

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação de microRNAs circulantes e polimorfismos nos genes relacionados ao transporte e metabolismo de quimioterápicos baseados em platina como possíveis biomarcadores de toxicidades em pacientes com câncer de pulmão

**Pesquisador:** Patricia Moriel

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 83196318.8.0000.5404

**Instituição Proponente:** Hospital de Clínicas da UNICAMP

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio  
Universidade Presbiteriana Mackenzie

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.530.448

#### **Apresentação do Projeto:**

“O carcinoma de pulmão é a principal causa de morbidade e mortalidade relacionada ao câncer no mundo. Para 2020, são estimados mais de 2,2 e 1,9 milhões de casos novos e óbitos, respectivamente. No Brasil, em 2016, 28.220 casos novos foram verificados. Apesar dos fatores de risco para o desenvolvimento da neoplasia de pulmão serem bem conhecidos, cerca de 75% dos pacientes apresentam doença localmente avançada ou metastática no momento do diagnóstico, pois não existe um método eficaz para o diagnóstico precoce. Os derivados da platina, associados a outros quimioterápicos, são os principais agentes terapêuticos utilizados, porém a resposta ao tratamento bem como suas reações adversas diferem entre os indivíduos, o que pode ser explicado pela variabilidade genética no metabolismo dos derivados de platina. Desta forma, o objetivo deste estudo é avaliar se os polimorfismos em genes específicos podem estar relacionados com a toxicidade induzida pela quimioterapia baseada em platina. Para isso, será desenvolvido um estudo analítico, experimental, clínico, de braço único, prospectivo, quantitativo, cuja amostragem será não probabilística do tipo consecutiva. Serão incluídos pacientes com câncer de pulmão de pequenas células e não pequenas células que iniciarem tratamento com quimioterapia baseada em platina e avaliadas a nefrotoxicidade, as toxicidades gastrointestinais, a hepatotoxicidade, a mielotoxicidade e os polimorfismos nos genes da CYP2E1, ABCB1, ABCC2,

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

**Bairro:** Barão Geraldo

**CEP:** 13.083-887

**UF:** SP

**Município:** CAMPINAS

**Telefone:** (19)3521-8936

**Fax:** (19)3521-7187

**E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

Continuação do Parecer: 2.530.448

OTC2 e MATE1. Também serão avaliadas a resposta ao tratamento e as sobrevidas global e livre de doença. Serão utilizados os testes Chi-quadrado, exato de Fisher, Mann-Whitney, ANOVA para medidas repetidas e o equilíbrio de Hardy-Weinberg, considerando significativo o  $p < 0.05$ ".

**Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar se polimorfismos nos genes da CYP2E1, da ABCB1 e da ABCC2, OTC2 e MATE1 estão relacionados com a toxicidade associada à quimioterapia baseada em platina para tratamento do câncer de pulmão.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: Os riscos e/ou desconfortos associados aos procedimentos da pesquisa são dor e/ou a possibilidade equimoses no local da coleta do sangue (punção venosa), desconforto associado a coleta de urina e entrevista. Foram identificados ainda, riscos associados à confidencialidade (sigilo da identidade do participante). Os pesquisadores informam o compromisso de preservar a identidade dos participantes. Não há benefícios diretos aos participantes da pesquisa.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Trata-se de uma pesquisa apresentada como trabalho de doutorado do pós-graduando Pedro Eduardo Nascimento Silva Vasconcelos, com orientação da Profa. Dra. Patrícia Muriel (pesquisadora responsável). Nesta pesquisa, pretende-se avaliar se polimorfismos nos genes da CYP2E1, da ABCB1 e da ABCC2, OTC2 e MATE1 estão relacionados com a toxicidade associada à quimioterapia baseada em platina para tratamento do câncer de pulmão. Para isso, serão incluídos pacientes ( $n=100$ , indivíduos entre 18 e 80 anos) com câncer de pulmão de pequenas células e não pequenas células que iniciarem tratamento com quimioterapia baseada em platina, atendidos no Serviço de Oncopneumologia da Unicamp (critérios de inclusão e exclusão indicados no projeto). Os participantes da pesquisa serão submetidos à coleta de sangue por punção de veia do braço (amostragem de 4ml antes e cinco dias após a quimioterapia) e coleta de urina. Haverá uso de fontes secundárias (prontuários dos pacientes). Serão avaliados microRNAs circulantes e polimorfismos nos genes relacionados ao transporte e metabolismo de quimioterápicos, além de parâmetros associados à toxicidade.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

1. Folha de rosto assinada pela pesquisadora responsável, Patrícia Muriel e por Antônio Gonçalves de Oliveira Filho, Coordenador de Assistência do Hospital de Clínicas da Unicamp, instituição

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



## UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 2.530.448

indicada como proponente.

2. Termo de consentimento Livre Esclarecido.
3. Formulário da Plataforma Brasil com as informações básicas sobre o projeto.
4. Projeto completo.
5. Declaração confirmando o vínculo dos pesquisadores com a instituição proponente.
6. Regulamento de biorrepositório

### **Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

1. Não há pendências ou inadequações.

### **Considerações Finais a critério do CEP:**

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).
- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

**Bairro:** Barão Geraldo

**CEP:** 13.083-887

**UF:** SP

**Município:** CAMPINAS

**Telefone:** (19)3521-8936

**Fax:** (19)3521-7187

**E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

Continuação do Parecer: 2.530.448

apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

- Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

- O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1038962.pdf	06/02/2018 13:44:16		Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio_Pedro.pdf	06/02/2018 13:43:30	PEDRO EDUARDO NASCIMENTO SILVA VASCONCELOS	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Pedro.pdf	06/02/2018 13:43:11	PEDRO EDUARDO NASCIMENTO SILVA VASCONCELOS	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pedro.pdf	06/02/2018 13:42:59	PEDRO EDUARDO NASCIMENTO SILVA	Aceito
Cronograma	Cronograma_Pedro.pdf	06/02/2018 13:42:34	PEDRO EDUARDO NASCIMENTO SILVA	Aceito
Outros	vinculopatricia.pdf	08/01/2018 11:23:32	Patricia Moriel	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostopedro.pdf	08/01/2018 11:22:41	Patricia Moriel	Aceito

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

**Bairro:** Barão Geraldo

**CEP:** 13.083-887

**UF:** SP

**Município:** CAMPINAS

**Telefone:** (19)3521-8936

**Fax:** (19)3521-7187

**E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



UNICAMP - CAMPUS  
CAMPINAS



Continuação do Parecer: 2.530.448

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CAMPINAS, 07 de Março de 2018

---

**Assinado por:**  
**Renata Maria dos Santos Celeghini**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

**Bairro:** Barão Geraldo

**CEP:** 13.083-887

**UF:** SP

**Município:** CAMPINAS

**Telefone:** (19)3521-8936

**Fax:** (19)3521-7187

**E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

**Projeto de Pesquisa:**

Avaliação de microRNAs circulantes e polimorfismos nos genes relacionados ao transporte e metabolismo de quimioterápicos baseados em platina como possíveis biomarcadores de toxicidades em pacientes com câncer de pulmão

**Informações Preliminares****Responsável Principal**

CPF/Documento: 183.220.668-80	Nome: Patricia Moriel
Telefone: 1937220626	E-mail: morielpa@fcm.unicamp.br

**Instituição Proponente**

CNPJ:	Nome da Instituição: Hospital de Clínicas da UNICAMP
-------	--

É um estudo internacional? Não

**Assistentes**

CPF/Documento	Nome
375.337.168-84	PEDRO EDUARDO NASCIMENTO SILVA VASCONCELOS

**Equipe de Pesquisa**

CPF/Documento	Nome
375.337.168-84	PEDRO EDUARDO NASCIMENTO SILVA VASCONCELOS

**Área de Estudo****Grandes Áreas do Conhecimento (CNPq)**

- Grande Área 4. Ciências da Saúde

**Propósito Principal do Estudo (OMS)**

- Clínico

**Título Público da Pesquisa:** Avaliação de microRNAs circulantes e polimorfismos nos genes relacionados ao transporte e metabolismo de quimioterápicos baseados em platina como possíveis biomarcadores de toxicidades em pacientes com câncer de pulmão**Contato Público**

CPF/Documento	Nome	Telefone	E-mail
375.337.168-84	PEDRO EDUARDO NASCIMENTO SILVA VASCONCELOS	19983649815	pedro.nvasconcelos89@gmail.com

**Contato Científico:** Patricia Moriel

**Desenho de Estudo / Apoio Financeiro**

Desenho do Estudo: Observacional

**Condições de saúde ou problemas**

## Condição de saúde ou Problema

Câncer de pulmão

Câncer

**Descritores Gerais para as Condições de Saúde**

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
C34	Neoplasia maligna dos bronquios e dos pulmões

DeCS:Descritores em Ciência da Saúde

Código DECS	Descrição DECS
D008175	Neoplasias Pulmonares

**Descritores Específicos para as Condições de Saúde**

CID1-10:Classificação Internacional de Doenças

Código CID	Descrição CID
C34	Neoplasia maligna dos bronquios e dos pulmões

DeCS:Descritores em Ciência da Saúde

Código DECS	Descrição DECS
D002289	Carcinoma Pulmonar de Células não Pequenas
D018288	Carcinoma de Células Pequenas

**Desenho:**

Estudo analítico, experimental, clínico, de braço único, prospectivo, quantitativo, cuja amostragem será não probabilística do tipo consecutiva.

