também diferença nos níveis de T4l com significância estatística entre os alelos selvagem (T) e polimórfico (C) no SNP rs225014 do *gene DIO2*, p = 0,02. Neste polimorfismo, o genótipo T/T (presente em 29,27% dos indivíduos) apresentou medianas do TSH, T3l e T4l de 2,19mU/L (1,78-3,42), 2,99pg/dL (2,75-3,24) e 1,20ng/mL (1,16-1,29), respectivamente; o conjunto de genótipos C/T e T/T (presente em 70,73% dos indivíduos), 2,2mU/L (1,53-2,8), 2,73pg/dL (2,65-2,92) e 1,12 ng/mL (1,06-1,18), respectivamente. Para demais polimorfismos, não foram encontradas associações com significância estatística. **Conclusão:** O polimorfismo rs12885300 do *gene DIO2* em homozigose ou em heterozigose foi associado a níveis de TSH mais elevados

e o polimorfismo rs225014 do gene *DIO2* em homozigose ou em heterozigose foi associado a níveis de T4l mais elevados. Esses dados, ineditamente testados em população geriátrica brasileira, apontam para necessidade de considerar aspectos genéticos na interpretação da função tireoidiana de idosos. Melhor compreensão da influência dos polimorfismos de genes importantes para função tireoidiana pode contribuir para a elaboração de melhores estratégias de manejo do hipotireoidismo em pacientes idosos.

Palavras-chave: função tireoidiana; T3l; T4l; TSH; envelhecimento; polimorfismos de nucleotídeo único.

AIRES, Elisa. **Evaluation of 8 polymorphisms in candidate genes related to thyroid function in elderly**. 2022. Advisor: Helton Estrela Ramos, 80 s. il. Dissertation (Master in Interactive Processes of Organs and Systems) – Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador.

ABSTRACT

Introduction: Cross-sectional and longitudinal population studies point to higher TSH levels with aging. In addition, in older age groups, there is a higher prevalence of frailty, comorbidities and polypharmacy, which requires caution in interpretation of thyroid tests. Serum thyroid parameters show wide interindividual and narrow intraindividual variability, suggesting genetic factors as the main determinant for regulation of thyroid function. Several genetic loci were associated with thyroid function in large studies on association between genotype and phenotype in adult population. However, such findings were not analyzed in the elderly population. **Objective:** To analyze relationship between 8 polymorphisms of genes associated with thyroid function and serum levels of TSH, free T4 and free T3. **Material and Methods:** A cross-sectional study with elderly women conducted from 2018 to 2019. Males and patients with subclinical or overt thyroid disease were excluded. Sociodemographic and anthropometric data were collected. Tests were performed on thyroid function and for DNA extraction, which were followed by genotyping of 8 single-nucleotide polymorphisms selected for the study. **Statistics:** The Mann Whitney U Test was used on all analyses with quantitative variables. Data were presented as median and interquartile range (IQR). In relation to categorical variables, chi-square test was used to compare two proportions-square and Fisher's Exact test was used to assess the association between two qualitative variables. The Hardy-Weinberg-Equilibrium (HWE) was calculated using chi-square test. The statistical software STATA version 10 was used to perform descriptive analyzes and statistical tests. Significance level adopted was 0.05. Association between SNPs and thyroid genetic testing was used as a dominant genetic model. **Results:** 64 female individuals were included. Median age was 70 years (65-73), 100% female. Median BMI was 26.3kg/m² (24-30.6). TSH, T4I and T3I medians were, respectively, 2.17 mU / L (1.58-2.97), 1.12 ng / dL (1.04-1.20) and 2.78 pg / ml (2.64-2.98). More than half of individuals had systemic arterial hypertension (62.26%), a quarter (24.53%) had diabetes mellitus and less than half (39.62%) had dyslipidemia. There was a statistically significant difference in TSH levels between wild-type (C) and polymorphic (T) alleles in SNP rs12885300 of DIO2 gene, p = 0.03. In this polymorphism, C/C genotype (present in 69,44% of individuals) showed TSH and T4I medians of 1.89mU/L (2.42), 2.85pg/dL (2.69-2.98) and 1.15ng/mL (1.11-1.21), respectively; set of C/T and T/T genotypes (present in 30.56% of individuals) showed medians of 2.82mU/L (2-4.2), 2.83pg/3.17) and 1.16 ng/mL, respectively. There was also a statistically significant difference in T4I levels between wild-type (T) and polymorphic (C) alleles in SNP rs225014 of DIO2 gene, p = 0.02. In this polymorphism, T/T genotype (present in 29,27% of individuals) showed TSH, T3I and T4I medians of 2,19mU/L (1,78-3,42), 2,99pg/dL (2,75-3,24) e 1,20ng/mL (1,16-1,29), respectively; set of C/T and T/T genotypes (present in 70,73% of individuals) showed medians of 2,2mU/L (1,53-2,8), 2,73pg/dL (2,65-2,92) e 1,12 ng/mL (1,06-1,18), respectively. For other polymorphisms, there were no associations with statistical significance. **Conclusion:** DIO2 gene rs1285300 polymorphism in homozygosity or heterozygosity was associated with higher TSH levels and DIO2 gene polymorphism in homozygosity or heterozygosity was associated with higher T4I levels. These data, unprecedentedly tested in a Brazilian geriatric population, point to the need to consider genetic aspects in interpretation of thyroid function in the elderly.

A better understanding of the important influence of genes to thyroid function may contribute to the development of better treatment strategies for hypothyroidism in elderly patients.

Keywords: thyroid function; T3I; T4I; TSH; aging; single-nucleotide polymorphisms.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireoide	20
Gráfico 1	Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs12885300 do gene <i>DIO2</i> . Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (C/C) e polimórfico (C/T + T/T).	47
Gráfico 2	Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs225014 do gene <i>DIO2</i> . Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (T/T) e polimórfico (C/C + CT)	48
Gráfico 3	Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs978055 do gene <i>DIO2</i> . Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (T/T) e polimórfico (A/A + A/T)	49
Gráfico 4	Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs2235544 do gene <i>DIO1</i> . Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (C/C) e polimórfico (A/A + A/C)	50
Gráfico 5	Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs1571583 do gene <i>GLIS3</i> . Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (A/A) e polimórfico (G/G + A/G).	51
Gráfico 6	Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs9356988 do gene <i>SLC17A4</i> . Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (G/G) e polimórfico (A/A + A/G)	52
Gráfico 7	Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs7045138 do gene <i>PTCSC2</i> . Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (C/C) e polimórfico (T/T + C/T)	53
Gráfico 8	Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs753760 do gene <i>PTCSC2</i> . Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (C/C) e polimórfico (G/G + C/G)	54

LISTA DE TABELAS E QUADRO

Tabela 1	Estado nutricional segundo critérios da MNA	37
Tabela 2	Índice de Massa Corporal	38
Tabela 3	Exames laboratoriais	39
Tabela 4	Características demográficas, clínicas e antropométricas dos participantes do estudo (n=64)	44
Tabela 5	Frequência alélica dos polimorfismos estudados	45
Tabela 6	Frequência alélica das populações global, europeia, africana e brasileira	46
Tabela 7	Comparação entre os grupos selvagem (n=12, T/T) e polimórfico (n=29, C/C + C/T) do polimorfismo rs225014 do gene <i>DIO2</i> quanto à presença de comorbidades clínicas	48
Quadro 1	Laudo da análise de composição corporal por absorciometria radiológica de dupla energia feita em densitômetro	37
Quadro 2	Caracterização dos polimorfismos de nucleotídeo único selecionados	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAT	Anticorpo Antitireoglobulina
ALM	Appendicular Lean Mass
APO	Anticorpo Antiperoxidase tireoidiana
BIA	Bioimpedância
CC	Circunferência Cintura
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa em Seres Humanos
CPT	Carcinoma papilífero de tireoide
dbSNP	<i>The Single Nucleotide Polymorphism Database</i>
DIO1	Desiodase tipo 1
DIO2	Desiodase tipo 2
DM	Diabete Melito
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
FMI	Fat Mass Index
FOXO1	<i>Forkhead box o1</i>
FPP	Força de preensão palmar
GLIS3	<i>GLIS Family Zinc Finger 3</i>
GWAS	<i>Genome Wide Association Study</i>
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HHT	Hipotálamo Hipófise Tireoide
HT	Hormônios Tireoidianos
HWE	<i>Hardy-Weinberg Equilibrium</i>
IMC	Índice de Massa Corpórea
IQR	<i>Interquartile Range</i>
LET	Laboratório de Estudo da Tireoide
MAF	<i>Minor Allele Frequency</i>
NIS	Co-transportador de Sódio / Iodeto
OMS	Organização Mundial da Saúde
PDS	Pendrina
PDE10A	<i>Phosphodiesterase 10 A</i>
PTCSC2	<i>Papillary Thyroid Carcinoma Susceptibility Candidate 2</i>
RNA_m	RNA mensageiro
SCL17A4	<i>Solute Carrier Family 17 Member 4</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polimorphism</i>
T3I	Triiodotironina Livre
T4I	Tetraiodotironina Livre
TSH	Hormônio Tireoestimulante
UATI	Universidade Aberta para Terceira idade

UFBA
UNEB

Universidade Federal da Bahia
Universidade do Estado da Bahia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1 FUNÇÃO TIREOIDIANA NO IDOSO	18
2.1.1 Envelhecimento da População Mundial e Brasileira	18
2.1.2 Envelhecimento e Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireoide	19
2.1.3 Estudos Populacionais de Avaliação de Função Tireoideiana em Idosos	21
2.1.4 Longevidade	23
2.1.5 Diagnóstico do Hipotireoidismo Subclínico	24
2.2. GENÉTICA E FUNÇÃO TIREOIDIANA	25
2.2.1 Polimorfismos de Nucleotídeo Único	25
2.2.2 Estudos Genéticos	26
2.2.3 Papel Fisiológico dos Genes Candidatos Avaliados Neste Estudo	27
2.2.4 Genes Implicados na Ontogênese e Função do Eixo Hipotálamo Hipófise Tireoide	27
2.2.5 Genes da Cascata de Sinalização do Receptor de TSH	28
2.2.6 Genes Implicados na Biossíntese, Transporte e Metabolismo Periférico dos HT	29
3 OBJETIVOS	32
4 HIPÓTESES DO ESTUDO	33
5. MATERIAIS E MÉTODOS	34
5.1 DESENHO DO ESTUDO	34
5.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO	34
5.3 GRUPO AMOSTRAL	35
5.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	35
5.5 DADOS SOCIOECONÔMICOS E CLÍNICOS	36
5.6 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL	36
5.6.1 Mini Avaliação Nutricional (MNA)	36
5.6.2 Análise da Composição Corporal por Dxa	37
5.6.3 Avaliação Antropométrica	38
5.7 AVALIAÇÃO LABORATORIAL	39
5.8 EXTRAÇÃO DE DNA	39
5.9 SELEÇÃO DE GENES ESTUDADOS	40
5.10 GENOTIPAGEM	40
5.11 ANÁLISE DAS ASSOCIAÇÕES ENTRE PARÂMETROS SÉRICOS DA FUNÇÃO TIREOIDIANA E POLIMORFISMOS	41
6 ASPECTOS ESTATÍSTICOS	42
7 ASPECTOS ÉTICOS E FINANCEIROS	43

8 RESULTADOS	44
8.1 DADOS CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DA AMOSTRA	44
8.2 FREQUÊNCIA ALÉLICA	45
8.3 8.3 ANÁLISE DA FREQUÊNCIA GENOTÍPICA E DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E FUNÇÃO TIREOIDIANA	46
9 DISCUSSÃO	55
10 CONCLUSÃO	60
11 PERSPECTIVAS	61
12 TRABALHOS GERADOS DURANTE A PÓS-GRADUAÇÃO	62
REFERÊNCIAS	63
APÊNDICE – Mini Avaliação Nutricional	72
ANEXOS	75
ANEXO A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)	76
ANEXO B – Índice de Lawton e Bridy	81

1 INTRODUÇÃO

Os avanços científicos e o desenvolvimento social e econômico resultaram em expansão sem precedentes da longevidade humana (1,2). O novo grande desafio na área médica é compreender a saúde e doença no processo de envelhecimento. Muitas alterações ocorrem no organismo, particularmente no sistema endócrino e no eixo hipotálamo-hipófise-tireoide ao longo da vida (3). Distinguir quais dessas mudanças são adaptações benéficas daquelas decorrentes de doenças deve fazer parte do raciocínio clínico.

Os hormônios tireoidianos desempenham um papel essencial no crescimento, no desenvolvimento e na regulação do metabolismo energético (4). O eixo hipotálamo-hipófise-tireoide controla a produção e a secreção dos hormônios tireoidianos, enquanto que a sua atividade biológica, determinada pela ação do T3, é regulada periféricamente por transportadores de membrana, desidases e receptores nucleares (5,4).

O eixo hipotálamo-hipófise-tireoide sofre influência de fatores ambientais, como ingestão de iodo, e individuais, como sexo, idade e massa corporal (6). Além disso, em indivíduos saudáveis, os parâmetros séricos de função tireoidiana mostram substancial variabilidade interindividual, enquanto a intraindividual é estreita, sugerindo possível influência de aspectos genéticos na regulação do ponto de ajuste nos níveis séricos dos hormônios tireoidianos (7–9). Estudos realizados em gêmeos mono e dizigóticos atribuíram à herdabilidade uma variação de até 65% nos níveis séricos de hormônio tireoestimulante (10,9).

Na população geriátrica, além destes, outros aspectos associados ao processo de envelhecimento também interferem no controle do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide. Estudos longitudinais demonstraram mudanças nos pontos de ajuste dos hormônios tireoidianos e tireoestimulante durante envelhecimento e estabeleceram associação entre redução da função tireoidiana e longevidade (11–13). Foi apontada maior expectativa de vida para descendentes de indivíduos longevos, quando comparados a seus pares em análises subsequentes, sugerindo hereditariedade do fenótipo longo (14,15). Mesmo que a maior influência na determinação da função tireoidiana tenha sido atribuída à arquitetura genética do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, a maior parte dos genes responsáveis por isso ainda é bastante desconhecida (16,9).

No entanto, nas duas últimas décadas, algumas variantes genéticas foram associadas a parâmetros séricos dos hormônios tireoidianos em estudos de genes candidatos (9). Mais recentemente, a realização de grandes estudos populacionais, com extensa genotipagem, vem impulsionando a descoberta de diversos polimorfismos de nucleotídeo único, associados à função tireoidiana (17–19). Portanto, é possível que, além das variantes genéticas mais raras,

com maior efeito (mutações), haja diversos polimorfismos, representando variantes mais comuns e com efeitos mais modestos, impactando na função tireoidiana (9). Como esses grandes estudos do genoma foram realizados em população adulta, com amplo espectro de idade, não é aceitável extrapolar esses dados para população geriátrica. Por isso, não se pode afirmar que os polimorfismos encontrados são de fato relevantes na determinação dos níveis séricos dos hormônios tireoidianos no idoso (20). A importância de compreender melhor as mudanças no ponto de ajuste da função tireoidiana na população geriátrica é pelo fato de grandes estudos observacionais e populacionais terem associado variações na função tireoidiana, ainda que dentro da faixa de referência, a desfechos clínicos negativos (9), como na cognição (21), na qualidade de vida (22), no risco de doença cardiovascular (23), na densidade mineral óssea (24) e na mortalidade (25), especialmente nessa faixa etária (22,26). O objetivo do atual estudo é avaliar o impacto de alguns polimorfismos previamente associados à função tireoidiana na população adulta, em idosos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Esta seção se apresenta em duas divisões, sendo uma sobre a função tireoidiana no idoso (2.1) e a outra, sobre genética e função tireoidiana (2.2), cada qual subdividida segundo suas especificidades.

2.1 FUNÇÃO TIREOIDIANA NO IDOSO

Esta subseção compreende, três abordagens, a seguir detalhadas.

2.1.1 Envelhecimento da População Mundial e Brasileira

As inclinações populacionais nas últimas décadas indicam progresso no cumprimento de metas globais estabelecidas pela Assembleia Geral das Nações Unidas. Tais metas compõem os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) e abrangem questões de desenvolvimento social e econômico, impactando na redução da mortalidade infantil e global, maior cuidado com a saúde sexual e reprodutiva, igualdade de gêneros e maior controle da fertilidade (2). Desenvolvimentos notáveis na área da biomedicina, como maior controle de doenças infecciosas, vacinação, prevenção e tratamento eficiente de doenças crônicas, contribuem de maneira preponderante para esse cenário mundial (27).

A combinação de baixos níveis de fertilidade e maior longevidade resultam no envelhecimento global da população. O número de indivíduos com mais de 65 anos superou o número de crianças com menos de 5 anos pela primeira vez na história da humanidade, no ano de 2018 (2). O Departamento Econômico e Social das Nações Unidas, na última atualização do *World Population Prospects*, em 2019, constata envelhecimento sem precedentes da população mundial. Estima-se que o número de pessoas com mais de 65 anos dobrará no mundo entre os anos de 2019 e 2050, enquanto que o número de crianças com menos de 5 anos permanecerá inalterado. Projeta-se, para o ano de 2050, prevalência de 1,5 bilhão de pessoas com idade igual ou maior que 65 anos, superando o número de jovens de até 24 anos (1,3 bilhão) (2). Em 2019, aproximadamente 9% da população tinha 65 anos ou mais; para os anos de 2030 e 2050, estima-se prevalência de 12% e 16%, respectivamente. Para a população com mais de 80

anos, esse incremento é ainda mais acentuado, com projeção para o ano de 2050 de 426 milhões de pessoas (2).

As mulheres apresentam uma média mais longa de expectativa de vida e superam em número os homens em idades mais avançadas. No ano de 2019, elas representavam 55% das pessoas com 65 anos ou mais e 61% das pessoas com 80 anos ou mais (2). Na América Latina, a proporção da população com mais de 65 anos pode aumentar de 9% no ano de 2019 para 19% em 2050 (2). O Brasil está de acordo com as tendências populacionais mundiais. Sua população superou a marca de 30,2 milhões de idosos em 2017. As mulheres formam a maioria desse grupo, com 16,9 milhões (56% dos idosos) enquanto que os homens correspondem a 13,3 milhões (44% dos idosos) (28).

As inclinações demográficas são arautos dos desafios futuros ao Desenvolvimento Sustentável. Antecipar as tendências demográficas, incorporá-las às políticas e ao planejamento e compreender os mecanismos envolvidos no processo de envelhecimento é imprescindível diante do impacto social, econômico e clínico no cenário mundial (27,2).

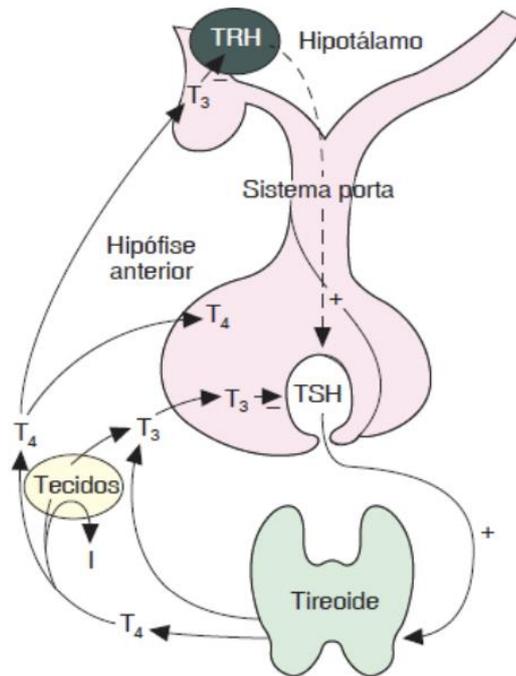
2.1.2 Envelhecimento e Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireoide

O envelhecimento é um processo contínuo e multifatorial e está associado a danos cumulativos e aleatórios, em nível molecular e celular. Culmina numa deterioração funcional, enfraquecimento do sistema imunológico, aumento da prevalência de doenças e morte (29,3). É acompanhado por alterações endócrinas, como mudanças no padrão da secreção hormonal, redução da sensibilidade dos órgãos-alvo aos hormônios e comprometimento da regulação dos eixos hormonais por retroalimentação (30).

O eixo hipotálamo-hipófise-tireoide é responsável pela homeostase dos hormônios tireoidianos na circulação sanguínea. O núcleo paraventricular do hipotálamo secreta o hormônio liberador da tireotrofina (TRH) que, por sua vez, regula a síntese e a secreção do hormônio tireoestimulante (TSH) pela hipófise anterior. Uma vez na circulação, o TSH se liga ao seu receptor específico na tireoide e estimula a produção e liberação dos hormônios tireoidianos (3,4). A senescência é acompanhada por alterações estocásticas em diferentes pontos desse eixo. A Figura 1 esquematiza o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide.

Figura 1 - Eixo hipotálamo-hipófise-tireoide

Esquemática do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide. O hormônio liberador da tireotrofina (TRH), produzido no hipotálamo, estimula a secreção hipofisária de hormônio tireoestimulante (TSH). Este, por sua vez, controla todas as etapas da síntese dos hormônios tireoidianos. A secreção de TRH e TSH é primariamente inibida pelo T₃, 80% do qual se originam da conversão periférica do T₄.



Fonte: Vilar (2016) (125)

Por outro lado, a concentração intracelular dos hormônios tireoidianos (HT) é customizada e determinante para as respostas específicas nos órgãos alvos. A homeostase, no interior das células, é garantida pela combinação de elementos encontrados na membrana celular (transportadores de hormônios tireoidianos e desidase tipo 3), no citoplasma (desidase tipo 1 e 2) e no núcleo (receptores dos hormônios tireoidianos) (3,4). Alterações nesses fatores impactam diretamente na resposta do organismo aos hormônios tireoidianos e podem se associar a fenótipos específicos.

Durante o envelhecimento, mudanças que ocorrem na tireoide e no eixo HHT afetam a produção, o metabolismo, o transporte e a ação dos HT (31). Estudos mostram que as concentrações e distribuição do TSH sérico aumentam gradualmente com a idade, sugerindo um declínio na função tireoidiana ou redefinição do ponto de ajuste do TSH (32,11). Isso pode

estar associado ao aumento da resistência da glândula tireoide ao TSH ou diminuição do tônus dopaminérgico central (13). O processo de envelhecimento ocasiona redução da absorção intestinal e organificação do iodo no interior da glândula, comprometendo sua resposta ao estímulo do TSH (33). A perda da ritmicidade circadiana que também ocorre em idades mais avançadas impacta em diversas funções endócrinas e metabólicas. No eixo HHT, o comprometimento do padrão do sono pode reduzir a amplitude da secreção do TSH (34,3). Além disso, a bioatividade do TSH pode estar reduzida por alteração da glicosilação, fenômeno pós-traducional de proteínas que oferece estabilidade e proteção contra agregação intracelular e degradação proteolítica, garantindo seu efeito biológico (35,36).

Alterações no metabolismo periférico dos HT, associadas ao envelhecimento, podem contribuir com mudanças nas suas concentrações séricas (37). A redução da atividade da desidase tipo 1 no fígado pode levar à diminuição do T3 sérico por comprometimento da conversão de T4 em T3 (37). Além disso, de acordo com recentes estudos que avaliaram envelhecimento e função tireoidiana, o aumento da atividade da DIO3 e a redução na concentração dos transportadores de membrana dos HT (exemplo: MCT8) também parecem estar envolvidos (31). Tudo isso é acentuado e pode ser confundido pela usual presença de doenças crônicas, associadas a baixos níveis de T3 e altos níveis de T3 reverso, além do uso de múltiplas medicações que interferem nos níveis séricos dos HT (38).

2.1.3 Estudos Populacionais de Avaliação da Função Tireoidiana em Idosos

A triagem e o tratamento de idosos com disfunções subclínicas da tireoide e o impacto disso na saúde ainda é um assunto controverso (22,39). Estudos populacionais apontam associação benéfica entre hipofunção tireoidiana e longevidade, contrastando com estudos realizados em indivíduos mais jovens que associaram a presença de hipotireoidismo subclínico a uma maior taxa de mortalidade por todas as causas (22,11,15). Em estudo realizado com homens idosos de Zoetermeer, na Holanda, após análise dos índices de performance física, mortalidade e função tireoidiana, foi demonstrada associação entre baixo nível sérico de T4 e maior sobrevida (37). Diante de tais achados, é prudente não extrapolar as consequências negativas à saúde da disfunção tireoidiana subclínica da população adulta jovem para populações geriátricas (6,40). Compreender melhor a evolução do *status* tireoidiano no processo de envelhecimento é necessário para a adequada interpretação da função tireoidiana e a condução clínica de situações como hipotireoidismo subclínico, nessa população em especial.

A realização de estudos populacionais longitudinais possibilita analisar o comportamento e a dinâmica da função tireoidiana ao longo da vida. Eles indicam mudanças nas concentrações séricas do TSH, T4I e T3I durante o envelhecimento (11,39). Um estudo populacional prospectivo e observacional, derivado do Leiden 85-Plus Study, avaliou coorte de octogenários, residentes em Leiden, Holanda, mostrando que níveis mais elevados de TSH e mais baixos de T4 estavam associados à expectativa de vida mais longa (longevidade) (22). O *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES III) observou aumento do TSH e dos anticorpos tireoidianos com a idade em ambos os sexos (41); no estudo citado (4), foi notado que a mediana do TSH aumenta enquanto do T4 reduz após 20 anos de seguimento, mesmo após exclusões dos autoanticorpos tireoidianos e alguns fatores de risco (42). A partir dos dados do NHANES III, Surks e Hollowell também mostraram aumento progressivo na média, na mediana e no percentil 97,5 para a concentração de TSH, com o avanço da idade em população livre de doenças. Após análise, diferentes valores de TSH foram propostos para o percentil 97,5, para os mais jovens: 3,6 mIU / litro, 70-79 anos, 5,9 mIU / litro e no grupo com idade a partir de 80 anos, 7,5 mIU / litro (43). Diante disso, os autores sugeriram ajustes dos intervalos de referencias de TSH de acordo com faixa etária (44,39).

Um estudo norte-americano com 843 participantes, idade média de 72 anos, demonstrou elevação dos níveis de TSH e T4 e redução de T3, ao longo do seguimento feito por 13 anos (42). Na Austrália, estudo prospectivo com 908 participantes, com idade média inicial de 45.5 anos e duração de 13 anos, também mostrou elevação do TSH com o avanço da idade, mas sem evidenciar mudanças nas concentrações séricas de T4 (12,31).

Outro estudo, bastante citado na literatura, avaliou os judeus Ashkenazi, população com reconhecida longevidade excepcional. A análise das curvas de distribuição de frequência de TSH e T4 demonstrou que a elevação do TSH com o avançar da idade também esteve presente entre os indivíduos centenários (11). Além disso, seus descendentes (com meia idade), já demonstravam tendência a níveis séricos mais elevados de TSH e mais baixos de HT, quando comparados aos seus cônjuges (14,15). Dois polimorfismos no gene do receptor do TSH (rs10149689 e rs12050077), em especial, estão correlacionados a níveis de TSH mais elevados nos centenários judeus Ashkenazi e seus descendentes (14,33). Na análise de dados derivados do estudo de longevidade de Leiden, a função tireoidiana dos filhos (com meia idade) de irmãos nonagenários e seus respectivos parceiros também foi avaliada, observando-se níveis séricos mais elevados de TSH e mais baixos de T4 e T3 no grupo dos filhos de irmãos nonagenários, reforçando o possível papel favorável da hipofunção tireoidiana na longevidade e seu padrão hereditário (14,45).

2.1.4 Longevidade

A função hipotalâmica foi associada à longevidade a partir de estudos realizados em animais submetidos à hipofisectomia ou à restrição calórica (46–49). A complexa integração do sistema endócrino presente nos mamíferos implica efeitos interligados em diferentes eixos hormonais ao longo da vida (50). Alguns fatores diretamente envolvidos no processo de envelhecimento, como os hormônios insulina, tireoidianos, de crescimento, atuam no controle do metabolismo e na capacidade de adaptação do organismo a mudanças (50).

A ligação mais evidente dos HT na regulação da longevidade surgiu a partir de estudos pré-clínicos de Ooka e colaboradores (50). Em um deles, o hipotireoidismo foi induzido e o efeito na expectativa de vida do rato Wistar foi examinado. Os ratos hipotireoideos viveram quatro meses a mais do que o grupo controle. Em outro estudo, foi administrado tiroxina aos ratos Wistar jovens ou de meia idade, induzindo hipertireoidismo. A expectativa de vida foi menor nesses ratos em relação ao grupo controle (51).

Os modelos de camundongos anões e com hipopituitarismo, Ames e Snell, devido a mutações recessivas espontâneas em genes envolvidos na sinalização do GH, Prolactina e TSH, foram associados ao envelhecimento lento (52,3). O incremento no tempo de vida pode chegar a 70% em função do sexo, dieta e condições do confinamento (3). Um estudo avaliou o impacto da administração do hormônio de crescimento e tiroxina na longevidade em camundongos Snell. A curto prazo (11 semanas) a administração de tiroxina não impactou na longevidade. Porém, quando administrada cronicamente, a tiroxina foi associada à redução da expectativa de vida, quando comparada ao grupo controle, mas ainda maior do que em relação aos camundongos do tipo selvagem (53).

Do ponto de vista biológico, é coerente a associação entre redução de HT e longevidade. A ação dos HT está direta e centralmente envolvida na homeostase metabólica, via hipotálamo e, também, nos tecidos periféricos (3). O T3 regula a taxa metabólica basal e aumenta a oxidação celular, estimulando enzimas envolvidas na função mitocondrial, termogênese e metabolismo de carboidratos e ácidos graxos (50,45). Estudos pré-clínicos mostram uma relação direta entre T3 e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e danos genômicos (54,55,45). O transporte ineficiente de elétrons, por meio da cadeia respiratória decorrente de menor disponibilidade de T3, pode diminuir a produção de ROS e mitigar o envelhecimento (45).

Os resultados obtidos com estudos em animais, ensaios clínicos populacionais e longitudinais sugerem associação entre redução da função tireoidiana e maior longevidade

(11,15,13). Idosos longevos foram associados a níveis mais elevados de TSH, enquanto que níveis mais elevados de T4 foram associados a maior risco cardiovascular (45).

2.1.5 Diagnóstico do Hipotireoidismo Subclínico no Idoso

Ao longo da vida, esperam-se variações individuais dos níveis séricos circulantes de T4, porém, isso ocorre, normalmente, dentro de uma faixa mais estreita do que aquela utilizada como referência populacional (56,6). O eixo HHT é extremamente sensível e responsivo às pequenas variações nas concentrações séricas de T4l (56,6). Reduções mínimas de T4l, ainda que dentro do intervalo de referência populacional, resultam em maior secreção pituitária de TSH, podendo ultrapassar o limite superior da normalidade (6,56). Em resposta a esse estímulo do TSH, ocorre maior produção de HT. Esse ponto de ajuste do eixo HHT é individual e está sujeito a determinantes genéticos (7,57,6).

O hipotireoidismo subclínico (HSC) é definido pela elevação do TSH, associada a níveis séricos normais de T4l e T3l (58,6). É classificado como leve ou grau 1, quando os níveis de TSH estão entre 4,5 e 9,9 um/L, e mais grave ou grau 2, quando os níveis de TSH são maiores que 10 um/L (6). O risco de progressão para hipotireoidismo manifesto é de 2 a 6% por ano, sendo maior entre mulheres, pessoas com níveis de TSH mais elevados e positividade para antiperoxidase tireoidiana (58). A prevalência de hipotireoidismo subclínico na população geral é de 3 a 8% e maior entre os idosos (40).

Os níveis de TSH tendem a elevar com o envelhecimento como uma possível resposta adaptativa ao processo de senescência, como já citado anteriormente (3,31). Porém, valores considerados normais são usualmente obtidos a partir de análise da população em geral e não especificamente da avaliação de indivíduos idosos (59,40). Também é preciso considerar que o uso de múltiplas drogas, presença de comorbidades e alterações nutricionais, que sabidamente impactam na função tireoidiana, tornam o diagnóstico de hipotireoidismo subclínico no idoso ainda mais desafiador, podendo superestimar sua prevalência (40).

Anormalidades cardiovasculares, dislipidemia, alterações metabólicas e declínio cognitivo são desfechos clínicos associados ao diagnóstico de hipotireoidismo subclínico na população adulta, mas, numa população idosa, esses resultados parecem não ser reproduzíveis (40,59,60). Gussekloo e colaboradores (22), em estudo prospectivo e observacional, derivado do *Leiden 85-Plus Study*, avaliou HSC, função cognitiva e sobrevida em adultos octogenários. Um total de 599 indivíduos foram acompanhados por 3,7 anos, com função tireoidiana sendo avaliada em relação a desfechos clínicos como depressão, deficiência nas atividades de vida diária,

função cognitiva e mortalidade. Demonstrou-se que a elevação do TSH não esteve associada a efeitos adversos na saúde da população estudada (22).

Apesar do hipotireoidismo subclínico ter sido associado a desfechos negativos cardiovasculares, metabólicos, no humor e na gravidez em população adulta, o real benefício do tratamento com levotiroxina é controverso (61). As evidências sugerem que o nível do TSH e idade podem auxiliar na identificação de indivíduos que se beneficiariam do tratamento (61). O estudo TRUST teve como objetivo avaliar benefícios clínicos do tratamento com levotiroxina em idosos com HSC. Foram avaliados 737 indivíduos com idade a partir de 65 anos (média de 74,4 anos), com HSC persistente (TSH entre 4,6 a 19,99 mUI/L e T4I dentro do valor de referência). Grupo com 368 participantes recebeu levotiroxina e outro, com 369, placebo. Os desfechos primários foram mudança na pontuação dos sintomas de hipotireoidismo e de cansaço, a partir de questionário para avaliação da qualidade de vida (ThyPRO). Os resultados não demonstraram benefícios clínicos em idosos com HSC, após tratamento com levotiroxina (62,63). Portanto, é cada vez mais reconhecido que o aumento dos níveis de TSH faz parte do processo de envelhecimento e que são necessários ajustes etários nos seus pontos de referência (61).

2.2 GENÉTICA E FUNÇÃO TIREOIDIANA

Esta seção aborda a temática genética e função tireoideana em sete itens, conforme segue.

2.2.1 Polimorfismos de Nucleotídeo Único

Embora os seres humanos compartilhem cerca de 99,9% do seu genoma, as sequências de DNA não são idênticas em diferentes indivíduos (64). Estima-se que substituições de nucleotídeos ocorram a cada 1000 pares de bases no genoma humano, colaborando para a variabilidade genética. Quando essas variações ocorrem em pelo menos 1 % da população, são chamadas de polimorfismos. Diferentes das mutações, variantes raras e com grandes efeitos, os polimorfismos são comuns e têm efeitos modestos (9). Podem causar alguma mudança na função do gene ou servir como marcadores genéticos (65).

Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) são a forma mais comum de variação genômica (66). Resultam de substituições de apenas uma base nitrogenada (adenina, citosina, timina e guanina) na sequência de DNA (67). Normalmente, são bialélicos, ou seja, têm no mínimo duas possibilidades de pares de bases numa mesma localização para determinada

população. Somente 12% dos polimorfismos associados a fenótipos estão localizados em regiões gênicas codificadoras de proteínas, enquanto que 40% estão em regiões intergênicas e 40%, em íntrons, apontando para o potencial papel das regiões intrônicas e intergênicas na regulação da expressão gênica (66).

2.2.2 Estudos Genéticos

A utilização prática de polimorfismos de nucleotídeo único, como marcadores moleculares, esteve por muito tempo restrita devido a limitações tecnológicas (67). O avanço na compreensão do genoma e nos métodos de genotipagem em massa tornaram factível a realização de grandes estudos genéticos de associação em populações, possibilitando descobertas simultâneas de inúmeros genes e variantes genéticas associados a um fenótipo (68).

Os estudos genéticos focados na função tireoidiana têm revelado genes envolvidos na arquitetura do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide e trazem pistas sobre individualidade no ponto de ajuste dos testes séricos da tireoide. Os primeiros trabalhos sobre determinantes genéticos da função tireoidiana envolviam estudos de genes candidatos, que avaliam número limitado de variantes em genes específicos, selecionados de acordo com sua função (57,9). Os estudos de análise de ligação utilizam marcadores espalhados pelo genoma e permitem a identificação de genes herdados juntos e associados a determinado fenótipo. Como nesse tipo de estudo todos os genes são estudados, e não apenas aqueles presumivelmente associados a fisiologia da tireoide, amplia-se a descoberta de novas associações de genes com o fenótipo de interesse. Porém, ambos tipos de estudos têm limitada genotipagem e contribuem com a revelação de apenas um pequeno número de genes e suas variantes associados à função tireoidiana (16,69).

A descoberta de maior número de variantes genéticas foi alcançada com a realização de grandes estudos de associação (70,18,19). Os estudos de associação genômica ampla - *Genome Wide Association Studies* (GWAS) - permitem investigar a associação entre diversas variantes genéticas e fenótipos de interesse numa determinada população (71,72). É possível genotipar ao mesmo tempo até 1 milhão de variantes genéticas, porém é necessário ajustar valor p ($p < 5 \times 10^{-8}$) para evitar resultados falso-positivos, devido à realização de múltiplos testes (9,71,72). Portanto, grandes tamanhos de amostra são necessários para garantir potência estatisticamente suficiente (69).

2.2.3 Papel Fisiológico dos Genes Candidatos Avaliados neste Estudo

Para este estudo, escolhemos a abordagem de avaliação de polimorfismos em genes candidatos, obtidos a partir de estudos de associação de função tireoidiana do tipo GWAS, realizado em adultos. Para efeito didático, criamos uma sessão que explica o papel fisiológico desses genes, agrupando-os em subgrupos específicos (73,74,57,18).