**Apoio Financeiro**

CNPJ	Nome	E-mail	Telefone	Tipo
				Financiamento Próprio
60.967.551/0001-50	Universidade Presbiteriana Mackenzie	copq@mackenzie.br	11-21148144	Institucional Principal

**Palavra Chave**

## Palavra-chave

Câncer de pulmão

Quimioterápicos baseados em platina

Polimorfismos

Toxicidade

microRNAs

**Resumo:**

O carcinoma de pulmão é a principal causa de morbidade e mortalidade relacionada ao câncer no mundo. Para 2020, são estimados mais de 2,2 e 1,9 milhões de casos novos e óbitos, respectivamente. No Brasil, em 2016, 28.220 casos novos foram verificados. Apesar dos fatores de risco para o desenvolvimento da neoplasia de pulmão serem bem conhecidos, cerca de 75% dos pacientes apresentam doença localmente avançada ou metastática no momento do diagnóstico, pois não existe um método eficaz para o diagnóstico precoce. Os derivados da platina, associados a outros quimioterápicos, são os principais agentes terapêuticos utilizados, porém a resposta ao tratamento bem como suas reações adversas diferem entre os indivíduos, o que pode ser explicado pela variabilidade genética no metabolismo dos derivados de platina. Desta forma, o objetivo deste estudo é avaliar se os polimorfismos em genes específicos podem estar relacionados com a toxicidade induzida pela quimioterapia baseada em platina. Para isso, será desenvolvido um estudo analítico, experimental, clínico, de braço único, prospectivo, quantitativo, cuja amostragem será não probabilística do tipo consecutiva. Serão incluídos pacientes com câncer de pulmão de pequenas células e não pequenas células que iniciarem tratamento com quimioterapia baseada em platina e avaliadas a nefrotoxicidade, as toxicidades gastrointestinais, a hepatotoxicidade, a mielotoxicidade e os polimorfismos nos genes da CYP2E1, ABCB1, ABCB2, OTC2 e MATE1. Também serão avaliadas a resposta ao tratamento e as sobrevidas global e livre de doença. Serão utilizados os testes Chi-quadrado, exato de Fisher, Mann-Whitney, ANOVA para medidas repetidas e o equilíbrio de Hardy-Weinberg, considerando significativo o  $p < 0.05$ .

**Introdução:**

1. O câncer de pulmão Atualmente, o carcinoma de pulmão é a principal causa de morbidade e mortalidade relacionada ao câncer no mundo, com cerca de 1,8 milhões de casos novos e 1,5 milhões de óbitos no ano 2012. Para 2020, é estimado mais de 2,2 e 1,9 milhões de casos novos e óbitos, respectivamente (Globocan, 2017). No Brasil, as estimativas de incidência para o ano de 2016 foram 17,49/100.000 para homens e 10,54/100.000 para mulheres (Inca, 2017). O câncer de pulmão é classificado em dois grupos principais de acordo com o tipo histológico. O carcinoma de não pequenas células engloba todos os tipos histológicos (carcinoma epidermoide, adenocarcinoma e carcinoma de grandes células), exceto o carcinoma de pequenas células que constitui o segundo grupo. Aproximadamente 70% dos casos de câncer de pulmão são os carcinomas de não pequenas células (Hensing, et al., 2014). O fumo é considerado o mais importante fator de risco modificável para o desenvolvimento do câncer de pulmão, responsável por 75% a 80% dos casos em homens e 50% dos casos nas mulheres (Jemal, et al., 2011). Dentre os fatores de risco não modificáveis podem ser citados: idade maior ou igual a 50 anos, histórico familiar, gênero (mulheres fumantes apresentam maior risco), etnia (pretos apresentam maior risco quando comparados com brancos) e fatores socioeconômicos (inversamente proporcional ao risco) (Sateia et al., 2017). Apesar dos fatores de risco para o desenvolvimento da neoplasia de pulmão serem bem conhecidos, atualmente, cerca de 75% dos pacientes com câncer de pulmão apresentam doença localmente avançada ou metastática no momento do diagnóstico, porque não existe nenhum método eficaz para o diagnóstico precoce (Sateia et al., 2017). As modalidades terapêuticas para o tratamento dos pacientes com câncer de pulmão dependem inicialmente da definição do tipo de tumor e de seu estadiamento (Garcia-Campelo, et al., 2015). Para os pacientes com câncer de pulmão de pequenas células, o tratamento cirúrgico não é recomendado, pelo seu comportamento biológico de propensão precoce a originar metástases à distância. Neste caso, indica-se a associação de radioterapia e quimioterapia, para pacientes com doença localizada (quimioterapia prévia) e isoladamente para pacientes com doença avançada ou metastática (quimioterapia paliativa) (Brasil, 2014). O esquema terapêutico quimioterápico padrão envolve a associação de derivado da platina (cisplatina ou carboplatina) e o etoposido. Outros esquemas que produzem resultados similares e toxicidade variável incluem: ciclofosfamida, doxorubicina e vincristina (CAV); ciclofosfamida, doxorubicina e etoposido; ciclofosfamida, etoposido e vincristina; cisplatina e topotecano; cisplatina e irinotecano; ifosfamida, cisplatina e etoposido; carboplatina e paclitaxel; carboplatina e gemcitabina (Brasil, 2014). Em pacientes com câncer de pulmão de não pequenas células, o tratamento cirúrgico é indicado nos casos de doença localizada ao diagnóstico e a radioterapia é indicada em qualquer estágio tumoral, com finalidade curativa ou paliativa e em uso associado ou combinado com a cirurgia ou a quimioterapia (Brasil, 2014). Nos casos diagnosticados em estágios avançados ou metastáticos, a quimioterapia pode ser classificada como adjuvante ou paliativa e a associação de cisplatina com o etoposido é o esquema terapêutico padrão, porém, muitos outros esquemas terapêuticos podem ser utilizados, como carboplatina, mitomicina C, vimblastina, vinorelbina, gemcitabina, docetaxel, paclitaxel, pemetrexede, erlotinibe, gefitinibe, bevacizumabe e cetuximabe, em monoterapia ou em associações, por até três linhas de tratamento (Brasil, 2014). 2. Quimioterápicos a base de platina Os complexos de coordenação da platina como agentes citotóxicos foram identificados pela primeira vez em meados dos anos 60 por Barnett Rosenberg e colaboradores (Rosenberg et al., 1965; Rosenberg et al., 1969). A primeira molécula a ser descoberta foi a cisplatina, cis-diamina-dicloroplatina (II), mostrando-se eficaz no tratamento de cânceres de testículo, cânceres ginecológicos (principalmente o de ovário), gastrointestinais, geniturinários, de pulmão, e o câncer de cabeça e pescoço (Reed, 2005). Após administração endovenosa, 90% da cisplatina forma ligações covalentes com as proteínas plasmáticas, como a albumina, transferrina e gamaglobulina (Rang et al., 2007), assim, é distribuída para os tecidos, principalmente rins, fígado e próstata (Smith e Taylor, 1974; Hill et al., 1975; Stewart et al., 1982), com um volume de distribuição de 11 a 12 L/m<sup>2</sup> (Thompson Micromedex; 2015). A cisplatina pode entrar na célula tanto por difusão passiva ou por transporte ativo através de alguns transportadores específicos, como por exemplo, carreadores de cobre. Quando a molécula entra na célula, após a dissociação do o íon cloreto (Cl<sup>-</sup>), forma-se um complexo reativo que reage com a água e, então, interage com o DNA formando ligações covalentes, preferencialmente na posição N7 da guanina e adenina. Depois, ocorre uma reação com dois diferentes sítios do DNA produzindo ligações intracadeias (>90%) ou intercadeias (<5%), formando complexos DNA-platina que são capazes de inibir a síntese de DNA e a sua transcrição, e consequentemente, induzir apoptose nas células tumorais. Também ocorre ligação às proteínas nucleares e citoplasmáticas que também resulta em um efeito citotóxico (Ahmad, 2010; Hill et al., 1975). Portanto, a ação citotóxica da cisplatina é análoga à dos agentes alquilantes. A carboplatina, assim como a cisplatina, se liga covalentemente ao DNA, formando complexos platina-DNA, que induzem a célula à apoptose, porém, ao contrário da cisplatina, a carboplatina é mais estável no plasma. Durante as primeiras 4 horas após infusão, cerca de 90% da carboplatina se mantém não ligada à proteínas plasmáticas. Apresenta decaimento plasmático bifásico, com a primeira meia-vida de aproximadamente 1 a 2 horas e a segunda meia-vida pós distribuição plasmática de 2,5 horas até quase 6 horas. A carboplatina é eliminada principalmente pela urina, na qual cerca de 30% da droga é secretada inalterada (Thompson Micromedex; 2015). Devido às diferenças farmacocinéticas, a carboplatina é menos tóxica e frequentemente é utilizada em pacientes que não toleram a cisplatina, seja pelos seus efeitos tóxicos ou pela intensa hidratação necessária para sua infusão (Ando, et al., 2014). A metabolização tanto da cisplatina quanto da carboplatina ocorre através da formação de conjugados entre a glutatona e cisplatina pela enzima glutatona-S-transferase (GST), fazendo com que ela seja inativada e eliminada das células. Sua inativação também é consequência da ligação com proteínas chamadas metalotioneínas (MTs), cujas elevadas concentrações e sua transfeção celular podem conferir resistência à cisplatina (Surowiak et al., 2004; Toyoda et al., 2000). As proteínas de transporte do cobre ATP7A e ATP7B (Nakayama et al., 2001; Samimi et al., 2004; Blair et al., 2009) e membros da família ABCC (Schrenk et al., 2001; Liedert et al., 2003) também atuam no efluxo celular da cisplatina e da carboplatina. Conforme descrito, os derivados de platina são quimioterápicos de alto potencial antineoplásico com farmacocinética favorável. Entretanto, seu uso é limitado principalmente devido a dois fatores: à resistência adquirida ao medicamento e, em maior parte, às toxicidades importantes, como a nefrotoxicidade, ototoxicidade, mielotoxicidade e toxicidades gastrointestinais e hepáticas (Kim et al., 2016). a. Nefrotoxicidade Estima-se que 20 a 30% dos pacientes tratados com cisplatina desenvolvem severa disfunção renal, mesmo após hidratação salina e diurese no momento da infusão. Usualmente os agentes citotóxicos possuem reduzida toxicidade para células não proliferativas, no entanto, a cisplatina possui a capacidade de danificar seletivamente as células quiescentes do túbulo proximal,