2.2.4 Genes Implicados na Ontogênese e na Função do Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tireoide

Neste grupo, estão incluídos genes que codificam proteínas imprescindíveis no desenvolvimento e função do eixo HHT (*FOXE1*, *LHX3*, *GLIS3*, *NFIA*, *SOX9*, *NCOR1*). Entre elas, estão os fatores de transcrição, frequentemente associados aos níveis de TSH e T4l em GWAS (73,18,9). Esses fatores contribuem para a ontogênese e para a função do hipotálamo, hipófise ou tireoide. Variantes do gene *LHX3*, fator de transcrição envolvido do desenvolvimento do hipotálamo, foram associadas a mudanças na mesma direção dos níveis de T4l e TSH (baixo nível de T4l e nível de TSH baixo ou normal) e suas mutações, ao hipotireoidismo congênito central (10,75). Enquanto que variantes em genes envolvidos com desenvolvimento da tireoide, como o *GLIS3*, foram associadas a mudanças em direções opostas dos níveis de T4l e TSH (73,18).

- Gene *GLIS3*

O gene *GLIS3* está localizado no *locus* 9p24.2, pertence à subfamília GLIS de proteínas de dedo de zinco semelhante a Kruppel e funciona como um fator ativador e repressor de transcrição gênica da tireoide (76–78,9). Mutações no gene *GLIS3* estão associadas à disgenesia tireoidiana, como agenesia, hipoplasia e dishormogênese (76), além de associação com diabetes neonatal (76). Esse fator de transcrição é indispensável na síntese de hormônios tireoidianos, dependente de TSH/TSHR e proliferação de células foliculares (77). Porém, o mecanismo pelo qual variações neste gene causa hipotireoidismo congênito ainda não está esclarecido (77). Além do papel na tireoide, é um regulador pleiotrópico de diferentes vias de desenvolvimento e com função em diversos outros tecidos (78).

O complexo TSH/TSHR ativa diversas vias de sinalização celular que promovem aumento da transcrição de genes envolvidos na biossíntese dos hormônios tireoidianos. O *GLIS3* atua regulando a transcrição de genes-chave nesse processo, como *PDS* e *NIS*. Níveis elevados

sustentados de TSH induzem a proliferação de células foliculares e o desenvolvimento de bócio pela ativação independente de AKT1 da via de sinalização mTOR1 e proliferação de células foliculares da tireoide. O *GLIS3* é crítico na mediação das ações *downstream* do TSH/TSHR (77).

- Gene *PTCSC2*

Os lincRNA (RNA não codificantes longos intergênicos) são moléculas de RNA com comprimento de mais de 200 nucleotídeos que não codificam proteínas (79). Atuam na remodelação da cromatina e na arquitetura genômica, na estabilização do RNA e na regulação da expressão de outros genes (79). O *PTCSC2* é um lincRNA localizado no *locus* 9q22, expresso no tecido tireoidiano e pode funcionar como uma molécula reguladora da expressão gênica da tireoide (80,73,79,81).

Variantes genéticas no gene *PTCSC2*, reveladas em GWAS, foram associadas a modificações na expressão de genes *FOXE1* e *TSHR* (80). Polimorfismos no gene *FOXE1* apontam mudanças na mesma direção dos níveis de T4l e TSH em GWAS (82,73,17). O gene *FOXE1* está localizado no *locus* 9q22 e é o principal mediador da expressão gênica regulada pelo TSH (9). Está envolvido desde a migração do precursor de tireócitos no processo de organogênese, até a diferenciação da tireoide, ativando genes como tireoperoxidase, tireoglobulina e NIS (81). A ativação de diversos genes específicos para hormogênese e proliferação das células foliculares da tireoide está sob regulação do complexo TSH-TSHR, como citado anteriormente (80).

2.2.5 Genes da Cascata de Sinalização do Receptor de TSH

Fazem parte deste grupo genes que codificam o receptor do TSH (TSHR) e proteínas que interferem na sua cascata de sinalização celular (*TSHR*, *PDE8B*, *PDE10A*, *ITPK1*, *GNAS*) (73,18,9). Variantes no gene do *TSHR* estão associadas a elevado nível de TSH e longevidade (11,14). Alguns polimorfismos de genes que codificam enzimas inativadoras de AMPc (*PDE8B* e *PDE10A*) estão associados a níveis de TSH (73,17,18).

- Gene *PDE10A*

O gene *PDE10A* está envolvido na transdução do sinal do TSH/TSHR (83,9). Está localizado no *locus* 6q26, faz parte da superfamília PDE (fosfodiesterase) e é altamente expresso na

tireoide (84). Codifica enzima de dupla especificidade que pode hidrolisar tanto AMPc, quanto GMPc, com maior afinidade pelo primeiro (84). Na tireoide, o AMPc, produzido após ativação do TSHR, induz a liberação de Ca e ativação do fosfoinositol, efetores que levarão a expressão dos alvos gênicos a jusante, culminando na maior captação de iodeto, secreção dos hormônios tireoidianos, crescimento e diferenciação das células foliculares (83). Desempenha, portanto, um papel crítico na secreção hormonal da tireoide.

Como a ação dessa enzima está diretamente associada à degradação de AMPc, segundo mensageiro intracelular do TSH, é plausível a relação entre variantes desse gene e níveis de TSH e HT (84,85,9).

2.2.6 Genes Implicados na Biossíntese, Transporte e Metabolismo Periférico dos HT

GWAS tem revelado associação entre alguns polimorfismos de genes sabidamente envolvidos na síntese dos hormônios tireoidianos (*TPO*, *TG*, *CAPZB*) (82,18), no transporte desses hormônios para o interior das células-alvo (*MCT8*, *SLC17A4* e *OATP1B1*) (18) e no metabolismo desses hormônios (*DIO1*, *DIO2* e *DIO3*) (73,17,18). Os polimorfismos de genes envolvidos na síntese dos hormônios tireoidianos foram associados ao nível de TSH, enquanto que aqueles envolvidos no transporte e metabolismo desses hormônios, ao nível de T4l (9).

Curiosamente, variantes de genes com desconhecida função na fisiologia da tireoide (*SLC17A4* e *AADAT*) também têm sido reveladas em GWAS e tem ampliado a compreensão da arquitetura genética do eixo HHT (18,9).

DESIODASES

Os hormônios tireoidianos (HT) controlam orquestradamente diversos processos e sistemas orgânicos. Embora os níveis de HT circulantes sejam estáveis, a sinalização celular é customizada por transportadores de membrana, desiodação intracelular e transcrição do genes mediada pelo receptor (TR) (86,4). No interior celular, os HT podem ser ativados ou inativados pelas desiodases tipo 1, 2 ou 3, de acordo com a demanda local. A ativação ocorre pela conversão do T4 em T3, via desiodação do anel externo, e inativação pela conversão de T3 em T3r e T2, via desiodação do anel interno (86,4).

As desiodases são enzimas que contêm, no seu centro ativo, o aminoácido selenocisteína que garante eficácia nas reações de oxidação e de redução, como a desiodação (99). Sua

estrutura é formada por membrana dimérica composta por um segmento N-terminal, conectado ao domínio globular que abriga o centro ativo (86,4).

- Gene *DIO1*

O gene *DIO1* está situado no *locus* 1p32.3, é expresso no fígado e rins e codifica a desidase tipo 1 (DIO1). Essa enzima está localizada na membrana celular e contribui de maneira preponderante com a concentração plasmática de T3 (86,4). Por outro lado, sua baixa afinidade com T4 e sua localização celular tornam o seu papel menos relevante na sinalização local dos hormônios tireoidianos (4). A DIO1 é capaz de desidar o anel interno e o externo, ativando e inativando os hormônios tireoidianos, produzindo T3 e T3r (4).

- Gene *DIO2*

O gene *DIO2*, situado no *locus* 14q31.1, é expresso principalmente no cérebro, na hipófise, no tecido adiposo marrom e no músculo esquelético (4). Codifica a desidase tipo 2 (DIO2), enzima residente no retículo endoplasmático nas proximidades do compartimento nuclear. Tem maior afinidade por T4, quando comparada a DIO1. A atividade da DIO2 é regulada por estressores metabólicos, como frio e estímulo adrenérgico, via geração de AMPc intracelular (87).

O T3, decorrente da conversão do T4 pela DIO2, fica prontamente disponível no citosol, próximo ao núcleo e seu receptor (TR), assumindo o papel mais importante na sinalização local dos HT (88,4). A atividade da DIO2 é modulada pela concentração intracelular de T4 (4). Na presença de alta concentração de T4, a DIO2 pode ser desativada via processo de ubiquitinação. Isso justifica a meia-vida variável da DIO2, entre 20 minutos e algumas horas, dependendo da concentração celular do seu substrato (89,4).

- Gene *SCL17A4*

Os transportadores de hormônios tireoidianos na membrana plasmática controlam a sua biodisponibilidade intracelular (90). A bicamada lipídica celular que forma a membrana plasmática é relativamente impermeável aos hormônios tireoidianos, portanto, sua captação e seu efluxo dependem desses transportadores (4,90). Existem 16 tipos de transportadores, pertencentes a cinco famílias distintas de proteínas: os transportadores de ânions orgânicos

(OATPS, SLC10 e SLC17), de aminoácidos do tipo L (LATS) e de monocarboxilato (SLC16 ou MCTs) (90). O mais específico é o MCT8 (4,90).

A família SLC17 é um grupo de nove proteínas identificadas como transportadores de ânions orgânicos (90). O SLC17A4 é o único da família envolvido no transporte dos HT. O seu gene está localizado no Chr6p22.2 e é expresso no fígado, rins e trato gastrointestinal (9,90). Uma grande metanálise de GWAS para função da tireoide revelou a associação entre o *locus SLC17A4* e níveis de T4I (18). Estudos *in vitro*, realizados subsequentemente, demonstraram que a superexpressão do *SLC17A4* induziu fortemente o acúmulo de T3 e T4 intracelular (18). Porém, embora a associação entre esse transportador e hormônios da tireoide tenha sido demonstrada, são necessários mais estudos para caracterizar melhor sua especificidade a T3 e T4, mecanismo de transporte e inibidores específicos.

3 OBJETIVOS

GERAL

O objetivo do estudo foi avaliar a associação de oito polimorfismos genéticos com a função tireoidiana, em população geriátrica de mulheres eutireoidianas.

ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a frequência, na população geriátrica de mulheres eutireoidianas, dos oito polimorfismos estudados e comparar com dados do mundo, da Europa, África, e Brasil.
- ✓ Comparar os níveis de TSH, T4 livre e T3 livre entre grupos de alelo selvagem vs. alelo polimórfico de genes envolvidos na função tireoidiana.
- ✓ Avaliar a associação do polimorfismo rs225014 do gene DIO2 e a presença de comorbidades (DM, DLP ou HAS) em mulheres idosas eutireoidianas.

4 HIPÓTESES

- H0: Os polimorfismos estudados associam-se à função tireoidiana de idosas eutireoidianas.
- H1: Os polimorfismos estudados não se associam à função tireoidiana de idosas eutireoidianas.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta dissertação de mestrado integra linha de pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Processos Interativos de Órgãos e Sistemas, do Instituto de Ciências da Saúde (ICS) e do Laboratório de Estudo da Tireoide, ambos da Universidade Federal da Bahia (UFBA); atende às normas para a realização de pesquisa em seres humanos, de acordo com a Resolução n. 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS), sendo submetido para aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do ICS/UFBA e registrado na Plataforma Brasil com CAAE 93016218.9.0000.5662.

5.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo observacional, analítico e de corte transversal, realizado entre agosto de 2018 e junho de 2019, em Salvador, cidade litorânea e capital do estado da Bahia. Idosas não institucionalizadas frequentadoras da Universidade Aberta da Terceira Idade (UATI) da Universidade Estadual da Bahia (UNEB) foram selecionadas para o estudo.

A Universidade Aberta à Terceira Idade, UATI, é um programa de extensão universitária que se caracteriza como uma proposta de educação continuada não formal; atende a pessoas de ambos os sexos de qualquer nível socioeducacional, cuja faixa etária seja igual ou superior a 60 anos, objetivando a reinserção psicossocial para o pleno exercício da cidadania e desenvolvendo ações educativas de caráter permanente; tem o propósito de, sob a ótica da Pedagogia Social, estimular a reflexão sobre as diversas concepções de velhice no cenário da contemporaneidade. A UATI atende atualmente 800 pessoas em Salvador e em torno de 3 mil no total das unidades de ensino onde funciona o programa. A UATI/UNEB é formada por uma equipe multidisciplinar de profissionais das áreas de Pedagogia, Direito, Biologia, Psicologia, Nutrição, Enfermagem, entre outros.

5.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO

A amostra foi selecionada por conveniência e composta por mulheres idosas com mais de 60 anos, frequentadoras da UATI, no período das suas atividades.

5.3 GRUPO AMOSTRAL

Realizou-se o cálculo do poder estatístico utilizando o *software* GPower 3.1.9.7 (91–93). O tamanho da amostra atual (64 pacientes) detectou um poder de 80%, considerando um tamanho de efeito (Cohen D) de 0,3.

5.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Inclusão

- a) Idosas (> 60 anos) assistidas pela UATI e que consentiram e assinaram o TCLE e/ou tiveram a permissão dos seus responsáveis legais para a pesquisa e ações na UATI.
- b) Ausência de limitações físicas e psicológicas que impedissem a execução dos protocolos adotados no estudo: (I) distúrbios neurológicos grave, (II) histórico de acidente vascular cerebral (AVC), (III) incapacidade de fornecer a própria amostra urinária/coleta de sangue venoso, (IV) não conseguirem/não poderem ficar em pé, (V) uso de marcapasso cardíaco (devido à utilização de bioimpedância elétrica), (VI) tenha realizado exame com contraste iodado nos últimos dois meses (tomografia, entre outros).

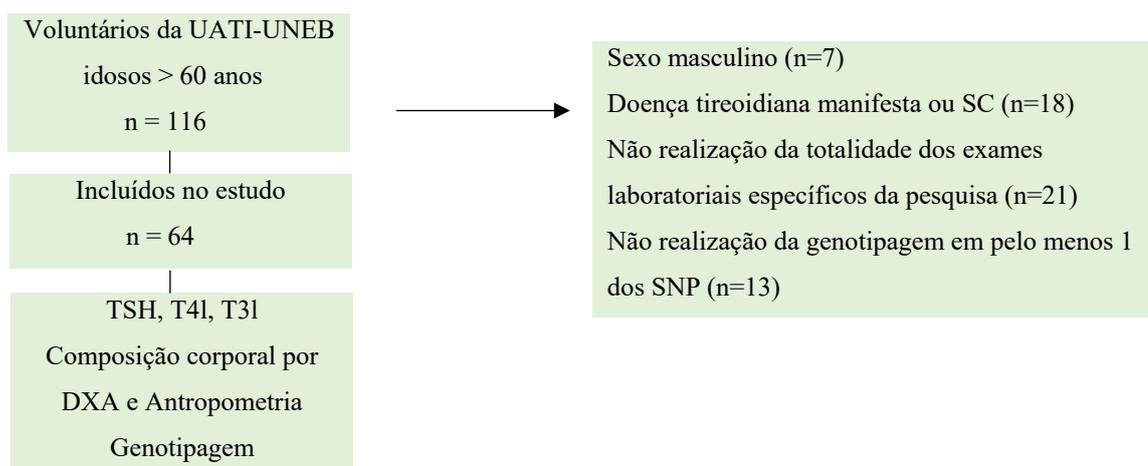
116 indivíduos estavam aptos para participa do estudo.

Exclusão

- a) Sexo masculino, pois integravam a minoria dos alunos matriculados na UATI (n=7).
- b) Doença tireoidiana manifesta ou subclínica, independente da positividade para autoanticorpos. Ou seja, indivíduos com função tireoidiana normal e autoanticorpos positivos ou negativos (anti-TPO e anti-tireoglobulina) permaneceram no estudo (n=18).
- c) Não realização da totalidade dos exames laboratoriais específicos nossa pesquisa (n=21).
- d) Não realização da genotipagem para análise de pelo menos 1 dos polimorfismos selecionados (n=13).

Resultado

Incluíram-se no estudo 64 indivíduos do sexo feminino, conforme fluxograma abaixo:



5.5 DADOS SOCIOECONÔMICOS E CLÍNICOS

Para caracterização da população estudada, foram coletadas informações socioeconômicas, demográficas e de saúde mediante a aplicação de questionário, realizada no próprio *campus* da UATI-UNEB por equipe de alunos universitários vinculados ao projeto.

5.6 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL

A avaliação nutricional foi realizada mediante questionário de Mini Avaliação Nutricional (MNA), da análise da composição corporal por DXA e da avaliação antropométrica (94).

5.6.1 Mini Avaliação Nutricional – (MNA)

A MNA é uma ferramenta de triagem para avaliação nutricional que visa identificar idosos com risco de desnutrição. Consiste em um questionário que pode ser completado em até dez minutos (ANEXO B), dividido em quatro partes: triagem; avaliação antropométrica e global (perguntas relacionadas com o modo de vida, medicação, mobilidade e problemas psicológicos); avaliação dietética (perguntas relativas ao número de refeições, ingestão de alimentos e líquidos e autonomia na alimentação); e autoavaliação (auto percepção da saúde e da condição nutricional). O estado nutricional é determinado a partir da soma dos escores conforme Tabela 1 (94–97).

Tabela 1: Estado nutricional segundo critérios da Mini Avaliação Nutricional

Estado nutricional adequado	MNA \geq 24
Risco de desnutrição	MNA entre 17 e 23,5
Desnutrição	MNA $<$ 17

Fonte: Mini Nutritional Assessment (MNA): Research and Practice in the Elderly (95)

5.6.2 Análise da Composição Corporal por absorciometria radiológica de dupla energia (DXA), feita em densitômetro

A DXA é um instrumento amplamente disponível para análise da composição corporal de forma não invasiva e reproduzível (98). Os valores absolutos estimados de massa gorda ou muscular, seja esquelética total ou apendicular, estão correlacionados com o tamanho do corpo e, por isso, devem ser ajustados para altura, peso ou IMC (99).

Os participantes deste estudo realizaram este exame no Laboratório a+ Medicina Diagnóstica, Grupo Fleury, localizado na rua Pernambuco, bairro Pituba, com densitômetro modelo PRODIGY ADVANCE Lunar-GE. Estavam em jejum de quatro horas e com vestimentas leves. O laudo foi dado por observador único, médico radiologista, fornecendo informações sobre: índice de gordura corporal (FMI), massa magra apendicular (ALM) e Índice de Baumgartner, conforme Quadro 1.

Quadro 1: Laudo da análise de composição corporal por absorciometria radiológica de dupla energia feita em densitômetro

MASSA TOTAL Gordura + Massa Magra + Massa Óssea
AVALIAÇÃO GORDURA CORPORAL Gordura Corporal total - Índice de Gordura Corporal (FMI) Gordura Androide - Gordura Ginoide - Relação % Androide / Ginoide
AVALIAÇÃO MASSA MAGRA Massa Magra Total - Massa Magra Apendicular (ALM) ALM / (Altura) ² (Índice de Baumgartner)
AVALIAÇÃO MASSA ÓSSEA

Fonte: Dados da pesquisa.

5.6.3 Avaliação antropométrica

A medida da circunferência da cintura (CC) foi feita com fita métrica inelástica, a partir do ponto médio entre a última costela e parte superior do osso ilíaco. O ponto de corte para mulheres, pela Organização Mundial da Saúde (OMS), é 88cm (99).