causando necrose tubular aguda (Wang e Lai, 1994; Yao et al., 2007). A Carboplatina é menos nefrotóxica quando comparada com a cisplatina, porém, alguns estudos mostram que aproximadamente 10% dos pacientes apresentam elevação de creatinina sérica (Liu et al., 2014). A nefrotoxicidade pode ser explicada pelo fato de que a excreção dos derivados de platina ocorre predominantemente por filtração glomerular e, em menor extensão, por secreção tubular. O rim é capaz de acumular o quimioterápico em maior quantidade que outros órgãos e a concentração do fármaco nas células epiteliais do túbulo proximal pode chegar a ser cinco vezes maior do que na corrente sanguínea (Kuhlmann et al., 1997; Kröning et al., 2000; Arany e Safirstein, 2003). Os derivados de platina podem entrar na célula renal por difusão passiva e transporte ativo. O transportador envolvido no transporte ativo é o Organic Cation Transporter 2 (OCT2), principal OCT do rim; OCT1 é a isoforma presente no fígado. Além disso, sabe-se que cisplatina não é transportada por OCT1 e que outros compostos de platina (carboplatina e oxaliplatina) não interagem com OCT2 (Ciarimboli et al., 2005). Essas evidências explicam o motivo da cisplatina ser a quimioterapia à base de platina mais nefrotóxica e o porquê da sua principal reação adversa ser a renal. A insuficiência renal costuma se iniciar alguns dias após a administração de cisplatina, evidenciada pelo aumento da creatinina e ureia sérica, e redução da taxa de filtração glomerular. A recuperação da função renal normalmente ocorre em 2 a 4 semanas, mas pode haver nefrotoxicidade progressiva e permanente, mesmo com as medidas preventivas (Peres et al., 2013). A indução da nefrotoxicidade pelos derivados de platina pode ser explicada por três mecanismos: apoptose/necrose, inflamação e estresse oxidativo (Yao et al., 2007; Miller et al., 2007). O fármaco se acumula na mitocôndria das células renais, dificultando a bioenergética mitocondrial, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), inibindo a absorção de cálcio no interior da mitocôndria e liberando fatores pró-apoptóticos que por fim resulta na morte das células do túbulo renal (Peres e da cunha, 2013; Verma et al., 2015).

b. Mielotoxicidade A leucopenia pode estar relacionada à redução de neutrófilos e/ou linfócitos e a mielossupressão é observada em 25 a 30% dos pacientes tratados com cisplatina. Em um estudo desenvolvido por Bar-Sela et al. (2003), metade dos pacientes tratados com carboplatina desenvolveram severa mielotoxicidade, com predomínio de neutropenia e trombocitopenia. A anemia induzida pelos derivados de platina ocorre por aplasia, hemólise e deficiência de eritropoietina secundária à nefrotoxicidade. A depleção de glutatona e o estresse oxidativo induzidos pelo quimioterápico levam à mielossupressão hematotóxica (Khyntiam e Prasad, 2001; Dlott et al., 2004; OLAS et al., 2004; Gao et al., 2006; Vandendries e Drews, 2006; Son et al., 2011; Gao et al., 2013).

c. Toxicidade gastrointestinal A toxicidade gastrointestinal relacionada, principalmente à cisplatina, envolve náuseas, vômitos e, em menor frequência, diarreia. Esses eventos, embora menos agressivos que os observados na toxicidade renal, são difíceis de controlar e geram falha no tratamento e redução na qualidade de vida do paciente (Ballatori e Roila, 2003; Bloechl-Daum et al., 2006; Ballatori et al., 2007; Cohen et al., 2007). O trato gastrintestinal é afetado pelo estresse oxidativo gerado pelo fármaco e, além disso, as células cromafins entéricas do intestino delgado, capazes de produzir serotonina (5-HT) são danificadas. A serotonina é capaz de ativar os receptores de 5-HT no bulbo, estimulando a zona de gatilho quimiorreceptora e o centro de controle do vômito, provocando assim os reflexos de vômito característicos (Hesketh et al., 2003; Hesketh, 2008).

d. Hepatotoxicidade A hepatotoxicidade pode ser observada após administração de altas doses de derivados de platina, ou de baixas doses repetidas, provavelmente por acúmulo no fígado (Cvitkovic, 1998; Fenoglio et al., 2005). Alguns estudos sugerem que o estresse oxidativo gerado pela cisplatina tem um importante papel neste processo (Cvitkovic, 1998; Moriel, 2017). Martins et al. (2008) demonstraram que a cisplatina aumenta as enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), altera o metabolismo energético no fígado, causa enrijecimento da membrana hepática, peroxidação lipídica, dano oxidativo à cardiolipina e de proteínas com grupos sulfidríla, além de indução de morte celular hepática por apoptose, via mitocôndria. Porém, é de conhecimento comum na clínica médica que, pacientes com as mesmas características clínicas e metabólicas, podem apresentar toxicidades variadas. Então é possível que as variações dos eventos adversos apresentados por pacientes com câncer de pulmão durante tratamento baseado em platina, sejam determinadas por variações em atividades das proteínas envolvidas em seu metabolismo, pois são codificadas por genes polimórficos (Dhawan et al., 2013). Uma vez que os efeitos dos derivados de platina são proporcionais ao número de complexos Pt-DNA formados e que a concentração do agente disponível para se ligar ao DNA é limitada por diversos mecanismos de eliminação dos quimioterápicos, os polimorfismos gênicos podem contribuir para a resposta terapêutica ao fármaco, bem como aos seus eventos adversos e cinética de excreção. Entretanto, seus papéis no tratamento de pacientes com câncer de pulmão são ainda controversos e/ou desconhecidos.

3. MicroRNAs como biomarcadores das toxicidades induzidas por platina A literatura é escassa no que diz respeito a estudos que relacionam possíveis miRNAs com as toxicidades induzidas pela platina. A única toxicidade já relacionada com a expressão de alguns miRNAs é a nefrotoxicidade e os estudos foram realizados apenas *in vitro* ou *in vivo* (modelos animais) (KANKI et al., 2014; PAVKOVIC et al., 2014; PELLEGRINI et al., 2014; BHATT et al., 2010; JOO et al., 2013; HAN-YU, et al., 2012; QIN et al., 2016; WOLENSKI et al., 2017). De acordo com pesquisa na literatura, apenas um único estudo investigou esta relação com a cisplatina administrada em humanos. Neste estudo, foi verificado que o miR-21, -200c e -423 se apresentavam aumentados após a administração de cisplatina em pacientes com mesotelioma, porém não foi verificada uma relação da expressão destes miRNAs com a toxicidade renal (PAVKOVIC et al., 2016). Entre os biomarcadores para lesão renal estudados nos últimos anos, os miRNAs são considerados uns dos mais promissores, uma vez que são altamente conservados entre as diferentes espécies e altamente estáveis nos fluidos biológicos. Dois estudos independentes foram realizados para identificar miRNAs expressos na urina de ratos que podem ser utilizados como biomarcadores de toxicidade renal induzida pela cisplatina (KANKI et al., 2014; PAVKOVIC et al., 2014). Eles avaliaram a urina excretada em diferentes tempos, e ambos concluíram que o pico de expressão de miRNAs ocorre no quinto dia após a administração de cisplatina, apesar de no terceiro dia já ser possível quantificar uma parte deles, enquanto que o maior dano renal foi visto nos dias 7 e 8 depois da administração do quimioterápico. Após quantificação e normalização dos diversos miRNAs expressos, Pavkovic et al. (2014) chegaram a 18 miRNAs como possíveis bons marcadores de nefrotoxicidade, enquanto que Kanki et al. (2014) chegaram em 25 miRNAs a serem investigados. Pavkovic et al. (2014) também concluíram que os miRNAs miR-15, -16, -20a, -192, -193 e -210 são os possíveis melhores biomarcadores de nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, uma vez que esses miRNAs se mostraram estatisticamente alterados na urina de ratos 3 e 5 dias após infusão de diferentes doses de cisplatina (1 e 3 mg/kg), enquanto que os biomarcadores tradicionais se mostraram alterados no dia 8 após a administração de cisplatina. Outro trabalho com o objetivo de relacionar a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, identificou mudanças significativas nas concentrações de 6 miRNAs urinários e em 12 plasmáticos após a administração do antineoplásico em ratos (Wolenski et al., 2017). Neste, as amostras foram coletadas e analisadas 24 e 72 horas após a administração de cisplatina. Wolenski e colaboradores (2017) concluíram que o miR-378a pode ser considerado um bom biomarcador urinário de nefrotoxicidade, uma vez que esse miRNA foi o mais elevado na urina e também se mostrou elevado no estudo de Kanki e colaboradores (2014). Estudos realizados em cultura de células renais e tecidos renais retirados de ratos também verificaram a relação da expressão de outros miRNAs com uma maior nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, como o miR-449 (QIN et al., 2016), -181a (HAN-YU, et al., 2012) e miR-375 (HAO et al., 2017). Além disso, em outros estudos, foi verificada um possível papel protetor de miRNAs na lesão renal induzida pela cisplatina, como o miR-34a (BHATT et al., 2010), -155 (PELLEGRINI et al., 2014) e -125b (JOO et al., 2013). A regulação da expressão de miRNAs pode constituir uma importante estratégia de prevenção e/ou tratamento de lesões renais agudas induzidas não somente pela cisplatina, mas também por outros medicamentos nefrotóxicos.

4. Polimorfismos relacionados à toxicidade. Polimorfismos no gene da CYP2E1 A CYP2E1 é bem conhecida por seu papel no metabolismo hepático do etanol no sistema de oxidação microsomal do etanol, mas é também responsável pelo metabolismo de um amplo espectro de substratos, incluindo moléculas endógenas como cetonas e ácidos graxos e drogas de baixo peso molecular, poluentes e componentes da dieta. Além disso, CYP2E1 é expressa em altas concentrações no fígado e expressa e induzida em muitos tecidos extra-hepáticos como cérebro, rins, mucosa nasal, pele, coração, pulmões, ovários, testículos, músculos esqueléticos e ossos marrons (Hartman et al., 2017). Dentro das células, a CYP2E1 ativa localiza-se no retículo endoplasmático (erCYP2E1) e na mitocôndria (mtCYP2E1). Sendo que a reação de oxidação para metabolismo de substratos pela CYP2E1 utiliza elétrons do NADPH e oxigênio molecular para introduzir um átomo de oxigênio ao substrato, resultando em um metabólito mais solúvel e facilmente excretado (Choi