A circunferência da panturrilha (CP) foi obtida por fita antropométrica inelástica, posicionada na perna esquerda (ou na perna direita para os canhotos), no ponto de maior circunferência, com a pessoa em uma posição sentada com o joelho e o tornozelo em ângulo reto e os pés, descansando no chão. É necessário remover a roupa na parte inferior do corpo para que a medida possa ser tomada em pele nua. Conforme descrito por Cruz-Jentoft e colaboradores, CP menor que 31 cm é considerado indicativo de baixa massa muscular (100). Esse ponto de corte é recomendado em pessoas idosas pelo Comitê de Peritos da OMS e utilizado como critério da MNA (96).

O peso foi aferido em balança digital portátil da marca Plenna® modelo Sport, com capacidade de 150 kg e divisão de 100 gramas. Para mensuração do peso, o indivíduo subia na balança e permanecia parado na posição contrária ao leitor. Realizaram-se duas medidas e registrou-se a média das aferições.

A mensuração da estatura foi realizada utilizando-se estadiômetro portátil marca Sanny®, com capacidade máxima de 204 centímetros e precisão de 5 mm, com participante em ortostase, pés alinhados, coluna ereta e contra o estadiômetro montado na parede, no plano horizontal de Frankfort.

O índice de massa corporal (IMC) é uma ferramenta que mensura e classifica o estado nutricional, a partir das medidas de peso e altura. É calculado dividindo o peso (em quilogramas) pela altura ao quadrado (em metros). A partir dessa razão, é possível classificar o indivíduo em: abaixo do peso, peso normal, sobrepeso e obesidade (99). A classificação mais atual adotada está descrita na Tabela 2.

Tabela 2: Índice de Massa Corporal

Abaixo de 18,5	Abaixo do peso
Entre 18,6 e 24,9	Peso Normal
Entre 25 e 29,9	Sobrepeso
Acima de 30	Obesidade

Fonte: Organização Mundial da Saúde

5.7 AVALIAÇÃO LABORATORIAL

A coleta foi realizada após jejum noturno, no sangue venoso periférico, no laboratório DNA, razão social Centro Laboratorial de Genética e Biologia Molecular Ltda, CNPJ 00.912.031/0004-61. A unidade escolhida fica próxima ao campus da UNEB, na Rua Estrada das Barreiras, número 86, Cabula. As dosagens do TSH, T4l, T3l, APO e AAT foram feitas pelo método eletroquimioluminescência. Para todos os analitos, foram utilizados testes Do Laboratório Roche, compatíveis com o Cobas 601, exceto para APO, quando foi utilizado equipamento da Architect da Abbott. Os coeficientes de variabilidade inter ensaios para TSH é 1,76%, T3l 2,12% e T4l 3,05% (classificados como ótimos). Os valores de referência foram 0,27 - 4,2mU / L para TSH, 0,93 - 1,70 ng / dL para T4l, 2,0 - 4,4 pg / mL para T3l e < 5,61 UI/mL. As informações sobre método utilizado e valores de referência dos exames laboratoriais realizados estão agrupados na Tabela 3.

Tabela 3: Exames laboratoriais

Exames	Método utilizado	Valores de referência
TSH	Eletroquimioluminescência	0,27 - 4,2 mU / L
T4l	Eletroquimioluminescência	0,93 - 1,70 ng / dL
T3l	Eletroquimioluminescência	2,0 - 4,4 pg / mL
APO	Eletroquimioluminescência	< 5,61 UI / mL
AAT	Eletroquimioluminescência	< 4,11 UI / mL

Fonte: Laboratório DNA

5.8 EXTRAÇÃO DE DNA

A extração de DNA foi realizada a partir de amostras de sangue periférico, de acordo com o protocolo do kit comercial *RecoverAll™ Total Nuclei Acid Isolation Kit for FFPE* (Life Technologies, Carlsbad, CA). Após a extração, realizou-se a quantificação do DNA presente nas amostras, que posteriormente foram uniformizadas para uma concentração de 5 ng/uL. O DNA extraído foi armazenado em tubos identificados com os respectivos códigos e mantido em freezer à -20 °C, no Biorrepositório do LET/UFBA, até a sua utilização na genotipagem.

5.9 SELEÇÃO DE GENES ESTUDADOS

Selecionaram-se polimorfismos de genes candidatos, envolvidos em diversos aspectos importantes da ontogênese, em biossíntese hormonal ou em mecanismo de ação dos hormônios tireoidianos. Esses polimorfismos de nucleotídeo único já foram previamente associados, de maneira independente, à função tireoidiana em estudos de associação do genoma: rs12885300 (16), rs225014 (16) e rs978055 (18) (gene *DIO2*); rs223554 (101) (gene *DIO1*); rs9356988 (18) (gene *SLC17A4*); rs753760 (73) (gene *PDE10A*); rs1571583 (73,102) (gene *GLIS3*) e rs7045138 (73,103,74) (gene *PTCSC2*). A seguir, o Quadro 2 mostra os polimorfismos selecionados, a localização nos genes e as funções.

SNP	CROMOSSOMO	GENE	REGIÃO NO GENE	EIXO HHT	FUNÇÃO
rs753760	6	<i>PDE10A</i>	Íntron	TSH	Codifica uma fosfodiesterase de dupla especificidade abundante na tireoide, hidrolisa AMPc e GMPc.
rs1571583	9p24.2	<i>GLIS3</i>	Íntron 2	TSH	O GLIS3 funciona como repressor e ativador da transcrição e está especificamente envolvido no desenvolvimento da tireoide.
rs7045138	9	<i>PTCSC2</i>	Íntron	T4l	Codifica fator de transcrição envolvido na morfogênese da tireoide (FOXEl)
rs2235544	1p32	<i>DIO1</i>	Intron 3	T4l	Conversão de T4 em T3 e T3r em T2
rs978035	14q32	<i>DIO2</i>	Íntron	T4l	Conversão de T4 em T3 e T3r em T2
rs12885300	14q32	<i>DIO2</i>	5'UTR	T3l:T4l	Conversão de T4 em T3 e T3r em T2
rs225014	14q32	<i>DIO2</i>	Exon 2		Conversão de T4 em T3 e T3r em T2
rs9356988	6p22.2	<i>SLC17A4</i>			

Quadro 2: Caracterização dos polimorfismos de nucleotídeo único selecionados

Fonte: Ensembl

5.10 GENOTIPAGEM

Para avaliação dos polimorfismos, utilizou-se a técnica de PCR quantitativa em tempo real. O procedimento foi realizado pelo método *TaqMan*® *SNP Genotyping* (QuantStudio 12K, Applied Biosystems, CA), utilizando ensaio de genotipagem com sondas e *primers* *TaqMan*®, em uma combinação de hibridização e atividade de DNA polimerase, associada à detecção de

fluorescência (104). Para essa análise, utilizou-se uma solução de 5 µl, contendo 2,5 µl de Taqman PCR Master Mix universal, 0,06 µl de sonda e 1,04 µl de água DPEC misturada com 1,4 µl de DNA em uma placa de 384 poços. As condições da PCR foram as seguintes: fase de pré-leitura a 60 °C por 30 segundos; fase de pré-PCR a 95 °C por 10 minutos; fase de PCR com 40 ciclos, considerando as temperaturas de 95 °C por 15s e 60 °C por 1 minuto; fase final da PCR a 60 °C por 30 segundos. Utilizou-se o software *Sequence Detection*, versão 1.3 (Applied Biosystems, CA) para a análise dos dados.

5.11 ANÁLISE DAS ASSOCIAÇÕES ENTRE PARÂMETROS SÉRICOS DA FUNÇÃO TIREOIDIANA E POLIMORFISMOS

Para avaliar associações entre parâmetros séricos da tireoide e polimorfismos genéticos, contou-se com três modelos genéticos: **aditivo**, usado para determinar se a presença do alelo polimórfico, está associada à maior chance de alterações na função tireoidiana; **dominante**, usado para comparar indivíduos com pelo menos uma cópia do alelo polimórfico *versus* aqueles em homozigose para o alelo selvagem; **recessivo**, usado para determinar se aqueles em homozigose para o alelo polimórfico têm maior chance de modificar a função tireoidiana, quando comparados a indivíduos com pelo menos uma cópia do alelo selvagem (105). Neste estudo, optou-se pelo modelo **dominante** devido ao tamanho da amostra.

6 ASPECTOS ESTATÍSTICOS

O teste não paramétrico de *Mann-Whitney* foi utilizado em todas as análises com variáveis quantitativas, uma vez que o teste de *Shapiro-Wilk* e a inspeção gráfica (histogramas e boxplots) expressaram uma distribuição não-gaussiana para as variáveis avaliadas. Dessa forma, os dados foram apresentados como mediana e intervalo interquartil (IIQ). Para as variáveis de natureza categórica, empregou-se o teste Qui-quadrado para comparar duas proporções e o teste Exato de Fisher para avaliar a associação entre duas variáveis qualitativas. O teste Exato de Fisher foi utilizado todas as vezes em que os pressupostos para o uso do teste Qui-quadrado não foram atendidos. O *Hardy-Weinberg-Equilibrium* (HWE) foi calculado usando o teste qui-quadrado. O software estatístico STATA, versão 10, foi utilizado para a realização das análises descritivas e dos testes estatísticos. O nível de significância adotado foi de 0,05.

A associação entre os SNP e testes séricos da tireoide foi avaliada utilizando-se o modelo genético **dominante**, usado para comparar indivíduos com pelo menos uma cópia do alelo polimórfico *versus* aqueles em homozigose para o alelo selvagem (102).

7 ASPECTOS ÉTICOS E FINANCEIROS

Este trabalho foi executado de acordo com a norma 196/96 da Comissão Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP) e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – CAAE: 93016218.9.0000.5662.

Os experimentos relacionados à genotipagem foram executados no Laboratório de Estudo da Tireoide (LET), do Instituto de Ciências da Saúde (ICS/UFBA). Real-time PCR foi realizada em colaboração com o Laboratório de Imunofarmacologia e Biologia Molecular (IMUNOBIO) do ICS/UFBA. O projeto teve financiamento do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq Chamada MCTIC/CNPq Nº 28/2018 – Universal, Processo: 404663/2018-4. O projeto conta com três alunos bolsistas de iniciação científica vinculados ao Edital Programa Permanecer 2019, Projeto nº 16135 (Morgana Miranda Ramos), SISBIC, Edital PROPCI/UFBA 01/2019 PIBIC, Projeto nº 16600 (Lorena Rejane Maia de Jesus e Jenifer Freitas Arcelino).

8 RESULTADOS

Esta seção reúne os dados que compõem os resultados deste estudo, detalhados em três partes, conforme segue.

8.1 DADOS CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DA AMOSTRA

Completaram o estudo 64 indivíduos. A mediana da idade foi de 70 (IIQ=65-73) anos, 100% do sexo feminino. As medianas do TSH, T4l e T3l foram de, respectivamente, 2,17mU / L (IIQ=1,58-2,97), 1,12 ng / dL (IIQ=1,04-1,20) e 2,78 pg / mL (IIQ=2,64-2,98). A mediana do IMC foi de 26,3kg/m² (IIQ=24-30,6). Hipertensão arterial sistêmica, diabetes *mellitus* e dislipidemia estavam presentes em 62,26%, 24,53% e 39,62% da amostra, respectivamente.

A maioria das voluntárias estava com condição nutricional adequada (79,25%), nenhuma delas apresentava risco de desnutrição. As medianas das circunferências da panturrilha e cintura foram de 30cm (IIQ=27-32) e 91,5cm (IIQ=87-99), respectivamente. A Tabela 4 resume as características sociodemográficas e clínicas.

Tabela 4: Características demográficas, clínicas e antropométricas dos participantes do estudo (n=64).

Variáveis	
Idade (anos), Med (IIQ) (n=64)	70 (65-73)
Atividade física, n (%) (n=52)	44/52 (84,62%)
Tabagismo, n (%) (n=52)	2/52 (3,85%)
Lawton, Med (IIQ) (n=58)	21 (20-21)
Comorbidades	
HAS, n (%) (n=53)	33/53 (62,26)
DM, n (%) (n=53)	13/53 (24,53)
DLP, n (%) (n=53)	21/53 (39,62)
Dados clínicos e antropométricos	
IMC, Med (IIQ) (n=55)	26,3 (24-30,6)
Índice de massa gorda (kg/m ²), Med (IIQ) (n=33)	10,2 (8,3-12,8)
Massa magra apendicular, Med (IIQ) (n=33)	16,9 (15,4-18,2)
Índice de Baumgartner, Med (IIQ) (n=33)	6,7 (6,4-7,5)

Circunferência da cintura, Med (IIQ) (n=54)	91,5 (87-99)
Circunferência da panturrilha, Med (IIQ) (n=54)	30 (27-32)
Testes de função da tireoide	
TSH, Med (IIQ) (n=64)	2,17 (1,58-2,97) mU / L
fT ₃ , Med (IIQ) (n=64)	2,78 (2,64-2,98) pg / mL
fT ₄ , Med (IIQ) (n=64)	1,12 (1,04-1,20) ng / dL
Anti TPO positivo, n (%)	8/64 (12,50)
Avaliação nutricional (MNA)	
Nutrição adequada, n (%) (n=53)	42/53 (79,25)
Risco de desnutrição, n (%) (n=53)	11/53 (20,75)
Desnutrição n (%) (n=53)	0/53 (0,00)

Fonte: Dados da pesquisa.

8.2 FREQUÊNCIA ALÉLICA

Após a genotipagem e as frequências alélicas dos polimorfismos em estudo foram calculadas e comparadas com aquelas encontradas na população global, europeia, africana e brasileira. Todos os polimorfismos estavam em equilíbrio de Hardy-Weinberg. As Tabelas 5 e 6 expõem esses dados.

Tabela 5: Frequência alélica dos polimorfismos estudados

SNP-Gene	Global	Europa	África	Brasil	Este estudo
rs12885300-DIO2	C=81% / T=19%	C=64% / T=36%	C=98% / T=2%	C=71% / T=29%	C=82% / T=18%
rs225014-DIO2	T=54% / C=46%	T=66% / C=34%	T=54% / C=46%	T=59% / C=41%	T=59% / C=41%
rs978055-DIO2	T=55% / A=45%	T=61% / A=39%	T=42% / A=58%	T=58% / A=42%	T=55% / A=45%
rs2235544-DIO1	C=54% / A=46%	C=48% / A=52%	C=84% / A=16%	C=55% / A=45%	C=62% / A=38%
rs9356988- SLC17A4	G=63% / A=37%	G=72% / A=28%	G=81% / A=19%	G=70% / A=30%	G=67% / A=33%
rs753760-PDE10A	C=69% / G=31%	C=68% / G=32%	C=59% / G=41%	C=67% / G=33%	C=61% / G=39%
rs1571583- GLIS3	A=31% / G=69%	A=25% / G=75%	A=20% / G=80%	A=25% / G=75%	A=24% / G=76%
rs7045138- PTCSC2	C=34% / T=66%	C=47% / T=53%	C=37% / T=63%	C=42% / T=58%	C=40% / T=60%

Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 6: Frequência alélica das populações global, europeia, africana e brasileira

SNP	Gene	Frequência Alélica	HWE ¹
rs12885300	DIO2	C=0,82 / T=0,18 (n=36)	p= 0,71 (Sim)
rs225014	DIO2	T=0,59 / C=0,41 (n=41)	p=0,32 (Sim)
rs978055	DIO2	T=0,55 / A=0,45 (n=57)	p= 0,10 (Sim)
rs2235544	DIO1	C=0,62/ A=0,38 (n=63)	p=0,47 (Sim)
rs9356988	SLC17A4	G=0,67 / A=0,33 (n=64)	p=0,36 (Sim)
rs753760	PDE10A	C=0,61 / G=0,39 (n=64)	p=0,51 (Sim)
rs1571583	GLIS3	A=0,24 / G=0,76 (n=64)	p=0,61 (Sim)
rs7045138	PTCSC2	C=0,40 / T=0,60 (n=63)	p= 0,82 (Sim)

Fonte: Ensembl e *Brazilian genomic variants* (ABraOM)

8.4 ANÁLISE DA FREQUÊNCIA GENOTÍPICA E DA ASSOCIAÇÃO ENTRE OS POLIMORFISMOS GENÉTICOS E FUNÇÃO TIREOIDIANA

Agruparam-se os alelos polimórficos em homozigose e em heterozigose e compararam-se com os alelos selvagens em homozigose. Calcularam-se as frequências genotípicas desses 2 grupos formados. Para análise das associações entre os genótipos e função tireoideana, utilizou-se o modelo genético dominante.

A seguir, descrevem-se os resultados do estudo das associações encontradas entre cada gene e seus polimorfismos, estudados com os níveis séricos de TSH, T4l e T3l na população avaliada, constituída de mulheres idosas eutireoideanas. Utilizaram-se os termos selvagem para o alelo de maior frequência e polimórfico para o alelo de menor frequência.

Gene *DIO2*

Para o gene *DIO2*, foram estudados três polimorfismos genéticos:

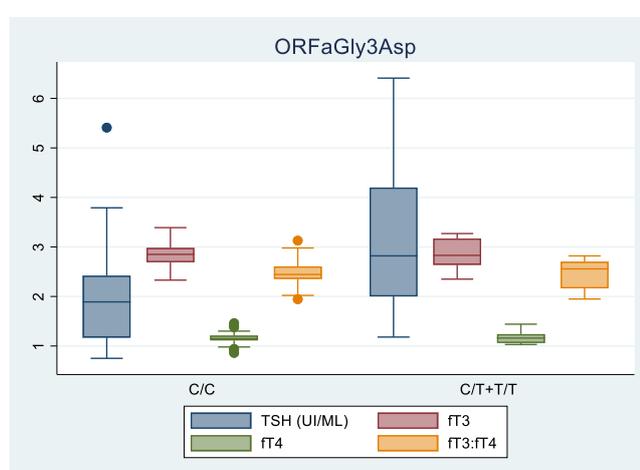
- **rs12885300 (ORFaGly3Asp)**

Fizeram genotipagem deste polimorfismo 36 participantes do estudo. O alelo selvagem é C e o polimórfico, T; 25 (69,44%) participantes apresentavam genótipo C/C, enquanto que 11 (30,56%) apresentavam genótipo C/T ou T/T.

Associação do SNP com função tireoideana: as medianas do TSH, T3l e T4l para o alelo selvagem em homozigose (C/C) foram 1,89mU/L (IIQ=1,17-2,42), 2,85pg/dL (IIQ=2,69-2,98)

e 1.15ng/mL (IIQ=1,11-1,21). Enquanto que, para o alelo polimórfico em homozigose ou heterozigose (C/T + T/T), foram 2,82mU/L (IIQ=2,0-4,2), 2.83pg/dL (IIQ=2,64-3,17) e 1.16 ng/mL (IIQ=1,06-1,24) (TSH, T3l e T4l, respectivamente). Encontrou-se diferença com significância estatística nos níveis séricos de TSH, entre os alelos selvagem (C/C) *versus* polimórfico (C/T + T/T) ($p = 0,03$). Estes dados estão representados no Gráfico 1.

Gráfico 1: Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs12885300 do gene *DIO2*. Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (C/C) e polimórfico (C/T + T/T).



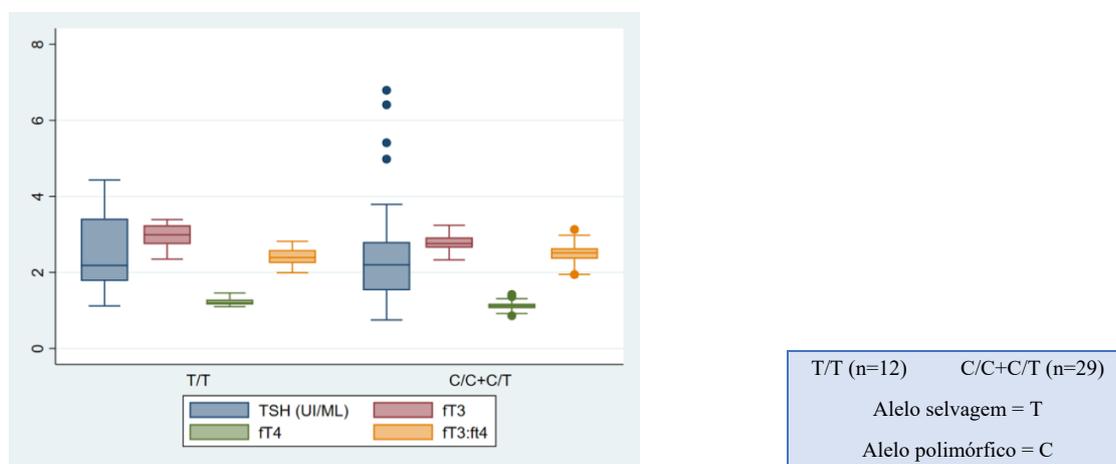
C/C (n=25)	C/T+T/T (n=11)
Alelo selvagem = C	
Alelo polimórfico = T	

Fonte: Dados da pesquisa.

- **rs225014 (Thr92Ala)**

Fizeram genotipagem deste polimorfismo 41 participantes do estudo. O alelo selvagem é T e polimórfico, C; 12 (29,27%) das participantes do estudo apresentavam genótipo T/T e 29 (70,73%) delas apresentavam genótipo C/C ou C/T. Associação do SNP com função tireoidiana: as medianas do TSH, T3l e T4l para o alelo selvagem em homozigose (T/T) foram de 2,19 mU/L (IIQ=1,78-3,42), 2,99 pg/dL (IIQ=2,75-3,24) e 1.20 ng/mL (IIQ=1,16-1,29). Enquanto que, para o alelo polimórfico em homozigose ou heterozigose (C/C + C/T), foram 2.20mU/L (IIQ=1,53-2,80), 2.73pg/dL (IIQ=2,65-2,92) e 1.12ng/mL (IIQ=1,06-1,18) (TSH, T3l e T4l, respectivamente). Para os níveis de T4l, houve diferença com significância estatística entre os dois grupos (T/T vs. C/C + C/T) ($p=0,02$). Não se observaram diferenças significativas quanto ao TSH e T3l, quando comparam-se os dois grupos ($p=0,57$ e $p=0,05$, respectivamente). Os dados estão representados no Gráfico 2.

Gráfico 2: Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs225014 do gene *DIO2*. Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (T/T) e polimórfico (C/C + CT).



Fonte: Dados da pesquisa.

Para este polimorfismo, dada a sua relevância clínica, analisaram-se também associações com alguns parâmetros clínicos: DM, DLP e HAS. Não foram encontradas associações significativas, quando foram comparados os grupos selvagem (T/T) e polimórfico (C/C + C/T), quanto à presença de comorbidades, conforme demonstrado na Tabela 7.

Tabela 7: Comparação entre os grupos selvagem (n=12, T/T) e polimórfico (n=29, C/C + C/T) do polimorfismo rs225014 do gene *DIO2* quanto à presença de comorbidades clínicas.

Variável	T/T	C/C + C/T	p-valor
n (%)	12 (29,27)	29 (70,73)	
HAS (%)	7 (63,64)	16 (61,54)	1,00 ¹
Diabetes (%)	3 (27,27)	5 (19,23)	0,67 ¹
Dislipidemia (%)	3 (27,27)	8 (30,77)	1,00 ¹

Fonte: Dados da pesquisa.

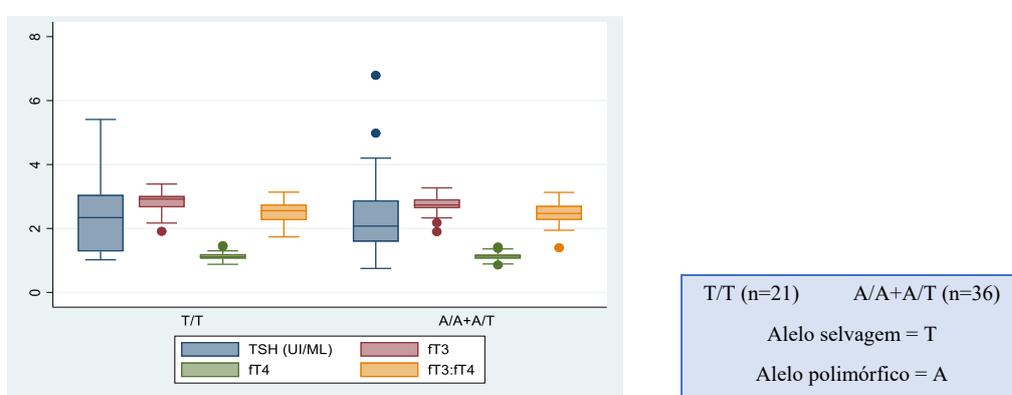
Legenda: Med = mediana; IIQ= Intervalo Interquartil Teste Exato de Fisher¹

- **rs978055**

Fizeram genotipagem deste polimorfismo 57 participantes do estudo. O alelo selvagem é T e o polimórfico, A; 21 (36,84%) participantes apresentavam o genótipo T/T e 36 (63,16%), apresentavam o genótipo A/A ou A/T.

Associação do SNP com função tireoidiana: as medianas do TSH, T3l e T4l para o alelo selvagem em homozigose (T/T) foram 2,34 mU/L (IIQ=1,25-3,05), 2,92 pg/dL (IIQ=2,66-3,01) e 1,12g/mL (IIQ=1,06-1,2). Enquanto que, para o alelo polimórfico em homozigose ou heterozigose (A/A + A/T), foram 2,08 mU/L (IIQ=1,59-2,88), 2,74 pg/dL (2,64-2,92) e 1,14 ng/mL (1,06-1,19) (TSH, T3l e T4l, respectivamente). Não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos (T/T vs. A/A + A/T) ($p=0,80$; $p=0,11$; $p=0,86$, respectivamente). Estes dados estão representados no Gráfico 3.

Gráfico 3: Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs978055 do gene *DIO2*. Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (T/T) e polimórfico (A/A + A/T).



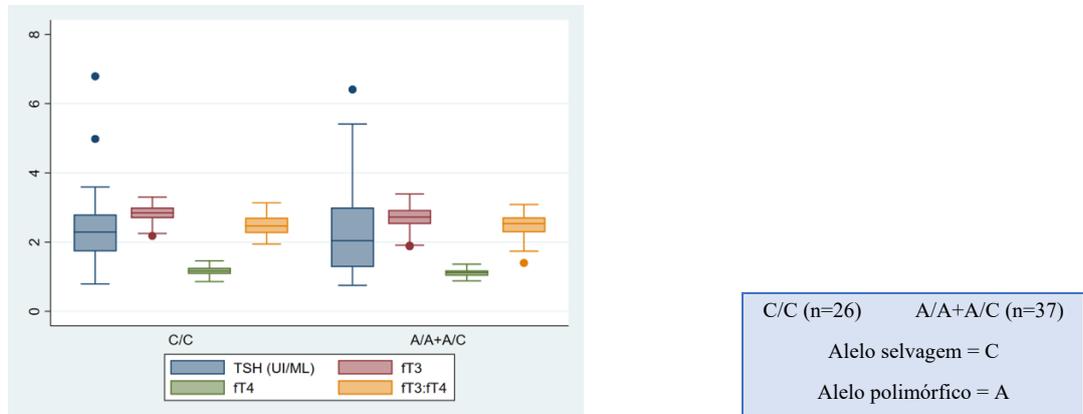
Fonte: Dados da pesquisa.

- **Gene *DIO1***

Para o gene *DIO1*, foi selecionado o polimorfismo **rs2235544**. Fizeram genotipagem deste polimorfismo 63 participantes do estudo. O alelo selvagem é C e o polimórfico, A; 26 (41,27%) participantes apresentavam genótipo C/C e 37 (58,73%), genótipo A/C ou A/A.

Associação do SNP com função tireoidiana: as medianas do TSH, T3l e T4l para o alelo selvagem em homozigose foram 2.29mU/L (IIQ=1,73-2,80), 2.85pg/dL (2,69-3,00) e 1.16ng/mL (1,08-1,26). Enquanto que, para o alelo polimórfico em homozigose ou heterozigose (A/C + A/A), foram 2.04mU/L (1,28-3,00), 2.72pg/dL (2,52-2,93), 1.12pg/dL (1,03-1,18) (TSH, T3l e T4l, respectivamente). Não houve diferença significativa entre os dois grupos (C/C vs. A/A + A/C) ($p=0,81$; $p=0,09$; $p=0,13$; para TSH, T3l e T4l respectivamente). Estes dados estão representados no Gráfico 4.

Gráfico 4: Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs2235544 do gene *DIO1*. Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (C/C) e polimórfico (A/A + A/C).



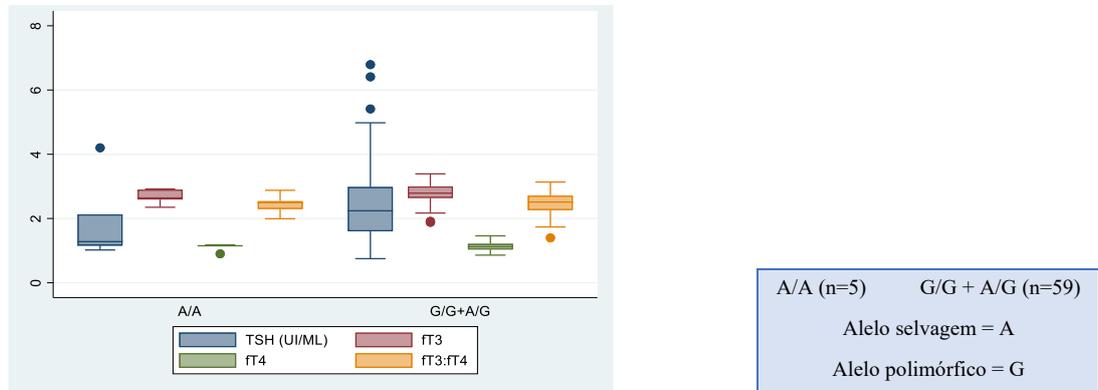
Fonte: Dados da pesquisa.

- **Gene *GLIS3***

Para o gene *GLIS3*, selecionou-se o polimorfismo **rs1571583**. Fizeram genotipagem deste polimorfismo 63 participantes do estudo. O alelo selvagem é A e o polimórfico, G; 5 (7,81%) participantes do estudo apresentam o genótipo G/G e 59 (92,19%), apresentavam o genótipo A/G ou G/G.

Associação do SNP com função tireoidiana: as medianas do TSH, T3l e T4l para o alelo selvagem em homozigose (G/G) foram de 1,28mU/L (IIQ=1,16-2,13), 2,64pg/dL (2,59-2,90) e 1,15ng/mL (1,14-1,17). Enquanto que, para o alelo polimórfico em homozigose ou heterozigose (A/G + G/G), foram 2,24mU/L (1,6-2,98), 2,79pg/dL (2,64-3,00) e 1,12 ng/mL (1,03-1,21) (TSH, T3l e T4l, respectivamente). O resultado não demonstrou diferença significativa ($p=0,22$; $p=0,35$; $p=0,90$ para TSH, T3l e T4l respectivamente). Estes dados estão representados no Gráfico 5.

Gráfico 5: Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs1571583 do gene *GLIS3*. Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (A/A) e polimórfico (G/G + A/G).



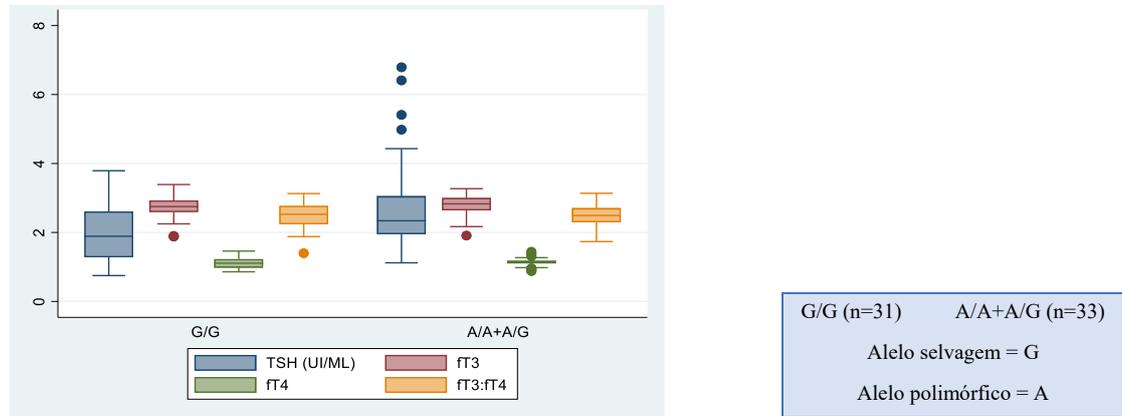
Fonte: Dados da pesquisa.

- **Gene *SLC17A4***

Para o gene *SLC17A4*, foi selecionado o polimorfismo **rs9356988**. Fizeram genotipagem deste polimorfismo 64 participantes do estudo. O alelo selvagem é G e o polimórfico, A; 31 (48,44%) apresentavam genótipo G/G e 33 (51,56%) apresentavam genótipo A/A ou A/G.

Associação do SNP com função tireoidiana: as medianas do TSH, T3l e T4l para o alelo selvagem em homozigose (G/G) foram 1,89mU/L (IIQ=0,98-1,23), 2,75pg/dL (2,59-2,93) e 1,11ng/mL (0,98-1,23). Enquanto que, para o alelo polimórfico em homozigose ou heterozigose (A/A + A/G), foram 2,34mU/L (1,95-3,05), 2,83pg/dL (2,64-3,00) e 1.14 ng/mL (1,10-1,18) (TSH, T3l e T4l, respectivamente). O resultado não demonstrou diferença significativa entre os grupos ($p=0,05$; $p=0,49$; $p=0,49$ para TSH, T3l e T4l). Estes dados estão representados no Gráfico 6.

Gráfico 6: Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs9356988 do gene *SLC17A4*. Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (G/G) e polimórfico (A/A + A/G).



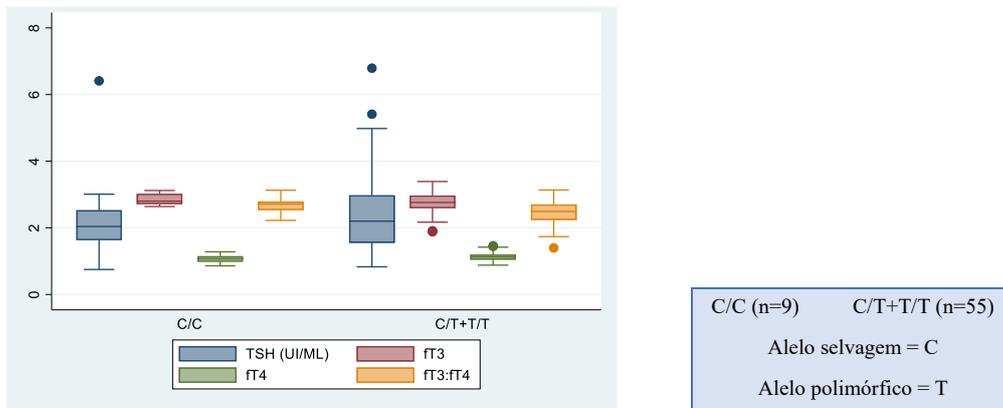
Fonte: Dados da pesquisa.

- **Gene *PTCSC2***

Para o gene *PTCSC2*, foi selecionado o polimorfismo **rs7045138**. Fizeram genotipagem deste polimorfismo 64 participantes do estudo. O alelo selvagem é C e o polimórfico, T; 9 (14%) apresentavam o genótipo C/C e 55 (86%) apresentavam genótipo C/T ou TT.

Associação do SNP, com função tireoidiana: as medianas do TSH, T3l e T4l para o alelo selvagem em homozigose (C/C) foram de 2,04mU/L (IIQ=1,63-2,53), 2,8pg/dL (IIQ=2,71-3,02) e 1,07ng/mL (IIQ=0,98-1,15). Enquanto que, para o alelo polimórfico em homozigose ou heterozigose (T/T + C/T) foram 2,2mU/L (IIQ=1,55-2,98), 2.76pg/dL (2,59-2,97) e 1.13 ng/mL (IIQ=1,05-1,20) (TSH, T3l e T4l). O resultado não demonstrou diferença significativa entre os 2 grupos (p=0,67; p=0,48; p=0,22 para TSH, T3l e T4l, respectivamente). Estes dados estão representados no Gráfico 7.

Gráfico 7: Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs7045138 do gene *PTCSC2*. Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (C/C) e polimórfico (T/T + C/T)



Fonte: Dados da pesquisa.

- **Gene *PDE10A***

Para o gene *PDE10A* foi selecionado o polimorfismo **rs753760**. Fizeram genotipagem deste polimorfismo 64 participantes do estudo. O alelo selvagem é C e o polimórfico, G; 22 (34,38%) apresentavam o genótipo C/C e 42 (65,63%) apresentavam o genótipo G/G ou C/G.

Associação do SNP com função tireoidiana: as medianas do TSH, T3l e T4l para o alelo selvagem em homozigose (C/C) foram de 2,29mU/L (IIQ=1,63-3,79), 2,73pg/dL (IIQ=2,61-2,93) e 1,11ng/mL (1,05-1,18). Enquanto que, para o alelo polimórfico em homozigose ou heterozigose (G/G + C/G), 2,12mU/L (IIQ=1,53-2,82), 2,82pg/dL (2,64-2,98) e 1,15 ng/mL (IIQ=1,03-1,20). O resultado não demonstrou diferença significativa entre os dois grupos ($p=0,22$; $p=0,37$; $p=0,44$ para TSH, T3l e T4l). Estes dados estão demonstrados no Gráfico 8.

Gráfico 8: Análise da associação entre a função tireoidiana e genotipagem para o polimorfismo rs753760 do gene *PTCSC2*. Comparação entre indivíduos portadores de alelos selvagem (C/C) e polimórfico (G/G + C/G).



Fonte: Dados da pesquisa.

9 DISCUSSÃO

Neste estudo, avaliou-se a associação de oito polimorfismos com a função tireoidiana, em população de mulheres com mais de 60 anos de idade. Os polimorfismos selecionados já haviam sido previamente associados, em estudos empregando GWAS, com alterações dos níveis séricos de hormônios relacionados à função da tireoide (TSH, T3I e T4I), em população adulta não geriátrica (18,19). O impacto dessas variantes genéticas, nos níveis séricos hormonais exclusivamente em população geriátrica, ainda não foi formalmente abordado em estudos clínicos. Diante das peculiaridades envolvendo o controle do *set-point* hormonal nessa faixa etária e das potenciais implicações clínicas da utilização de um painel multigênico capaz de aplicar medicina de precisão na interpretação dos testes de função tireoidiana (1,25), optou-se por estudar a associação de oito polimorfismos conhecidos com níveis séricos de TSH, T4I e T3I, em mulheres idosas eutireoidianas independentes da presença de anticorpos tireoidianos.