et al., 2002; Hartman et al., 2017). O principal mecanismo proposto pelos estudos que avaliaram a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina e a enzima CYP2E1 é representado pela interação cisplatina-CYP2E1, resultando na geração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e destruição da proteína heme, com liberação de heme e ferro. O ferro liberado participa da geração de OH e outros oxidantes patogênicos, resultando em lesões. O aumento do ferro foi associado com a diminuição do conteúdo da CYP2E1, reforçando a hipótese de interação direta da enzima com a cisplatina. Um estudo realizado por Lu e Cederbaum (2006) mostrou que as células tratadas com cisplatina que super expressam a enzima CYP2E1 produzem um aumento significativo no estresse oxidativo em comparação a células que não expressam esta enzima, causando danos no fígado. Liu e Baliga (2003) também verificaram que a CYP2E1 é responsável por contribuir para a insuficiência renal aguda induzida pela cisplatina, uma vez que os camundongos que não expressavam a CYP2E1 mantiveram uma função renal preservada em comparação com aqueles com expressão enzimática normal. Evidências adicionais foram encontradas pelos mesmos autores (Liu et al., 2002), onde o uso de um inibidor da enzima CYP450 preveniu danos celulares causados pela cisplatina. Curiosamente, esses estudos também propõem um possível mecanismo pelo qual cisplatina e CYP2E1 promover danos renais e hepáticos. Liu et al. (2002) sugerem que o uso de cisplatina gera EROs, além dos EROs derivados do grupo heme da CYP450. Portanto, o aumento da produção de espécies como H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> e O<sup>•</sup> contribuiria, conseqüentemente, para o dano tecidual, apoptose, insuficiência renal aguda e insuficiência hepática. As enzimas da família CYP450 são altamente susceptíveis a variabilidade genética e polimorfismos, tendo um significativo impacto clínico (Scripture et al., 2005). Alguns alelos polimórficos codificam proteínas com atividades catalíticas diferentes ou alteram a expressão gênica. Mais de 10 regiões para SNPs (do inglês: single nucleotide polymorphisms) foram identificadas ao longo do gene da CYP2E1 (Ingelman-Sundberg et al., 2001), como o polimorfismo CYP2E1\*5B na região 5' flangeadora do gene, associado a um aumento de até 10 vezes na transcrição do gene da CYP2E1 (Hayashi et al., 1991; Watanabe et al., 1994; Nomura et al., 2003); e o polimorfismo CYP2E1\*6, associado a um aumento da atividade catalítica da enzima (Uematsu et al., 1991). Devido a essa relação entre a enzima com a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, nós acreditamos que um polimorfismo que altera a expressão do gene da CYP2E1 pode alterar as toxicidades apresentadas pelo paciente em tratamento com a cisplatina. Um estudo realizado por Khrunin et al. (2010) não encontrou nenhuma relação entre quatro polimorfismos avaliados no gene da CYP2E1 com toxicidades induzidas pela cisplatina em pacientes com câncer de ovário em tratamento com 100 mg/m<sup>2</sup> de cisplatina e 600 mg/m<sup>2</sup> de cislofosfamida. No entanto, é necessário a realização de mais estudos investigando essa relação com diferentes polimorfismos e diferentes regimes de tratamento. b. Polimorfismos no gene da ABCB1 e ABCC2. Proteínas de transporte dependentes de ATP são chamadas ATPases e compõem uma grande superfamília incluindo F, A e V-ATPases, ATPases de tipo P e transportadores ABC (ATP binding cassette). Existem 49 genes para as proteínas ABC e que podem ser divididos em sete "subfamílias". Estas subfamílias são denominadas por letras (de A – G), sendo escritas dessa forma: ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF, ABCG (Vasiliou et al., 2009). Dentre os transportadores mais conhecidos da superfamília ABC, a Glicoproteína – P, codificada pelo gene ABCB1 (ou MDR1 multidrug resistance protein 1 – (receptor de resistência a múltiplos fármacos 1), é expressa no intestino, rins, fígado, glândulas adrenais, colón, placenta, pâncreas, linfócitos e barreira hematoencefálica (Sharom, 2008). Esta família possui 11 genes e é exclusiva dos mamíferos. Está localizada no cromossomo 7q21.1 e possui 28 exons (Bodor et al., 2005). O ABCB1 limita a absorção de xenobióticos do lúmen intestinal, protege os tecidos sensíveis (por exemplo, o cérebro, o feto e os testículos) de xenobióticos e está envolvido na secreção biliar e renal de seus substratos. Nos últimos anos, foi descrito um grande número de polimorfismos do gene ABCB1 e os mais estudados são: 1236C> T (rs1128503, p.G412G), 2677G> T / A (rs2032582, p.A893S / T) e 3435C> T (rs1045642, p.I1145I) (WOLKING et al., 2015). Estes polimorfismos e haplótipos de ABCB1 têm sido associados a alterações na disposição do fármaco e resposta a fármacos, incluindo eventos adversos com vários substratos da ABCB1 (Wolking et al., 2015). A ABCC2 (MRP2 – multidrug resistance protein 2 ou proteína de resistência a múltiplos fármacos 2) é expressa no fígado, rim e intestino, e tem um papel primário na excreção biliar de ânions orgânicos e quimioterápicos. Está localizada no cromossomo 10q24 e possui 26 exons (Vasiliou et al., 2009). Os medicamentos são conjugados com a GSH intracelularmente e então excretados das células. ABCC2 está também envolvido na excreção de ânions orgânicos derivados do metabolismo de xenobióticos (fase I e II) e de medicamentos aniônicos não conjugados, como a cisplatina (Suzuki e Sugiyama, 1999 e 2002). Por outro lado, ABCC2 é expressa em muitos tecidos tumorais, e a sua superexpressão pode levar à resistência a múltiplos fármacos (Han et al., 2011). Entre muitos Polimorfismos (SNPs) identificados até o momento, rs717620 (C-24T, o promotor), rs2273697 (G1249A, exon 10) e rs3740066 (C3972T, exon 28) são mais frequentes (Suzuki e Sugiyama, 2002, SAI et al., 2008). Tsiji e colaboradores (2016) estudaram a relação dos polimorfismos do ABCB1 com a resistência ao tratamento a antieméticos em pacientes com câncer em tratamento com cisplatina e observaram que o polimorfismo ABCB1 3435C>T foi um preditor de falha no tratamento. Qian e colaboradores (2016) não observaram a relação entre os polimorfismos de ABCB1 e ABCC2 e a toxicidade, porém existiu relação entre do ABCC2 e a resposta ao tratamento. Han e colaboradores (2011) demonstraram que o ABCC2 (C3972T) está associado a toxicidade em pacientes com câncer de pulmão com tratamento com cisplatina. São poucos estudos encontrados na literatura e há necessidade de outros estudos para esclarecer se existe a relação dos polimorfismos destes transportadores com a toxicidade induzida pelo tratamento com cisplatina. c. Polimorfismos no gene da OTC2. Nas células renais, o transportador Organic Cation Transporter (OTC) é encontrado na isoforma 2 (OTC2), enquanto a isoforma 1 é encontrada no fígado, sendo incapaz de transportar cisplatina (Ciarimboli et al., 2005). O transportador OCT2, codificado pelo gene da família de transportadores de soluto 22, membro 2, portanto chamado SLC22A2, é um transportador principalmente expresso no domínio basolateral das células tubulares renais. OCT2 desempenha, portanto, papel importante na absorção renal de compostos catiônicos, sendo capaz de desempenhar papel no aumento da absorção de cisplatina, sensibilidade ao fármaco e toxicidade (Rabik e Dolan, 2007; Filipski et al, 2008; Wang et al, 2014; Qian et al, 2016). d. Polimorfismos no gene da MATE1O transportador MATE1 (Multidrug and toxin extrusion 1) codificado pelo gene da família de transportadores de soluto 47, membro 1, portanto SLC47A1. É um transportador expresso principalmente nas membranas luminiais do ducto urinário renal, sendo identificado como um exportador de cátions orgânicos acoplado a H<sup>+</sup>. MATE1 é conhecido atualmente como mediador da etapa final de secreção tubular de cisplatina (Otsuka et al., 2005; Terada et al., 2006; Tanihara et al., 2007). Associados, estes dois transportadores promovem a excreção da platina por via urinária, visto que estudos anteriores demonstram que a platina é levada às células renais do túbulo proximal principalmente via transportador OCT2 e secretada no lúmen via MATE1. Portanto ambas as proteínas são associadas à excreção e conseqüentemente, à disposição dos derivados de platina (Chen et al., 2009).

### Hipótese:

Acredita-se que este estudo contribuirá para o melhor entendimento das toxicidades causadas pelos medicamentos baseados em platina, e conseqüentemente uma melhora do tratamento antineoplásico. As toxicidades geradas são extremamente impactantes na vida dos pacientes, uma vez que muitos deles acabam diminuindo a dose do quimioterápico, ou até mesmo mudando de protocolo de tratamento devido a essas reações. A diminuição de dose e mudança de protocolo faz com que os pacientes tenham que receber tratamentos muitas vezes menos eficazes. A necessidade da pesquisa de novos biomarcadores se dá pelo fato de que os marcadores tradicionais são geralmente pouco sensíveis. Essa falta de sensibilidade e especificidade pode gerar resultados falsos positivos ou falsos negativos, levando a uma detecção tardia da lesão renal ou levando a conclusões falsas (HERRERA-PÉREZ et al., 2016). Como exemplo desta necessidade, podemos citar os biomarcadores mais utilizados para avaliar a nefrotoxicidade induzida pela cisplatina, que são a creatinina sérica e a ureia, porém eles podem ser influenciados por vários processos fisiológicos, como síntese e degradação de proteínas (GAUTIER et al., 2010) e desidratação (MENDELSSOHN et al., 1999), portanto a identificação de biomarcadores mais sensíveis e específicos contribuirá para uma detecção prévia da reação ao quimioterápico, permitindo o melhor controle da mesma na prática clínica, e conseqüentemente, melhorando o tratamento. Neste contexto, as hipóteses a serem investigadas são: Indivíduos com polimorfismos nos genes da CYP2E1 terão maior predisposição para desenvolver toxicidades induzidas por platinas; Polimorfismos nos genes da ABCB1 e ABCC2, uma vez que alteram o efluxo celular, estarão relacionados ao aumento da toxicidade induzida pelo quimioterápico; Os polimorfismos nos genes da CYP2E1, da ABCB1 e da ABCC2, OTC2 e MATE1 estarão relacionados com a resposta

ao tratamento e na sobrevida dos pacientes.

#### **Objetivo Primário:**

Verificar a relação dos polimorfismos nos genes da CYP2E1, da ABCB1 e da ABCC2, OTC2 e MATE1 com as principais toxicidades induzidas por platina em pacientes com câncer de pulmão.

#### **Objetivo Secundário:**

1. Caracterizar os pacientes quanto à idade, sexo, peso, altura, cor da pele, presença de traqueostomia para respiração e sonda para alimentação, Índice de Karnofsky (KPS) (Karnofsky e Burchenal, 1946), escolaridade, situação de trabalho, renda familiar, estado civil, tabagismo/etilismo; e dados referentes ao tumor, como localização e graduação histopatológica (obtidos do laudo da biópsia), estadiamento e estadiolocalização do tumor, graduação histopatológica, estadiamento, estadiamento e presença de comorbidades; 2. Caracterizar os pacientes quanto à nefrotoxicidade, às toxicidades gastrointestinais, hepáticas e à mielotoxicidade à platina; 3. Determinar a ocorrência de polimorfismos nos genes CYP2E1 (rs3813867, rs3813865, rs8192772), ABCB1 (rs1045642, rs1128503 e rs2032582), ABCC2 (rs717620, rs2273697 e rs3740066), OTC2 (rs316003, rs316019) e MATE1 (rs2289669); 4. Avaliar a resposta ao tratamento, a sobrevida global e a sobrevida livre de doença dos pacientes; 5. Verificar associação entre os polimorfismos nos genes das proteínas CYP2E1, ABCB1, ABCC2, OTC2 e MATE1 com toxicidade, sobrevida global e sobrevida livre de doença.