Calcularam-se as frequências alélicas dos oito polimorfismos estudados e compararam-se com dados da população brasileira. Utilizou-se o *Arquivo Brasileiro Online de Mutações* (ABraOM), repositório de variantes genômicas, obtidas a partir do sequenciamento do genoma completo de amostra censitária de idosos da maior cidade do Brasil, São Paulo, realizado via *Projeto Saúde, Bem-estar e Envelhecimento* (SABE), apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)(106). Encontrou-se congruência entre as frequências alélicas dos nossos resultados e do ABraOM, ambas provenientes de populações geriátricas. A população brasileira é constituída por aproximadamente 500 anos de mistura entre indígenas, africanos e europeus (106,107). Por isso, escolheu-se comparar os presentes resultados com dados da Europa, África, além da população global. Encontrou-se também congruência entre os presentes resultados e dados dos bancos populacionais.

Com relação à análise de associação dos polimorfismos com níveis séricos hormonais, optou-se por comparar dois subgrupos de indivíduos: homocigoto selvagem vs. indivíduos portadores do alelo polimórfico em homocigose ou heterocigose.

O primeiro polimorfismo de nucleotídeo único analisado foi o rs12885300 do gene *DIO2*, que resulta da troca da glicina por aspartato, na sua região não codificadora (20). Peeters e colaboradores (20) identificaram um novo polimorfismo na região 5'-UTR do gene *DIO2* e investigaram sua associação com níveis séricos dos hormônios tireoidianos. Inicialmente, a região 5'-UTR do gene *DIO2* foi analisada para ocorrência desse polimorfismo em 15 doadores de sangue selecionados aleatoriamente. Posteriormente, os genótipos foram determinados por

análise de extensão de base única em dois grupos selecionados para o estudo: o primeiro de adultos jovens, formado por 156 doadores de sangue saudáveis (100 homens, 55 mulheres e 1 não teve sexo identificado), com idade de $49,10 \pm 12,93$ anos (média \pm DP); e o segundo, de idosos, composto por 349 homens com idade de $77 \pm 3,5$ anos (média \pm DP). Em ambos os grupos, as frequências alélicas do alelo polimórfico foram semelhantes, 33,9% para população adulta jovem mista e 33,5% para população de homens idosos, tendo divergido um pouco do presente estudo, pois foram encontrados 18%. O alelo polimórfico (“T”) foi associado a níveis mais baixos de T4I de forma dose-dependente entre adultos jovens, mas não entre idosos (C/C, $7,06 \pm 0,14$ μ g/dl; C/T, $6,74 \pm 0,15$ μ g/dl; T/T $6,29 \pm 0,27$ μ g/dl (20). Nesse estudo não foi observado nenhum efeito do alelo polimórfico no nível de TSH, diferente do presente estudo, em que encontraram-se níveis mais elevados na presença do alelo polimórfico em heterozigose ou homozigose. Ainda em divergência com o citado este estudo, não se encontrou associação entre alelo polimórfico e nível de T4I.

Objetivando caracterizar o comportamento desse polimorfismo (rs12885300 do gene *DIO2*) *in vitro*, Coppotelli e colaboradores clonaram e transfeccionaram os alelos selvagem (C) e polimórfico (T) em células HEK-293, GH3 e H3B (108). A atividade da *DIO2* foi comparada entre os dois grupos e foi demonstrado incremento da atividade basal na presença do alelo polimórfico e redução da relação T4 / T3, sugerindo aumento da expressão gênica dessa enzima (108). Hoftijzer e colaboradores avaliaram 151 pacientes (28 homens e 123 mulheres) com idade de $49,1 \pm 12,9$ anos (média \pm DP), tratados para carcinoma diferenciado de tireoide, com duração média de 11 anos estudo, no Leiden University Medical Center, um centro de referência terciário para carcinoma de tireoide. Demonstraram que pacientes tratados com tireoidectomia quase total, seguida da ablação com radio iodo e supressão do TSH com levotiroxina, em homozigose para esse polimorfismo (T/T), tem ponto de ajuste alterado do eixo HHT. O feedback negativo de T4 no TSH é mais fraco (níveis de TSH mais elevados em combinação com níveis de T4I iguais) para o alelo polimórfico em homozigose (T/T), quando comparado ao alelo selvagem (C/C ou C/T) (109).

O polimorfismo rs225014 (Thr92Ala-D2) é o mais estudado do gene *DIO2*. Ocorre numa região codificadora do gene (exon 2) (110,111). Especula-se que a troca do nucleotídeo treonina por alanina influencia a ubiquitinação da desidase tipo 2 e compromete a sua eficiência enzimática ou que o acúmulo de *DIO2*-Ala no aparelho de Golgi interrompa funções celulares importantes (112,110). Alguns estudos *in vitro* demonstraram redução da atividade de *DIO2* na presença do alelo polimórfico, com menor conversão de T4 em T3, endossando potencial efeito funcional dessa variante (110,113).

Estudos de genes candidatos (110,112,114) e GWAS menores (115,116), realizados em população adulta, não demonstraram associação desse polimorfismo com níveis de TSH ou T4. Peeters e colaboradores, num estudo de genes candidatos, avaliaram a associação entre o rs225014 de gene *DIO2* (Thr92Ala-D2) e níveis plasmáticos de TSH e T4, em 156 indivíduos saudáveis e doadores de sangue (100 homens, 55 mulheres, 1 sem gênero definido), com idade de $46,2 \pm 12$ anos (média \pm DP) (112). As frequências alélicas foram de 61% para o alelo selvagem (T) e 39% para o alelo polimórfico (C), em congruência com dados globais e com o presente estudo. Não encontraram associações com níveis de TSH e hormônios tireoidianos para esse polimorfismo. Em um estudo de associação genótipo-, realizado na clínica de pesquisa Strasbourg, Pensilvânia, em parceria com laboratório de genética molecular da Universidade de Maryland, investigaram a associação desse polimorfismo com resistências a insulina, a níveis séricos de TSH e a hormônios tireoidianos (115). A população estudada (n=1.268; 561 homens e 707 mulheres) foi composta por participantes do *Amish Family Diabetes Study*, idade de $45,5 \pm 0,6$ anos (média \pm DP). Não foi encontrada associação entre este polimorfismo e a função tireoidiana.

Já numa grande metanálise de estudos de associação do genoma para função tireoidiana, realizada com 72.167 indivíduos entre 35 e 75 anos, foi encontrada associação desse polimorfismo com incremento no nível de T4l (18). As frequências alélicas foram semelhantes àsquelas encontradas no presente estudo e em bancos de dados internacionais (alelo selvagem “T” 64% e alelo polimórfico “C” 36%) (18). No presente estudo, divergindo desse resultado, a presença do alelo polimórfico está associada a nível mais baixo de T4l.

O polimorfismo rs225014 também já foi associado a desfechos clínicos negativos, como hipertensão arterial (117,114), resistência à insulina e DM2 (87,110,115), osteoartrite (118) e transtorno bipolar (119). No entanto, parece haver vantagem heterozigótica em algumas situações. Beltrão e colaboradores realizaram uma coorte para investigar possível associação entre esse polimorfismo e mortalidade intra-hospitalar por COVID-19, em pacientes adultos (idade mediana 62; 48-74 anos), admitidos entre junho e agosto de 2020 (120). Parâmetros bioquímicos, função tireoidiana, comorbidades e escore de gravidade foram também estudados. No total, 220 pacientes (130 do sexo masculino e 90 do sexo feminino) foram agrupados de acordo com o genótipo: alelo selvagem em homozigose (n=79), alelos em heterozigose (n=119) e alelo polimórfico em homozigose (n=23). O genótipo heterozigoto foi associado a uma redução de 47% no risco de mortalidade intra-hospitalar (120). Na população do presente estudo de mulheres idosas eutireoidianas, não foi encontrada associação desse polimorfismo com as seguintes comorbidades: diabetes *mellitus* tipo 2, hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia.

No presente estudo, não foi encontrada associação entre o polimorfismo rs2235544 do gene *DIO1* e níveis séricos hormonais relacionados à função tireoidiana, divergindo de alguns estudos previamente publicados (121,122,102). Panicker e colaboradores demonstraram que este polimorfismo está associado à relação T3l : T4l circulante tanto na população de pessoas em reposição hormonal da tireoide, quanto na população em geral (121). Analisaram inicialmente uma coorte com 552 indivíduos (460 do sexo feminino, 92 do sexo masculino), com idade de $57,2 \pm 10,8$ anos (média \pm DP) em terapia substitutiva de T4 (121). Demonstraram associação entre alelo selvagem deste polimorfismo (“C”) e ganho de função da *DIO1* com consequente aumento da relação T3l : T4l e diminuição de T4l, sem efeito sobre TSH (121). Tais associações foram confirmadas por metanálise de dados de estudos adicionais com amostras de base populacional pelos autores, após exclusão de indivíduos com doença tireoidiana: *Exeter Family Study of Childhood Health* (EFSOCH), n=877, 100% homens, idade média $32,7 \pm 5,9$ anos; *Invecchiare in Chianti* (InCHIANTI), n=1200, 55,2% mulheres e 44,8% homens, idade média $68,4 \pm 15,5$ anos; *Depressão e Doença da Tireoide* (DEPTH), n=436, 76,8% mulheres e 23,2% homens, idade média $43,6 \pm 15$ anos (121).

Porcu e colaboradores realizaram uma metanálise com GWAS, incluindo 18 estudos para TSH, com 26.420 indivíduos eutireoidianos, e 15 estudos para T4l, com 17.520 indivíduos eutireoidianos (123). Foi demonstrada associação entre SNPs rs753760 (*gene PDE10A*) e rs157158 (*gene GLIS3*), com TSH; rs2235544 (*gene DIO1*) e rs7045138 (*gene FOXE1*), com T4l (123). Resultados de outros GWAS confirmaram a associação entre alguns SNPs do gene *PDE10A* e nível de TSH (73,17,124).

Nesse outro GWAS, Zhan e colaboradores avaliaram 1.346 chineses de etnia Han e encontraram associação entre os SNPs rs753760 (*gene PDE10A*) e rs1571583 (*gene GLIS3*), com nível de TSH (70). Teumer e colaboradores, numa grande metanálise de GWAS para função tireoidiana, testaram 8 milhões de variantes genéticas em 72.162 indivíduos (18). Entre as 109 variantes genéticas associadas de maneira independente à função tireoidiana, foi identificado um novo transportador de HT (SLC17A4). O SNP rs9356988 no gene *SLC17A4* foi associado ao T4l. Além deste, outros SNP foram associados ao T4l, como o rs978055 (*gene DIO2*) e rs225014 (*gene DIO2*) (18). Não foram encontradas, no presente estudo, associações entre esses polimorfismos e parâmetros séricos da tireoide.

Os polimorfismos de nucleotídeo único são variações frequentes de genes que apresentam pequeno efeito no fenótipo. Para evidenciar melhor associação entre polimorfismos genéticos e fenótipos, são necessário grandes estudos genéticos de associações. Além disso, devido à

pequena contribuição no fenótipo de cada polimorfismo, a análise de um conjunto de polimorfismos para determinado fenótipo terá maior contribuição clínica a partir dos escores de risco poligênico. A principal limitação deste estudo foi o tamanho da amostra que, provavelmente, impactou na ausência de associações entre alelos polimórficos e níveis hormonais, além de dificultar uma análise mais complexa de um conjunto de polimorfismos e fenótipo específico. Fatores ambientais, como ingestão de iodo, e individuais, como sexo, idade e massa corporal, afetam a função tireoidiana (6) e seria importante fazer uma análise multivariada com tais determinantes.

10 CONCLUSÃO

Neste estudo, realizado com população geriátrica de mulheres eutireoidianas, encontraram-se frequências alélicas dos polimorfismos genéticos congruentes com aquelas da população global, europeia, africana e brasileira.

Encontrou-se associação entre dois polimorfismos de genes associados à função tireoidiana e a níveis de TSH e T4l. No primeiro deles, rs12885300 do gene *DIO2*, a presença do alelo polimórfico em homozigose ou em heterozigose está associada a níveis mais elevado de TSH, sugerindo algum impacto desse polimorfismo no ponto de ajuste do eixo HHT. No segundo, rs225014 do gene *DIO2*, a presença do alelo polimórfico em homozigose ou em heterozigose está associada a níveis mais baixos de T4. Nos demais polimorfismos selecionados, não foi encontrada associação com níveis séricos de T3l, T4l e TSH.

Não se encontrou também associação entre polimorfismo rs225014 do gene *DIO2* e diabetes *mellitus*, hipertensão arterial sistêmica ou dislipidemia.

11 PERSPECTIVAS

As descobertas de novas variantes genéticas associadas a função tireoidiana por GWAS podem melhorar a nossa compreensão sobre a regulação e disfunção dos hormônios tireoidianos. Abrem espaço também para o uso potencial desses marcadores na prática clínica, contribuindo com a medicina de precisão

12 TRABALHOS GERADOS DURANTE O CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO

- Apresentação de trabalho no XX ENCONTRO BRASILEIRO DE TIREOIDE (2000), concorrendo ao prêmio *Jovem Cientista* – apresentação oral:

GENOTYPING EIGHT SNPs IN AN EUTHYROID ELDERLY POPULATION: IMPLICATIONS FOR TSH AND THYROID HORMONE LEVELS VARIATION INTERPRETATION

- Apresentação de *abstract* no XVII LATIN AMERICAN THYROID SOCIETY CONGRESS (2000):

DIO2-ORFA-ASP3 POLYMORPHISM RELATIONSHIP WITH SKELETAL MUSCLE MASS INDEX AND THYROID FUNCTION IN ELDERLY PATIENTS

THYROID FUNCTION AND SERUM 25OHD LEVELS IN ELDERLY: A CROSS-SECTIONAL POPULATION STUDY

REFERÊNCIAS

1. Barbesino G. Thyroid function changes in the elderly and their relationship to cardiovascular health: A mini-review. *Gerontology*. 2019;65(1):1–8.
2. United Nations. Department of Economic and Social Affairs. Population Division. World population prospects Highlights, 2019 revision highlights, 2019.
3. Bowers J, Terrien J, Clerget-Froidevaux MS, Gothié JD, Rozing MP, Westendorp RGJ, et al. Thyroid hormone signaling and homeostasis during aging. *Endocr Rev*. Aug. 2013;34(4):556–89.
4. Bianco AC, Dumitrescu A, Gereben B, Ribeiro MO, Fonseca TL, Fernandes GW, et al. Paradigms of Dynamic Control of Thyroid Hormone Signaling. *Endocrine Reviews*. 1 Aug. 2019;40(4):1000–47.
5. Fekete C, Lechan RM. Central Regulation of Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis Under Physiological and Pathophysiological Conditions. *Endocrine Reviews*. 1º Apr. 2014;35(2):159–94.
6. Biondi B, Cappola AR, Cooper DS. Subclinical Hypothyroidism: A Review. *JAMA*. 9 Jul. 2019;322(2):153.
7. Andersen S, Pedersen KM, Bruun NH, Laurberg P. Narrow individual variations in serum T(4) and T(3) in normal subjects: a clue to the understanding of subclinical thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab*. Mar. 2002;87(3):1068–72.
8. Peeters RP, van der Deure WM, Visser TJ. Genetic variation in thyroid hormone pathway genes; polymorphisms in the TSH receptor and the iodothyronine deiodinases. *Eur J Endocrinol*. Nov. 2006;155(5):655–62.
9. Kuś A, Chaker L, Teumer A, Peeters RP, Medici M. The Genetic Basis of Thyroid Function: Novel Findings and New Approaches. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1 Jun 2020;105(6):1707–21.
10. Hansen PS, Brix TH, Sørensen TIA, Kyvik KO, Hegedüs L. Major Genetic Influence on the Regulation of the Pituitary-Thyroid Axis: A Study of Healthy Danish Twins. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Mar. 2004;89(3):1181–7.
11. Atzmon G, Barzilai N, Hollowell JG, Surks MI, Gabriely I. Extreme Longevity Is Associated with Increased Serum Thyrotropin. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Apr. 2009;94(4):1251–4.
12. Bremner AP, Feddema P, Leedman PJ, Brown SJ, Beilby JP, Lim EM, et al. Age-Related Changes in Thyroid Function: A Longitudinal Study of a Community-Based Cohort. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. May 2012;97(5):1554–62.
13. Jansen SW, Roelfsema F, van der Spoel E, Akintola AA, Postmus I, Ballieux BE, et al. Familial Longevity Is Associated With Higher TSH Secretion and Strong TSH-ft3 Relationship. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1 Oct. 2015;100(10):3806–13.
14. Atzmon G, Barzilai N, Surks MI, Gabriely I. Genetic Predisposition to Elevated Serum Thyrotropin Is Associated with Exceptional Longevity. *J Clin Endocrinol Metab*. Dec. 2009;94(12):4768–75.

15. Rozing MP, Houwing-Duistermaat JJ, Slagboom PE, Beekman M, Frölich M, de Craen AJM, et al. Familial longevity is associated with decreased thyroid function. *J Clin Endocrinol Metab.* Nov. 2010;95(11):4979–84.
16. Panicker V. Genetics of Thyroid Function and Disease. *Clin Biochem Rev.* Nov. 2011;32(4):165–75.
17. The UK10K Consortium, Taylor PN, Porcu E, Chew S, Campbell PJ, Traglia M, et al. Whole-genome sequence-based analysis of thyroid function. *Nat Commun.* 5 May 2015;6(1):5681.
18. Lifelines Cohort Study, Teumer A, Chaker L, Groeneweg S, Li Y, Di Munno C, et al. Genome-wide analyses identify a role for SLC17A4 and AADAT in thyroid hormone regulation. *Nat Commun.* Dec. 2018;9(1):4455.
19. Zhou W, Brumpton B, Kabil O, Gudmundsson J, Thorleifsson G, Weinstock J, et al. GWAS of thyroid stimulating hormone highlights pleiotropic effects and inverse association with thyroid cancer. *Nat Commun.* Dec. 2020;11(1):3981.
20. Peeters RP, van den Beld AW, Attalki H, Toor H van, de Rijke YB, Kuiper GGJM, et al. A new polymorphism in the type II deiodinase gene is associated with circulating thyroid hormone parameters. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* Jul. 2005;289(1):E75–81.
21. Chaker L, Wolters FJ, Bos D, Korevaar TIM, Hofman A, van der Lugt A, et al. Thyroid function and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology.* 18 Oct. 2016;87(16):1688–95.
22. Gussekloo J, van Exel E, de Craen AJM, Meinders AE, Frölich M, Westendorp RGJ. Thyroid status, disability and cognitive function, and survival in old age. *JAMA.* 1 Dec. 2004;292(21):2591–9.
23. Bano A, Chaker L, Mattace-Raso FUS, van der Lugt A, Ikram MA, Franco OH, et al. Thyroid Function and the Risk of Atherosclerotic Cardiovascular Morbidity and Mortality: The Rotterdam Study. *Circ Res.* 8 Dec. 2017;121(12):1392–400.
24. Aubert CE, Floriani C, Bauer DC, da Costa BR, Segna D, Blum MR, et al. Thyroid Function Tests in the Reference Range and Fracture: Individual Participant Analysis of Prospective Cohorts. *J Clin Endocrinol Metab.* 1 Aug. 2017;102(8):2719–28.
25. Inoue K, Tsujimoto T, Saito J, Sugiyama T. Association Between Serum Thyrotropin Levels and Mortality Among Euthyroid Adults in the United States. *Thyroid.* Oct. 2016;26(10):1457–65.
26. Biondi B, Cooper DS. The clinical significance of subclinical thyroid dysfunction. *Endocr Rev.* Feb. 2008;29(1):76–131.
27. Watah A, Bragazzi NL, Adawi M, Amital H, Toubi E, Porat BS, et al. Autoimmunity in the Elderly: Insights from Basic Science and Clinics - A Mini-Review. *Gerontology.* 2017;63(6):515–23.
28. IBGE | Portal do IBGE | IBGE [Internet]. [citado 27 de janeiro de 2022]. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/>
29. Mariotti S, Barbesino G, Caturegli P, Bartalena L, Sansoni P, Fagnoni F, et al. Complex alteration of thyroid function in healthy centenarians. *J Clin Endocrinol Metab.* Nov. 1993;77(5):1130–4.
30. Hill M, Trískala Z, Honcú P, Krejčí M, Kajzar J, Bičíková M, et al. Aging, hormones and receptors. *Physiol Res.* 30 Sep. 2020;69(Suppl 2):S255–72.

31. Chaker L, Cappola AR, Mooijaart SP, Peeters RP. Clinical aspects of thyroid function during ageing. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. Sep. 2018;6(9):733–42.
32. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab*. Feb. 2002;87(2):489–99.
33. Calsolaro V, Niccolai F, Pasqualetti G, Calabrese AM, Polini A, Okoye C, et al. Overt and Subclinical Hypothyroidism in the Elderly: When to Treat? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 22 Mar. 2019;10:177.
34. van Coevorden A, Mockel J, Laurent E, Kerkhofs M, L’Hermite-Balériaux M, Decoster C, et al. Neuroendocrine rhythms and sleep in aging men. *Am J Physiol*. Apr. 1991;260(4 Pt 1):E651-661.
35. Moura EG de, Moura CCP de. Regulação da síntese e secreção de tireotrofina. *Arq Bras Endocrinol Metab*. Feb. 2004;48(1):40–52.
36. Ortiga-Carvalho TM, Chiamolera MI, Pazos-Moura CC, Wondisford FE. Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis. Em: Terjung R, organizador. *Comprehensive Physiology* [Internet]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2016 [citado 21 de março de 2021]. p. 1387–428. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1002/cphy.c150027>
37. van den Beld AW, Visser TJ, Feelders RA, Grobbee DE, Lamberts SWJ. Thyroid Hormone Concentrations, Disease, Physical Function, and Mortality in Elderly Men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1 Dec. 2005;90(12):6403–9.
38. Peeters RP. Thyroid function and longevity: new insights into an old dilemma. *J Clin Endocrinol Metab*. Dec. 2009;94(12):4658–60.
39. Aggarwal N, Razvi S. Thyroid and Aging or the Aging Thyroid? An Evidence-Based Analysis of the Literature. *J Thyroid Res*. 2013;2013:481287.
40. Duntas LH, Yen PM. Diagnosis and treatment of hypothyroidism in the elderly. *Endocrine*. Oct. 2019;66(1):63–9.
41. NHANES - Sobre o National Health and Nutrition Examination Survey [Internet]. 2020 [citado 25 Jul. 2021]. Disponível em: https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/about_nhanes.htm
42. Waring AC, Arnold AM, Newman AB, Bůzková P, Hirsch C, Cappola AR. Longitudinal changes in thyroid function in the oldest old and survival: the cardiovascular health study all-stars study. *J Clin Endocrinol Metab*. Nov. 2012;97(11):3944–50.
43. Surks MI, Hollowell JG. Age-Specific Distribution of Serum Thyrotropin and Antithyroid Antibodies in the U.S. Population: Implications for the Prevalence of Subclinical Hypothyroidism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Dec. 2007;92(12):4575–82.
44. Surks MI, Boucai L. Age- and race-based serum thyrotropin reference limits. *J Clin Endocrinol Metab*. Feb. 2010;95(2):496–502.
45. Rozing MP, Westendorp RGJ, de Craen AJM, Frölich M, Heijmans BT, Beekman M, et al. Low serum free triiodothyronine levels mark familial longevity: the Leiden Longevity Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. Apr. 2010;65(4):365–8.
46. Everitt AV, Seedsman NJ, Jones F. The effects of hypophysectomy and continuous food restriction, begun at ages 70 and 400 days, on collagen aging, proteinuria, incidence of

- pathology and longevity in the male rat. *Mech Ageing Dev.* Feb. 1980;12(2):161–72.
47. Ooka H, Fujita S, Yoshimoto E. Pituitary-thyroid activity and longevity in neonatally thyroxine-treated rats. *Mech Ageing Dev.* Jun. 1983;22(2):113–20.
 48. Retardation of the Ageing Process in Collagen Fibres from the Tail Tendon of the Old Hypophysectomized Rat | *Nature* [Internet]. [citado 6 de novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/206307b0>
 49. Powers RW, Harrison DE, Flurkey K. Pituitary removal in adult mice increases life span. *Mech Ageing Dev.* Aug. 2006;127(8):658–9.
 50. Brown-Borg HM. Hormonal regulation of longevity in mammals. *Ageing Res Rev.* May 2007;6(1):28–45.
 51. Ooka H, Shinkai T. Effects of chronic hyperthyroidism on the lifespan of the rat. *Mech Ageing Dev.* Feb. 1986;33(3):275–82.
 52. Bartke A, Brown-Borg H, Mattison J, Kinney B, Hauck S, Wright C. Prolonged longevity of hypopituitary dwarf mice. *Experimental Gerontology.* 1 Jan. 2001;36(1):21–8.
 53. Vergara M, Smith-Wheelock M, Harper JM, Sigler R, Miller RA. Hormone-Treated Snell Dwarf Mice Regain Fertility But Remain Long Lived and Disease Resistant. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* Dec. 2004;59(12):1244–50.
 54. Asayama K, Dobashi K, Hayashibe H, Megata Y, Kato K. Lipid peroxidation and free radical scavengers in thyroid dysfunction in the rat: a possible mechanism of injury to heart and skeletal muscle in hyperthyroidism. *Endocrinology.* Dec. 1987;121(6):2112–8.
 55. López-Torres M, Romero M, Barja G. Effect of thyroid hormones on mitochondrial oxygen free radical production and DNA oxidative damage in the rat heart. *Mol Cell Endocrinol.* 25 Oct. 2000;168(1–2):127–34.
 56. Cooper DS, Biondi B. Subclinical thyroid disease. *Lancet.* 24 dMar. 2012;379(9821):1142–54.
 57. Medici M, Visser TJ, Peeters RP. Genetics of thyroid function. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism.* Mar.2017;31(2):129–42.
 58. Peeters RP. Subclinical Hypothyroidism. *N Engl J Med.* 29 Jun. 2017;376(26):2556–65.
 59. Moon S, Kim MJ, Yu JM, Yoo HJ, Park YJ. Subclinical Hypothyroidism and the Risk of Cardiovascular Disease and All-Cause Mortality: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Thyroid.* Sep. 2018;28(9):1101–10.
 60. Bielecka-Dabrowa A, Godoy B, Suzuki T, Banach M, von Haehling S. Subclinical hypothyroidism and the development of heart failure: an overview of risk and effects on cardiac function. *Clin Res Cardiol.* Mar. 2019;108(3):225–33.
 61. Taylor P, Bianco AC. Urgent need for further research in subclinical hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol.* Sep. 2019;15(9):503–4.
 62. Stott DJ, Gussekloo J, Kearney PM, Rodondi N, Westendorp RGJ, Mooijaart S, et al. Study protocol; Thyroid hormone Replacement for Untreated older adults with Subclinical hypothyroidism - a randomised placebo controlled Trial (TRUST). *BMC Endocr Disord.* 3 Feb. 2017;17:6.
 63. Stott DJ, Rodondi N, Kearney PM, Ford I, Westendorp RGJ, Mooijaart SP, et al. Thyroid Hormone Therapy for Older Adults with Subclinical Hypothyroidism. *New England*

- Journal of Medicine. 29 Jun.e 2017;376(26):2534–44.
64. SNPs in disease gene mapping, medicinal drug development and evolution | Journal of Human Genetics [Internet]. [citado 22 de dezembro de 2021]. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/jhg2007117>
 65. Peeters RP, van Toor H, Klootwijk W, de Rijke YB, Kuiper GGJM, Uitterlinden AG, et al. Polymorphisms in thyroid hormone pathway genes are associated with plasma TSH and iodothyronine levels in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* Jun. 2003;88(6):2880–8.
 66. Manolio TA. Genomewide Association Studies and Assessment of the Risk of Disease. *New England Journal of Medicine.* 8 de julho de 2010;363(2):166–76.
 67. Caetano AR. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. *R Bras Zootec.* Jul. 2009;38:64–71.
 68. Bush WS, Moore JH. Chapter 11: Genome-Wide Association Studies. Lewitter F, Kann M, organizadores. *PLoS Comput Biol.* 27 Dec. 2012;8(12):e1002822.
 69. Medici M, Visser WE, Visser TJ, Peeters RP. Genetic Determination of the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis: Where Do We Stand? *Endocrine Reviews.* 1 Apr. 2015;36(2):214–44.
 70. Zhan M, Chen G, Pan CM, Gu ZH, Zhao SX, Liu W, et al. Genome-wide association study identifies a novel susceptibility gene for serum TSH levels in Chinese populations. *Hum Mol Genet.* 15 Oct. 2014;23(20):5505–17.
 71. Barsh G, Copenhaver G, Gibson G, Williams S. Guidelines for Genome-Wide Association Studies. *PLoS genetics.* 1º de julho de 2012;8:e1002812.
 72. Beck T, Shorter T, Brookes AJ. GWAS Central: a comprehensive resource for the discovery and comparison of genotype and phenotype data from genome-wide association studies. *Nucleic Acids Research.* 8 Jan. 2020;48(D1):D933–40.
 73. Porcu E, Medici M, Pistis G, Volpato CB, Wilson SG, Cappola AR, et al. A meta-analysis of thyroid-related traits reveals novel loci and gender-specific differences in the regulation of thyroid function. *PLoS Genet.* 2013;9(2):e1003266.
 74. Whole-genome sequence-based analysis of thyroid function | Nature Communications [Internet]. [citado 26 de dezembro de 2021]. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ncomms6681>
 75. Yamada M, Mori M. Mechanisms related to the pathophysiology and management of central hypothyroidism. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* Dec. 2008;4(12):683–94.
 76. Senée V, Chelala C, Duchatelet S, Feng D, Blanc H, Cossec JC, et al. Mutations in GLIS3 are responsible for a rare syndrome with neonatal diabetes mellitus and congenital hypothyroidism. *Nat Genet.* Jun. 2006;38(6):682–7.
 77. Kang HS, Kumar D, Liao G, Lichti-Kaiser K, Gerrish K, Liao XH, et al. GLIS3 is indispensable for TSH/TSHR-dependent thyroid hormone biosynthesis and follicular cell proliferation. *J Clin Invest.* 1 DEc. 2017;127(12):4326–37.
 78. Rurale G, Persani L, Marelli F. GLIS3 and Thyroid: A Pleiotropic Candidate Gene for Congenital Hypothyroidism. *Frontiers in Endocrinology.* 2018;9:730.
 79. Ransohoff JD, Wei Y, Khavari PA. The functions and unique features of long intergenic non-coding RNA. *Nat Rev Mol Cell Biol.* março de 2018;19(3):143–57.

80. He H, Li W, Liyanarachchi S, Jendrzewski J, Srinivas M, Davuluri RV, et al. Genetic Predisposition to Papillary Thyroid Carcinoma: Involvement of FOXE1, TSHR, and a Novel lincRNA Gene, PTCSC2. *J Clin Endocrinol Metab.* Jan. 2015;100(1):E164–72.
81. Morillo-Bernal J, Fernández LP, Santisteban P. FOXE1 regulates migration and invasion in thyroid cancer cells and targets ZEB1. *Endocrine-Related Cancer.* 1 Mar. 2020;27(3):137–51.
82. Gudmundsson J, Sulem P, Gudbjartsson DF, Jonasson JG, Masson G, He H, et al. Discovery of common variants associated with low TSH levels and thyroid cancer risk. *Nat Genet.* 22 Jan. 2012;44(3):319–22.
83. Malinowski JR, Denny JC, Bielinski SJ, Basford MA, Bradford Y, Peissig PL, et al. Genetic variants associated with serum thyroid stimulating hormone (TSH) levels in European Americans and African Americans from the eMERGE Network. *PLoS One.* 2014;9(12):e111301.
84. Fujishige K, Kotera J, Michibata H, Yuasa K, Takebayashi S, Okumura K, et al. Cloning and characterization of a novel human phosphodiesterase that hydrolyzes both cAMP and cGMP (PDE10A). *J Biol Chem.* 25 Jun. 1999;274(26):18438–45.
85. Volpato CB, De Grandi A, Gögele M, Taliun D, Fuchsberger C, Facheris MF, et al. Linkage and association analysis of hyperthyrotropinaemia in an Alpine population reveal two novel loci on chromosomes 3q28-29 and 6q26-27. *J Med Genet.* Aug. 2011;48(8):549–56.
86. Bianco AC. Minireview: Cracking the Metabolic Code for Thyroid Hormone Signaling. *Endocrinology.* 1 Sep. 2011;152(9):3306–11.
87. Mentuccia D, Proietti-Pannunzi L, Tanner K, Bacci V, Pollin TI, Poehlman ET, et al. Association between a novel variant of the human type 2 deiodinase gene Thr92Ala and insulin resistance: evidence of interaction with the Trp64Arg variant of the beta-3-adrenergic receptor. *Diabetes.* Mar. 2002;51(3):880–3.
88. Marsili A, Zavacki AM, Harney JW, Larsen PR. Physiological role and regulation of iodothyronine deiodinases: a 2011 update. *J Endocrinol Invest.* May 2011;34(5):395–407.
89. Bianco AC, Kim BS. Pathophysiological relevance of deiodinase polymorphism. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* outubro de 2018;25(5):341–6.
90. Groeneweg S, van Geest FS, Peeters RP, Heuer H, Visser WE. Thyroid Hormone Transporters. *Endocr Rev.* 1 Apr. 2020;41(2):bnz008.
91. Universität Düsseldorf: G*Power [Internet]. [citado 29 de maio de 2022]. Disponível em: <https://www.psychologie.hhu.de/arbeitsgruppen/allgemeine-psychologie-und-arbeitspsychologie/gpower>
92. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods.* May 2007;39(2):175–91.
93. Faul F, Erdfelder E, Buchner A, Lang AG. Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. *Behav Res Methods.* Nov. 2009;41(4):1149–60.
94. Félix LN, Souza EMT de. Avaliação nutricional de idosos em uma instituição por diferentes instrumentos. *Rev Nutr.* Aug. 2009;22:571–80.
95. Mini Nutritional Assessment (MNA): Research and Practice in the Elderly | Karger Book

Disponível em: <https://www.karger.com/Book/Home/223519>

96. Vellas B, Villars H, Abellan G, Soto ME, Rolland Y, Guigoz Y, et al. Overview of the MNA® – Its history and challenges. *The Journal of Nutrition*. 2006;10(6):11.
97. Hengstermann S, Nieczaj R, Steinhagen-Thiessen E, Schulz RJ. Which are the most efficient items of mini nutritional assessment in multimorbid patients? *J Nutr Health Aging*. Feb. 2008;12(2):117–22.
98. Maeda SS, Peters BSE, Martini LA, Antunes HKM, Gonzalez MC, Arantes HP, et al. Official position of the Brazilian Association of Bone Assessment and Metabolism (ABRASSO) on the evaluation of body composition by densitometry: part I (technical aspects) - general concepts, indications, acquisition, and analysis. *Advances in Rheumatology*. 20 Mar. 2022;62(1):7.
99. Official Position of the Brazilian Association of Bone Assessment and Metabolism (ABRASSO) on the evaluation of body composition by densitometry—part II (clinical aspects): interpretation, reporting, and special situations | *Advances in Rheumatology* | Full Text [Internet]. [citado 10 de julho de 2022]. Disponível em: <https://advancesinrheumatology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s42358-022-00240-9>
100. Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age and Ageing*. 1 Jul. 2010;39(4):412–23.
101. Taylor PN, Panicker V, Sayers A, Shields B, Iqbal A, Bremner AP, et al. A meta-analysis of the associations between common variation in the PDE8B gene and thyroid hormone parameters, including assessment of longitudinal stability of associations over time and effect of thyroid hormone replacement. *Eur J Endocrinol*. May 2011;164(5):773–80.
102. Taylor PN, Porcu E, Chew S, Campbell PJ, Traglia M, Brown SJ, et al. Whole-genome sequence-based analysis of thyroid function. *Nat Commun*. 6 de março de 2015;6:5681.
103. PLOS Genetics: A Meta-Analysis of Thyroid-Related Traits Reveals Novel Loci and Gender-Specific Differences in the Regulation of Thyroid Function [Internet]. [citado 26 de dezembro de 2021]. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosgenetics/article/figure?id=10.1371/journal.pgen.1003266.g002>
104. De la Vega FM, Lazaruk KD, Rhodes MD, Wenz MH. Assessment of two flexible and compatible SNP genotyping platforms: TaqMan SNP Genotyping Assays and the SNPlex Genotyping System. *Mutat Res*. 1 Jun. 2005;573(1–2):111–35.
105. McAninch EA, Rajan KB, Evans DA, Jo S, Chaker L, Peeters RP, et al. A Common DIO2 Polymorphism and Alzheimer Disease Dementia in African and European Americans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1 May 2018;103(5):1818–26.
106. Naslavsky MS, Scliar MO, Yamamoto GL, Wang JYT, Zverinova S, Karp T, et al. Whole-genome sequencing of 1,171 elderly admixed individuals from Brazil. *Nat Commun*. 4 Mar. 2022;13(1):1004.
107. Brasil-500 anos de povoamento.pdf.
108. Coppotelli G, Summers A, Chidakel A, Ross JM, Celi FS. Functional characterization of the 258 A/G (D2-ORFa-Gly3Asp) human type-2 deiodinase polymorphism: a naturally