#### **Metodologia Proposta:**

1. Caracterização dos pacientes Serão coletados: - dados demográficos - dados referentes ao tumor - amostras biológicas (enfermeira) a. Número estimado de visitas Estima-se que cada paciente terá 3 visitas 2. Avaliação das toxicidades Serão investigadas a nefrotoxicidade, a hepatotoxicidade, as toxicidades gastrointestinais e a mielotoxicidade, induzidas pela cisplatina através de coletas de sangue que todos os pacientes realizarão antes e 5 dias após a quimioterapia com cisplatina ou carboplatina. Os valores basais serão comparados com os valores encontrados após a quimioterapia. Em relação às toxicidades gastrointestinais, serão investigadas a náusea, vômito e diarreia por meio de entrevista pessoalmente no dia 1 e nos dias 2 ao 5. Os parâmetros analisados de hepatotoxicidade serão: AST, ALT, GGT, ALP e bilirrubinas. Para nefrotoxicidade serão: creatinina sérica, estimativa do clearance de creatinina (Fórmula de Cockcroft-Gault), ureia, ácido úrico, sódio, magnésio, cálcio, fósforo e potássio. E aqueles analisados para mielotoxicidade serão: hemoglobina, leucócitos, neutrófilos, linfócitos e plaquetas. 3. Separação das amostras para as análises de miRNAs e estresse oxidativo Para isolamento das amostras para análise dos miRNAs serão coletados sangue antes do início do tratamento e 5 dias após de plasma. Será coletado dois tubos de sangue de 4 mL conteúdo EDTA, centrifugado a 2.500 rpm, 4°C durante 10 minutos. O plasma será retirado e armazenado em freezer -80°C. A urina será coletada em frasco coletor de urina de 80 mL, centrifugada a 3.000 g, 4°C por 10 minutos e o sobrenadante será armazenado em freezer -80°C. 4. Avaliação de miRNAs como biomarcadores a. Isolamento de miRNAs expressos nas amostras de plasma O RNA plasmático total da será isolado a partir de 200 µL de plasma armazenados conforme especificado acima, e será utilizando o kit miRNeasy Serum/Plasma, seguindo o seu protocolo. b. Análise por Array dos miRNAs diferentemente expressos em pacientes com e sem toxicidade após tratamento com platina Seis amostras miRNAs extraídas de plasma de pacientes que não apresentarem e seis amostras de plasma de pacientes que apresentarem nefrotoxicidade. Serão identificados quais são os principais miRNAs relacionados com a toxicidade induzida pela platina, excluindo aqueles que já foram comprovadamente alterados em pacientes com câncer de pulmão. c. Validação dos diferentes miRNAs selecionados Após identificação dos principais miRNAs, serão providenciados primers específicos para identificação por PCR em tempo real para validação destes miRNAs nas amostras de plasma e urina dos pacientes. A normalização global será realizada a partir de miRNA sintético (cel-miR-39 de C. elegans). d. Análise bioinformática de miRNAs alvos e de vias de sinalização potencialmente moduladas pela expressão dos miRNAs selecionados Para identificação de possíveis mRNAs alvos e de vias de sinalização moduladas pelos miRNAs será utilizado o software IPA (Ingenuity Pathway Analysis, Ingenuity Systems). 5. Análise de polimorfismo Serão coletados 4 mL de sangue, em tubos contendo EDTA como anticoagulante, que serão utilizados para genotipagem. O isolamento do DNA será realizado por procedimentos padronizados (Wizard® genomic DNA purification Kit, Promega). Após a última etapa de hidratação do DNA, as amostras serão armazenadas em geladeira para quantificação e determinação de pureza. a. Determinação dos polimorfismos nos genes A pesquisa de polimorfismos será realizada pelo sistema de genotipagem TaqMan® Genotyping Assays. Serão analisados polimorfismos nos genes CYP2E1, ABCB1, ABCC2, OTC2 e MATE1. A reação de PCR real-time será realizada utilizando uma placa de 96 poços, para o aparelho 7500 fast Real-Time PCR Systems. Para maiores detalhes consultar o projeto completo (em anexo).

#### **Critério de Inclusão:**

Serão incluídos no estudo pacientes com as seguintes características: • Indivíduos com idades entre 18 a 80 anos; • Com diagnóstico histológico de Carcinoma brônquico (Carcinoma de não pequenas células ou Carcinoma de pequenas células) atendidos no Serviço de Oncopneumologia da UNICAMP; • Com indicação de tratamento com quimioterapia baseada em platina (cisplatina ou carboplatina), independente do estadiamento TNM (8ª edição) e de acordo com os protocolos do serviço; • Expectativa de sobrevida superior a 3 meses; • KPS acima de 60; • Doença mensurável pelos critérios RECIST 1.1; • Clearance de creatinina calculado > 55 ml/min usando a fórmula de Cockcroft-Gault (COCKCROFT e GAULT, 1976); • Bilirrubina total menor ou igual a duas vezes o limite inferior da faixa normal na instituição e AST menor ou igual a duas vezes o limite superior normal, exceto na presença de metástases hepáticas; • Indivíduos sem qualquer neoplasia prévia ou indivíduos com neoplasias curadas (estiverem vivos sem recorrência da doença durante pelo menos 5 anos da data do diagnóstico patológico); • Indivíduos não férteis ou indivíduos férteis que usam um anticoncepcional aceitável durante o todo o período do tratamento e três meses após o término do tratamento. As mulheres com potencial de engravidar devem ter documentado um teste de -HCG sérico negativo. Os indivíduos devem ser alertados do risco da gravidez ou de ser pai; • Termo de consentimento esclarecido escrito e assinado antes de ingressar no estudo.

#### **Critério de Exclusão:**

Serão excluídos os pacientes: com doença psiquiátrica severa limitando a capacidade de compreensão e aceitação em participar com a doação do material e/ou dificuldade de responder aos questionamentos da pesquisa; que não apresentarem aspectos clínicos que permitam a comunicação verbal entre paciente e pesquisadora, e também não possuírem cuidadores/acompanhantes que possam fornecer os detalhes e dados pertinentes à pesquisa; que se recusarem em participar do estudo e não assinaram o TCLE.

#### **Riscos:**

Neste estudo, o risco para os participantes está relacionado à coleta de sangue, pois se trata de um procedimento invasivo (pode provocar dor, desconforto e hematoma no local da punção). Para reduzir estes riscos, coleta será sempre realizada por enfermeira qualificada. Caso qualquer um destes problemas ocorra, o participante será atendido e acompanhado até a resolução do problema pelos médicos do HC/UNICAMP.

#### **Benefícios:**

O paciente não terá benefícios diretos relacionados aos resultados da pesquisa.

#### **Metodologia de Análise de Dados:**

As informações serão documentadas inicialmente em formulários padronizados e em seguida armazenados em planilha do Excel® periodicamente. Será realizada a análise descritiva com apresentação de frequências absolutas/percentuais para as variáveis categóricas e medidas de posição (média, mediana) e dispersão (desvio-padrão, range) para as variáveis numéricas. A análise estatística será feita utilizando o Statistics Program for Social Science for Windows (SPSS® 16.0, SPSS Inc, Chicago, IL, EUA) e o Statistics Analysis System for Windows (SAS® 9.2, SAS Institute Inc, Cary, NC, EUA). Para comparação de variáveis categóricas entre os grupos de

pacientes com e sem nefrotoxicidade será usado o teste Chi-quadrado e o teste exato de Fisher. Para comparação de variáveis numéricas entre grupos de pacientes com e sem nefrotoxicidade será usado o teste de Mann-Whitney. Será utilizada a análise de variância para medidas repetidas (ANOVA for repeated measures), seguida do teste de perfil de contrastes, para analisar a evolução entre as avaliações (diferentes tempos dentro de um mesmo grupo). A correlação de Spearman será utilizada para avaliar a correlação entre os possíveis polimorfismos e as toxicidades induzidas pela cisplatina. Será realizado o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Diferentes genótipos para cada polimorfismo serão usados para formar grupos. A SG e SLD serão estimadas pelo método Kaplan-Meier. O nível de significância adotado em todas as análises será de 5% ( $p < 0,05$ ).

#### Desfecho Primário:

Observando-se evidências da correlação entre os eventos adversos, a efetividade da quimioterapia e os polimorfismos, será avaliada, posteriormente, a possibilidade da realização de estudos de polimorfismos genéticos nos pacientes, antes do início da quimioterapia. Com isso, será possível realizar o ajuste de dose prévio ao início do tratamento ou, eventualmente, solicitar a troca de protocolo clínico devido ao aumento do risco de eventos adversos ou de possível falha terapêutica.