- occurring variant increases the enzymatic activity by removing a putative repressor site in the 5' UTR of the gene. *Thyroid*. Jul. 2006;16(7):625–32.
109. Hoftijzer HC, Heemstra KA, Visser TJ, le Cessie S, Peeters RP, Corssmit EPM, et al. The Type 2 Deiodinase ORFa-Gly3Asp Polymorphism (rs12885300) Influences the Set Point of the Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis in Patients Treated for Differentiated Thyroid Carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1 Sep. 2011;96(9):E1527–33.
 110. Canani LH, Capp C, Dora JM, Meyer ELS, Wagner MS, Harney JW, et al. The Type 2 Deiodinase A/G (Thr92Ala) Polymorphism Is Associated with Decreased Enzyme Velocity and Increased Insulin Resistance in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Jun. 2005;90(6):3472–8.
 111. Maino F, Cantara S, Forleo R, Pilli T, Castagna MG. Clinical significance of type 2 iodothyronine deiodinase polymorphism. *Expert Rev Endocrinol Metab*. Sep. 2018;13(5):273–7.
 112. Peeters RP, van Toor H, Klootwijk W, de Rijke YB, Kuiper GGJM, Uitterlinden AG, et al. Polymorphisms in Thyroid Hormone Pathway Genes Are Associated with Plasma TSH and Iodothyronine Levels in Healthy Subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1 Jun 2003;88(6):2880–8.
 113. Castagna MG, Dentice M, Cantara S, Ambrosio R, Maino F, Porcelli T, et al. DIO2 Thr92Ala Reduces Deiodinase-2 Activity and Serum-T3 Levels in Thyroid-Deficient Patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1 May 2017;102(5):1623–30.
 114. Maia AL, Dupuis J, Manning A, Liu C, Meigs JB, Cupples LA, et al. The type 2 deiodinase (DIO2) A/G polymorphism is not associated with glycemic traits: the Framingham Heart Study. *Thyroid*. Mar. 2007;17(3):199–202.
 115. Mentuccia D, Thomas MJ, Coppotelli G, Reinhart LJ, Mitchell BD, Shuldiner AR, et al. The Thr92Ala Deiodinase Type 2 (DIO2) Variant Is Not Associated with Type 2 Diabetes or Indices of Insulin Resistance in the Old Order of Amish. *Thyroid*. Nov. 2005;15(11):1223–7.
 116. Porcu E, Medici M, Pistis G, Volpato CB, Wilson SG, Cappola AR, et al. A Meta-Analysis of Thyroid-Related Traits Reveals Novel Loci and Gender-Specific Differences in the Regulation of Thyroid Function. *PLOS Genetics*. 7 Feb. 2013;9(2):e1003266.
 117. van der Deure WM, Peeters RP, Uitterlinden AG, Hofman A, Breteler MMB, Witteman J, et al. Impact of thyroid function and polymorphisms in the type 2 deiodinase on blood pressure: the Rotterdam Study and the Rotterdam Scan Study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. julho de 2009;71(1):137–44.
 118. Meulenbelt I, Min JL, Bos S, Riyazi N, Houwing-Duistermaat JJ, van der Wijk HJ, et al. Identification of DIO2 as a new susceptibility locus for symptomatic osteoarthritis. *Human Molecular Genetics*. 15 Jun. 2008;17(12):1867–75.
 119. He B, Li J, Wang G, Ju W, Lu Y, Shi Y, et al. Association of genetic polymorphisms in the type II deiodinase gene with bipolar disorder in a subset of Chinese population. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 31 Aug. 2009;33(6):986–90.
 120. Lima Beltrão FE, de Almeida Beltrão DC, Carvalhal G, de Lima Beltrão FE, de Souza Braga Filho J, de Brito Oliveira J, et al. Heterozygote Advantage of the Type II Deiodinase Thr92Ala Polymorphism on Intrahospital Mortality of COVID-19. *J Clin*

Endocrinol Metab. 9 Feb. 2022;dgac075.

121. Panicker V, Cluett C, Shields B, Murray A, Parnell KS, Perry JRB, et al. A common variation in deiodinase 1 gene DIO1 is associated with the relative levels of free thyroxine and triiodothyronine. *J Clin Endocrinol Metab.* Aug. 2008;93(8):3075–81.
122. Medici M, Deure WM van der, Verbiest M, Vermeulen SH, Hansen PS, Kiemeny LA, et al. A large-scale association analysis of 68 thyroid hormone pathway genes with serum TSH and FT4 levels. *European Journal of Endocrinology.* 1 May 2011;164(5):781–8.
123. Porcu E, Medici M, Pistis G, Volpato CB, Wilson SG, Cappola AR, et al. A Meta-Analysis of Thyroid-Related Traits Reveals Novel Loci and Gender-Specific Differences in the Regulation of Thyroid Function. *PLOS Genetics.* 7 Feb. 2013;9(2):e1003266.
124. Nielsen TRH, Appel EVR, Svendstrup M, Ohrt JD, Dahl M, Fonvig CE, et al. A genome-wide association study of thyroid stimulating hormone and free thyroxine in Danish children and adolescents. *PLoS One.* 2017;12(3):e0174204.
125. Vilar, Lucio

APÊNDICE – Mini Avaliação Nutricional**MINI AVALIAÇÃO NUTRICIONAL (MNA)**

Preencher a primeira parte deste questionário, indicando a resposta. Somar os pontos da triagem. Caso o escore seja igual ou inferior a 11, concluir o questionário para obter a avaliação do estado nutricional.

Triagem

A) Nos últimos meses houve diminuição da ingestão alimentar devido à perda de apetite, problemas digestivos ou dificuldade para mastigar ou deglutir?

- 0 – diminuição severa da ingestão
- 1 – diminuição moderada da ingestão
- 2 – sem diminuição da ingestão

B) Perda de peso nos últimos meses

- 0 – superior a 3 kg
- 1 – não sabe informar
- 2 – entre 1 e 3 kg
- 3 – sem perda de peso

C) Mobilidade

- 0 – restrito ao leito ou à cadeira de rodas
- 1 – deambula mas não é capaz de sair de casa
- 2 – normal

D) Passou por algum estresse psicológico ou doença aguda nos últimos três meses?

- 0 – sim
- 2 – não

E) Problemas neuropsicológicos

- 0 – demência ou depressão graves
- 1 – demência leve
- 2 – sem problemas psicológicos

F) Índice de massa corporal (IMC = peso (kg) / estatura (m²))

- 0 – IMC < 19
- 1 – $19 \leq \text{IMC} \leq 21$
- 2 – $21 \leq \text{IMC} \leq 23$
- 3 – IMC > 23

Escore de triagem (máximo de 14 pontos)

12 pontos ou mais – normal, desnecessário continuar a avaliação

11 pontos ou menos – possibilidade de desnutrição, continuar a avaliação

AVALIAÇÃO GLOBAL

G) O paciente vive em sua própria casa (não em casa geriátrica ou hospital)

0 – não

1 – sim

H) Utiliza mais de três medicamentos diferentes por dia?

0 – sim

1 – não

I) Lesões de pele ou escaras?

0 – sim

1 – não

J) Quantas refeições faz por dia?

0 – uma refeição

1 – duas refeições

2 – três refeições

K) O paciente consome:

– Pelo menos uma porção diária de leite/derivados (queijo/iogurte)? Sim () Não ()

– Duas ou mais porções semanais de legumes ou ovos? Sim () Não ()

– Carne, peixe ou aves todos os dias? Sim () Não ()

0,0 – nenhuma ou uma resposta sim

0,5 – duas respostas sim

1,0 – três respostas sim

L) O paciente consome duas ou mais porções diárias de frutas ou vegetais?

0 – sim

1 – não

M) Quantos copos de líquidos (água, suco, café, chá, leite) o paciente consome por dia?

0,0 – menos de três copos

0,5 – três a cinco copos

1,0 – mais de cinco copos

N) Modo de se alimentar

0 – não consegue se alimentar sozinho

- 1 – alimenta-se sozinho, porém com dificuldade
- 2 – alimenta-se sozinho sem dificuldade

O) O paciente acredita ter algum problema nutricional?

- 0 – acredita estar desnutrido
- 1 – não sabe dizer
- 2 – acredita não ter problema nutricional

P) Em comparação a outras pessoas da mesma idade, como o paciente considera sua própria saúde?

- 0,0 – não muito boa
- 0,5 – não sabe informar
- 1,0 – boa
- 2,0 – melhor

Q) Circunferência do braço (CB) em cm

- 0,0 – $CB < 21$
- 0,5 – $21 \leq CB \leq 22$
- 1,0 – $CB > 22$

R) Circunferência da panturrilha (CP) em cm

- 0 – $CP < 31$
- 1 – $CP \geq 31$

Avaliação global (máximo 16 pontos) = _____

Escore de triagem = _____

SCORE TOTAL (máximo 30 pontos) = _____

AValiação DO ESTADO NUTRICIONAL

De 17 a 23,5 pontos – **Risco de desnutrição**

Menos de 17 pontos – **Desnutrido**

ANEXOS

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****Estudo da associação entre hipotireoidismo e Sarcopenia em idosos da Universidade Aberta à Terceira Idade – UATI**

Essas informações estão sendo fornecidas para a sua participação voluntária neste estudo do Instituto de Ciências da Saúde, que pretende avaliar nos idosos da UATI – Universidade Aberta da Terceira Idade: 1) A associação entre hipotireoidismo e a sarcopenia em idosos de Salvador; 2) Verificar o quantitativo de sarcopenia em idosos frágeis e não-frágeis; 3) Medir a quantidade dos hormônios da tireoide (TSH, T4 Livre e T3 livre), determinando a prevalência de idosos com hipotireoidismo (franco e subclínico); 4) Medir o anticorpo antiperoxidase (ATPO) e o anticorpo antitireoglobulina (AATG), determinando a medida de prevalência de autoimunidade e tireoidite de Hashimoto (TH) na população de idosos; 5) Determinar se a coexistência de hipotireoidismo subclínico/franco e sarcopenia associa-se ao pior desempenho funcional quando comparado à sarcopenia isolada (em indivíduos eutireoidianos); 6) Mensurar o conteúdo de iodo na urina dos idosos participantes e determinar a prevalência do excesso e da deficiência grave, moderada e leve de iodo, em conformidade com os pontos de corte definidos pela Organização Mundial da Saúde – OMS; 7) Verificar se existem associações entre esses hormônios e critérios de fragilidade do idoso (ou seja, diminuição da capacidade de funções como força, mobilidade, gasto de energia – conhecidos como idosos frágeis).

O(a) Sr(a) será contatado na própria instituição de Geriatria (UATI) e convidado a participar da pesquisa após assinar esse termo de consentimento livre e esclarecido. Todos os pacientes serão avaliados clinicamente com exame físico para estimar sua força muscular e o seu grau de fragilidade (isso significa: sua perda de peso, força e função musculares com o envelhecimento) e coleta de sangue para dosagens laboratoriais. Os testes são simples e orientados por profissionais de saúde especializados e treinados.

A coleta para o exame de sangue ocorrerá uma única vez, porém serão analisadas as amostras em duas etapas distintas, as quais consistem na dosagem de Glicemia, Creatinina, Testes de Função da Tireoide: TSH (Hormônio estimulador da Tireoide); T4L (Tiroxina livre); T3L (Triiodotirina Livre); T3 reverso; ATPO (anticorpo antiperoxidase); AATG (anticorpo

anti-tireoglobulina), Miostatina, avaliação do DNA para investigação de polimorfismo (alteração genética) e avaliação da Concentração de Iodo da urina. Para a realização do exame de urina, serão coletadas duas amostras, em coletores descartáveis apropriados, que serão entregues durante a pesquisa. Esses exames serão necessários para investigar se você possui a Sarcopenia, alteração na tireoide ou deficiência de algum nutriente.

A Sarcopenia é uma doença que causa muitas alterações no organismo do idoso, como a fraqueza e a diminuição da autonomia na realização de atividades do dia a dia. Além disso, a Sarcopenia é uma doença envolve a perda dos músculos, da força e a piora do desempenho muscular. De modo geral, pode-se dizer que torna os idosos mais fragilizados, prejudicando seu estilo de vida e tornando-os mais dependentes da ajuda de terceiros, além de facilitar o surgimento de outras doenças associadas.

A coleta do seu sangue será realizada no DNA laboratório, situado no bairro do Cabula, ao lado da UNEB, local climatizado e com a devida estrutura de saúde para realização da coleta de sangue e urina. A punção da veia do braço, para a retirada de uma pequena amostra de sangue, será realizada com material esterilizado e descartável, para as dosagens necessárias, em momentos apropriados, realizado por profissional treinado para coletas de sangue. Durante a coleta sanguínea, você poderá sentir uma pequena dor no local. Poderá ocorrer formação de uma mancha temporária no local da retirada do sangue (hematoma). É recomendado comprimir o local após coleta e não carregar peso no braço em que foi colhido o sangue, durante o dia do exame, para que não haja risco de sangramento imediato ou posterior a coleta. Caso haja alguma intercorrência (sangramento excessivo do local da coleta de sangue) haverá profissional de saúde habilitado no DNA Laboratório para fornecer a devida assistência em saúde para a contenção do sangramento ou mal estar, se ocorrer.

Todos os idosos participantes realizarão testes de desempenho físico como: Teste de equilíbrio (estático/parado em pé); Teste de Marcha (caminhada curta rápida de 4 metros); Teste da Cadeira (sentar e levantar 5 vezes) e o Teste de 400 metros (caminhada longa de 20 voltas). Ambos os testes físicos serão cronometrados e auxiliados por um profissional fisioterapeuta, podendo ser interrompido a qualquer momento, caso o Sr (a) sinta-se cansado ou com tontura. Serão tomadas medidas de precaução, evitando-se quedas ou tropeços, porém o risco poderá existir na execução dos testes de caminhadas. O teste será realizado em espaço da UATI/UNEB, com piso plano, livre de obstáculos, identificados e com objetos/ materiais de segurança.

A bioimpedância é um exame de composição corporal e será realizado em todos os pacientes durante a coleta de dados. Esse exame serve para avaliar sua porcentagem de gordura

e de massa magra (ou seja, osso e músculo) e não é necessária a administração de nenhum contraste oral ou venoso. Será necessário o jejum de 8 horas para a realização desse exame. Não poderá realizar o exame de bioimpedância o idoso que for portador de marcapasso no coração por ser um aparelho elétrico.

Aqueles idosos que apresentarem diminuição no percentual/quantidade de massa magra (músculo) serão encaminhados para realizar um exame semelhante a um RaioX, porém mais completo, que apresenta a composição corporal que é a DEXA. Este exame de imagem detalhado será realizado após a análise do exame de bioimpedância e não terá custo algum para o idoso participante. Sendo possível será realizada também uma ultrassom muscular da perna do participante, após a realização da DEXA, no mesmo dia e horário agendado. Os exames de imagem (DEXA e ultrassom) serão realizados em uma clínica conveniada à pesquisa (DIAGNOSON). O endereço e o agendamento do exame serão informados com antecedência ao idoso para ser realizado no dia de sua escolha e conveniência, conforme disponibilidade da clínica.

Todos os idosos que apresentarem o diagnóstico de Sarcopenia e/ou Hipotireoidismo, assim como alguma disfunção tireoidiana ou do estado nutricional serão convocados para a apresentação desses resultados alterados. Receberão a orientação, para a busca do tratamento, em serviço público de saúde do município. Os dados obtidos com o exame físico (avaliação nutricional), os exames laboratoriais (sangue e urina) e de imagem (bioimpedância, ultrassom muscular e DEXA) serão utilizados em publicações científicas e dissertações de mestrado de alunos inscritos nos programas de pós-graduação em Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas do Instituto de Ciências da Saúde – UFBA. Os dados obtidos não poderão ser utilizados para outros fins, que não sejam os acima mencionados.

Os resultados de exames e a avaliação do seu prontuário somente serão vistos pelos pesquisadores envolvidos nesse projeto e outros profissionais que possam vir a ter algum relacionamento de atendimento ou de cuidados com o Sr^o (a). Nunca haverá qualquer tipo de discriminação contra o Sr^o(a).

O Sr^o(a) poderá se retirar da pesquisa a qualquer momento, se assim desejar. Sua identidade será preservada. Não terá custo financeiro em nenhuma fase do estudo, nem com os exames. Todos serão gratuitos para o Sr^o (a). Também não haverá nenhum tipo de retribuição financeira pela sua participação. O Sr^o (a) terá direito ao acesso a todos os resultados dos exames realizados durante a pesquisa.

A Resolução CNS N^o 466 de 2012 (item IV.3) define que os participantes da pesquisa que vierem a sofrer qualquer tipo de dano resultante de sua participação na pesquisa, têm direito

à indenização. Desta forma, asseguramos por meio deste, que o Sr^o(a) participante da pesquisa tem direito à indenização em caso de danos decorrentes do estudo, se houver. Na oportunidade, salientamos que todas as medidas de cuidado e precaução serão estabelecidas durante os atendimentos e coleta de dados, a fim de evitarmos tais danos na saúde e vida dos participantes. Os testes e exames são simples e seguros para a sua realização. Serão sempre acompanhados por um profissional de saúde capacitado para o atendimento (médico, nutricionista, biólogo, fisioterapeuta, educador físico, técnico em análise clínica, técnico de enfermagem e estudantes de Graduação da área de saúde treinados e supervisionados por um desses profissionais formados).

O TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (esse documento que se lê) será impresso em duas vias originais e todas as páginas deverão ser rubricadas, ficando uma retida com o pesquisador responsável/pessoa por ele delegada e a outra com o Sr^o(a) participante de pesquisa/responsável legal (conforme determina a Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5).

Os pesquisadores deverão prestar informações, esclarecer dúvidas, e examiná-lo antes e durante a realização do trabalho e sempre que se fizer necessário. O Sr^o (a) terá direito a receber os resultados obtidos com a pesquisa, a qualquer momento, quando assim desejar.

Em caso de dúvidas, você poderá entrar em contato com o Prof. Dr. Helton Estrela Ramos (tel: 71 99195-2979), Nut. Aline dos Anjos Santana (71 98506-1095) responsável pela pesquisa.

Também em caso de dúvida, o(a) Senhor(a) poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (CEP/ICS/UFBA). O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) busca defender os interesses dos participantes de pesquisa. O CEP é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (CEP/ICS/UFBA) está localizado na Avenida Reitor Miguel Calmon, s/n, - Instituto de Ciências da Saúde – 4º andar, Vale do Canela. Horário de funcionamento: De Segunda-feira a Sexta-feira das 07h00min às 17h30min. Telefone: (71) 3283-8951. E-mail: cepics@ufba.br.

Os resultados da pesquisa serão entregues quando for finalizada assim como os resultados dos exames realizados durante a pesquisa quando forem concluídos.

CONSENTIMENTO

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações sobre o estudo citado acima, que li ou foram lidas para mim.

Eu discuti com o Dr. Helton Estrela Ramos ou a Nut. Aline dos Anjos Santana ou algum profissional de saúde auxiliar da pesquisa, sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim, quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade de meus dados e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia de acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar desse estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento nesta Instituição.

UFBA, SALVADOR-BA, ____/____/____.

Nome do paciente

Assinatura do paciente

Data ____/____/____

Se paciente analfabeto, semianalfabetos ou portador de deficiência auditiva ou visual:

Nome do representante legal

Assinatura do representante legal

Data ____/____/____

Assinatura do pesquisador

Data ____/____/____



Instituto de Ciências da Saúde
Programa de Pós Graduação
Processos Interativos dos Órgãos e Sistemas
Avenida Reitor Miguel Calmon s/n - Vale do Canela. CEP: 40110-100
Salvador, Bahia, Brasil

<http://www.ppgorgsystem.ics.ufba.br>