**Tamanho da Amostra no Brasil:** 100

#### Países de Recrutamento

País de Origem do Estudo	País	Nº de participantes da pesquisa
Sim	BRASIL	100

#### Outras Informações

#### Haverá uso de fontes secundárias de dados (prontuários, dados demográficos, etc)?

Sim

#### Detalhamento:

Para a caracterização dos pacientes serão obtidos dados demográficos como: identificação, dados para contato, idade, sexo, peso, altura, cor da pele, presença de traqueostomia para respiração e sonda para alimentação e tabagismo/etilismo, além de dados referentes ao tumor como: localização e graduação histopatológica (obtidos do laudo da biópsia), estadiamento e estágio. Esses dados serão obtidos através da análise dos prontuários e/ou em entrevistas com os pacientes. Vale ressaltar que serão verificados apenas os pacientes que aceitarem participar da pesquisa e assinarem o TCLE.

#### Informe o número de indivíduos abordados pessoalmente, recrutados, ou que sofrerão algum tipo de intervenção neste centro de pesquisa:

100

#### Grupos em que serão divididos os participantes da pesquisa neste centro

ID Grupo	Nº de Indivíduos	Intervenções a serem realizadas
Câncer de pulmão com uso de carbo ou cisplatina	100	Entrevistas pessoais e coleta de amostras (sangue e urina)

#### O Estudo é Multicêntrico no Brasil?

Não

#### Propõe dispensa do TCLE?

Não

#### Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco?

Sim

#### Justificativa:

O material será mantido em Biorrepositório por 10 anos após o término do doutorado para a publicação de artigos científicos relacionados ao tema da tese mediante aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa e, após este período, será descartado de acordo com a Resolução Nº358, de 29 de abril de 2005 e com a RDC Nº306, de 7 de dezembro de 2004.

#### Cronograma de Execução

Identificação da Etapa	Início (DD/MM/AAAA)	Término (DD/MM/AAAA)
Redação de artigos científicos	06/07/2020	17/12/2021
Inclusão de pacientes	05/03/2018	28/06/2019
Avaliação da resposta ao tratamento	05/03/2018	26/06/2020
Análise de miRNAs	05/03/2018	26/06/2020
Estágio no exterior	06/07/2020	18/12/2020
Redação e defesa da tese de doutorado	06/07/2020	17/12/2021
Estresse oxidativo plasmático	05/03/2018	26/06/2020
Avaliação de sobrevida	05/03/2018	26/06/2020
Avaliação das toxicidades	05/03/2018	26/06/2020
Análise dos dados	06/07/2020	17/12/2021
Análise de polimorfismos	05/03/2018	26/06/2020

Coleta de amostras	05/03/2018	20/12/2019
Padronização dos métodos	05/03/2018	21/12/2018

#### Orçamento Financeiro

Identificação de Orçamento	Tipo	Valor em Reais (R\$)
Reagentes e materiais de coleta para o projeto de pesquisa	Custeio	R\$ 10.000,00
<b>Total em R\$</b>		<b>R\$ 10.000,00</b>

#### Bibliografia:

Adelstein DJ, Li Y, Adams GL, Wagner Jr H, Kish JA, Ensley JF, et al. An Intergroup phase III comparison of standard radiation therapy and two schedules of concurrent chemoradiotherapy in patients with unresectable squamous cell head and neck cancer. *J Clin Oncol.* 2003; 21(1):92-8.

Ahmad S. Platinum-DNA interactions and subsequent cellular processes controlling sensitivity to anticancer platinum complexes. *Chem Biodivers.* 2010; 7(3):543-66.

Ando Y, Shimokata T, Yasuda Y, Hasegawa Y. Carboplatin dosing for adult Japanese patients. *Nagoya J Med Sci.* 2014 Feb;76(1-2):1-9.

Arany I, Safirstein RL. Cisplatin nephrotoxicity. *Semin Nephrol.* 2003; 23(5):460-4.

Bar-Sela G, Tsalic M, Gaitini D, Steiner M, Haim N. Paclitaxel, carboplatin, and oral etoposide in advanced gastric adenocarcinoma: association with severe myelotoxicity. *Med Oncol.* 2003;20(3):291-4.

Bhatt K, Zhou L, Mi QS, Huang S, She JX, Dong Z. MicroRNA-34a is induced via p53 during cisplatin nephrotoxicity and contributes to cell survival. *Mol Med.* 2010; 16(9-10):409-16.

Blair BG, Larson CA, Safaei R, Howell SB. Copper transporter 2 regulates the cellular accumulation and cytotoxicity of Cisplatin and Carboplatin. *Clin Cancer Res.* 2009; 15(13):4312-21.

Bodor M, Kelly EJ, Ho RJ. Characterization of the MDR1 gene. *AAPS Journal.* 2005; 7:1-5.

Brasil. Protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas em Oncologia. Ministério da Saúde, 2014.

Choi D, Leininger-Muller D, Kim YC, Leroy P, Siest G, Wellman M. Differential role of CYP2E1 binders and isoniazid on CYP2E1 protein modification in NADPH-dependent microsomal oxidative reactions: free radical scavenging ability of isoniazid. *Free radical research.* 2002; 36:893-903.

Ciarimboli G, Ludwig T, Lang D, Pavenstädt H, Koepsell H, Piechota HJ, et al. Cisplatin nephrotoxicity is critically mediated via the human organic cation transporter 2. *Am J Pathol.* 2005; 167(6):1477-84.

Corvò R. Evidence-based radiation oncology in head and neck squamous cell carcinoma. *Radiother Oncol.* 2007; 85(1):156-70.

Cvitkovic E. Cumulative toxicities from cisplatin therapy and current cytoprotective measures. *Cancer Treat Rev.* 1998 Aug;24(4):265-81.

Dedivitis RA, França CM, Mafra ACB, Guimarães FT, Guimarães AV. Características clínico-epidemiológicas no carcinoma espinocelular de boca e orofaringe. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2004; 70(1):35-40.

Dhawan D, Panchal H, Shukla S, Padh H. Genetic variability & chemotoxicity of 5-fluoracil & cisplatin in head & neck cancer patients: a preliminary study. *Indian J Med Res.* 2013;137:125-29.

Dobrossy L. Epidemiology of head and neck cancer: magnitude of the problem. *Cancer Metastasis Rev.* 2005; 24(1):9-17.

Fenoglio C, Boncompagni E, Chiavarina B, Cafaggi S, Cilli M, Viale M. Morphological and histochemical evidence of the protective effect of procainamide hydrochloride on tissue damage induced by repeated administration of low doses of cisplatin. *Anticancer Res.* 2005 Nov-Dec;25(6B):4123-8.

Franceschi S, Talamini R, Baria S, Barón AE, Negri E, Bidoli E, et al. Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx and esophagus in Northern Italy. *Cancer Res.* 1990; 50(20):6502-7.

García-Campelo R, Bernabé R, Cobo M, Corral J, Coves J, Dómine M, Nadal E, Rodríguez-Abreu D, Viñolas N, Massuti B. SEOM clinical guidelines for the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC) 2015. *Clin Transl Oncol.* 2015 Dec;17(12):1020-9.

Gautier JC, Riefke B, Walter J, Kurth P, Knechtcraine L, Guilpin V, et al. Evaluation of novel biomarkers of nephrotoxicity in two strains of rat treated with cisplatin. *Toxicol Pathol.* 2010; 38:943-56.

GLOBOCAN. Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. In: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx). Acesso em 20/07/2017.

Han B, Gao G, Wu W, Gao Z, Zhao X, Li L, et al. Association of ABC2 polymorphisms with platinum-based chemotherapy response and severe toxicity in non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer.* 2011;72(2):238-43.

Han-yu Z, Mo-yan L, Quan H, Dong Z, Wen-jia G, Yuan-sheng X, Xiang-mei C. Role of microRNA-181a in the apoptosis of tubular epithelial cell induced by cisplatin. *Chin Med J.* 2012; 125930:523-6.

Hao J, Lou Q, Wei Q, Mei S, Li L, Mi Q, et al. MicroRNA-375 is induced in cisplatin nephrotoxicity to repress hepatocyte nuclear factor 1-beta. *JBC.* 2017; 17:292(11):4571-82.

Hartman JH, Miller G, Meyer J. Toxicological implications of mitochondrial localization of CYP2E1. *Toxicol. Res.* 2017.

Hassan I, Chibber S, Khan AA, Naseem I. Cisplatin-induced neurotoxicity in vivo can be alleviated by riboflavin under photoillumination. *Cancer Biother Radiopharm.* 2013;28:160-8.

Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P45011E1 gene. *J Biochem (Tokyo).* 1991; 110:559-65.

Hensing T, Chawla A, Batra R, Salgia R. A personalized treatment for lung cancer: molecular pathways, targeted therapies, and genomic characterization. *Adv Exp Med Biol.* 2014;799:85-117.

Herrera-Peréz Z, Gretz N, Dweep H. A comprehensive review on the genetic regulation of cisplatin-induced nephrotoxicity. *Curr Genomics.* 2016; 17:279-93.

Hill JM, Loeb E, MacLellan A, Hill NO, Khan A, King JJ. Clinical studies of Platinum Coordination compounds in the treatment of various malignant diseases. *Cancer Chemother Rep.* 1975; 59(3):647-59.

Iamarron A, Pattanaporn K, Pongsiriwet S, Wanachantararak SW, Prapayastok S, Jittidecharaks S, et al. Analysis of 587 cases of oral squamous cell carcinoma in northern Thailand with a focus on young people. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 33(1):84-8.

INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. Coordenação Geral de Ações Estratégicas. Coordenação de Prevenção e Vigilância. Estimativa 2016-v11: Incidência de Câncer no Brasil. In: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/mapa.asp?ID=15>. Acesso em 20/07/2017.

Ingelman-Sundberg M, Oscarson M, Daly AK, Garte S, Nebert DW. Human Cytochrome P-450 (CYP) Genes A Web Page for the Nomenclature of Alleles. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; 10:1307-8.

Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011 Mar-Apr;61(2):69-90.

Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2007; 57(1):43-66.

Joo MS, Lee CG, Koo JH, Kim SG. miR-125b transcriptionally increased by Nrf2 inhibits AhR repressor, which protects kidney from cisplatin-induced injury. *Cell Death Dis.* 2013; 4:e899.

Kanki M, Moriguchi A, Sasaki D, Mitori H, Yamada A, Unami A, Miyamae Y. Identification of urinary miRNA biomarkers for detecting cisplatin-induced proximal tubular injury in rats. *Toxicol.* 2014; 324:158-63.

Khrunin AV, Moisseev A, Gorbunova V, Limborska S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogenomics J.* 2010; 10:54-61.

Kim EH, Jang H, Shin D, Baek SH, Roh JL. Targeting Nrf2 with wogonin overcomes cisplatin resistance in head and neck cancer. *Apoptosis.* 2016;21(11):1265-1278.

Kokoszka JE, Waymire KG, Levy SE, Sligh JE, Cai J, Jones DP, et al. The ADP/ATP translocator is not essential for the mitochondrial permeability transition pore. *Nature.* 2004; 427:461-5.

Kröning R, Lichtenstein AK, Nagami GT. Sulfur-containing amino acids decrease cisplatin cytotoxicity and uptake in renal tubule epithelial cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2000; 45(1):43-9.

Kuhlmann MK, Burkhardt G, Köhler H. Insights into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol Dial Transplant.* 1997; 12(12):2478-80.

Liedert B, Materna V, Schadendorf D, Thomale J, Lage H. Overexpression of cMOAT (MRP2/ABCC2) is associated with decreased formation of platinum-DNA adducts and decreased G2-arrest in melanoma cells resistant to cisplatin. *J Invest Dermatol.* 2003; 121(1):172-6.

Liu H, Baliga M, Baliga R. Effect of cytochrome P450 2E1 inhibitors on cisplatin-induced cytotoxicity to renal proximal tubular epithelial cells. *Anticancer Res.* 2002; 22:863-8.

Liu H, Baliga R. Cytochrome P450 2E1 null mice provide novel protection against cisplatin-induced nephrotoxicity and apoptosis. *Kidney Int.* 2003; 63:168796.

Liu HE, Bai KJ, Hsieh YC, Yu MC, Lee CN, Chang JH, Hsu HL, Lu PC, Chen HY. Multiple Analytical Approaches Demonstrate a Complex Relationship of Genetic and Nongenetic Factors with Cisplatin- and Carboplatin-Induced Nephrotoxicity in Lung Cancer Patients. *Biomed Res Int.* 2014; 2014: 937429.

Lu Y and Cederbaum AI. Cisplatin-Induced Hepatotoxicity Is Enhanced by Elevated Expression of Cytochrome P450 2E1.

Toxicol Sci. 2006; 89(2):515-23. Martins NM, Santos NA, Curti C, Bianchi ML, Santos AC. Cisplatin induces mitochondrial oxidative stress with resultant energetic metabolism impairment, membrane rigidification and apoptosis in rat liver. *J Appl Toxicol.* 2008 Apr;28(3):337-44. Marullo R, Werner E, Degtyareva N, Moore B, Altavilla G, Ramalingam SS, et al. Cisplatin induces a mitochondrial-ROS response that contributes to cytotoxicity depending on mitochondrial redox status and bioenergetic functions. *PLoS One.* 2013; 8(11):e81162. Mendelssohn DC, Barret BJ, Brownscombe LM, Either J, Greenberg DE, Kanani SD, et al. Elevated levels of serum creatinine, recommendations for management and referral. *CMAJ.* 1999; 161:413-7. Mendenhall WM, Rigs CE, Cassisi NJ. Treatment of head and neck cancers. In: De Vita VT, Hellman, S, Rosenberg SA. *DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, Reeves WB. Mechanisms of Cisplatin nephrotoxicity. *Toxins (Basel).* 2010; 2(11):2490-518. Mohan S, Smyth BJ, Namin A, Phillips G, Gratton MA. Targeted amelioration of cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2014;151:836-9. Nakayama K, Miyazaki K, Kanzaki A, Fukumoto M, Takebayashi Y. Expression and cisplatin sensitivity of copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) in human solid carcinoma cell lines. *Oncol Rep.* 2001; 8(6):1285-7. Nomura F, Itoga S, Uchimoto T, Tomonaga T, Nezu M, Shimada H, et al. Transcriptional activity of the tandem repeat polymorphism in the 5'-flanking region of the human CYP2E1 gene. *Alcohol Clin Exp Res.* 2003; 27:42S-46S. Pavkovic M, Riefke B, Ellinger-Ziegerbauer H. Urinary microRNA profiling for identification of biomarkers after cisplatin-induced kidney injury. *Toxicol.* 2014; 324:147-57. Pavkovic M, Robinson-Cohen C, Chua AS, Nicoara O, Cárdenas-González M, Bijol V, et al. Detection of drug-induced acute kidney injury in humans using urinary KIM-1, miR-21, -200c e -423. *Toxicol Sci.* 2016; 152(1):205-13. Pellegrini KL, Han T, Bijol V, Saikumar J, Craciun L, Chen WW, et al. MicroRNA-155 deficient mice expression heightened kidney toxicity when dosed with cisplatin. *Toxicol Sci.* 2014; 141(2):484-92. Peres LA, da Cunha AD, Jr. Acute nephrotoxicity of cisplatin: molecular mechanisms. *J Bras Nefrol.* 2013; 35:332-40. Qian CY, Zheng Y, Wang Y, Chen J, Liu JY, Zhou HH, et al. Associations of genetic polymorphisms of the transporters organic cation transporter 2 (OCT2), multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1), and ATP-binding cassette subfamily C member 2 (ABCC2) with platinum-based chemotherapy response and toxicity in non-small cell lung cancer patients. *Chin J Cancer.* 2016;35(1):85. Qin W, Xie W, Yang X, Xia N, Yang K. Inhibiting microRNA-449 attenuates cisplatin-induced injury in NRK-52E cells possibly via regulating the SIRT1/P53/BAX pathway. *Med Sci Monit.* 2016. 22:818-23. Quintanilha JCF, de Sousa VM, Visacri MB, Amaral LS, Santos RMM, Zambrano T, Salazar LA, Moriel P. Involvement of cytochrome P450 in cisplatin treatment: implications for toxicity. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2017 Jun 13. Quintanilha, JCF. Avaliação das reações adversas, qualidade de vida e estresse oxidativo celular em pacientes com câncer de cabeça e pescoço em tratamento com cisplatina e radioterapia. 2017. 186f. Dissertação (mestrado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ. Rang & Dale Farmacologia. Rio de Janeiro:Elsevier, 2007. p.724-25. Reed E. Cisplatin and its Analogs. In: De Vita VT, Hellman, S, Rosenberg SA. *DeVita, Hellman and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. p.339. Rosenberg B, Van Camp L, Krigas T. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature.* 1965; 205(4972):698-9. Rosenberg B, Van Camp L, Trosko JE, Mansour VH. Platinum Compounds: a New Class of Potent Antitumor Agents. *Nature.* 1969; 222(5191):385-6. Rosenthal DI, Ang KK. Altered radiation therapy fractionation, chemoradiation, and patient selection for the treatment of head and neck squamous carcinoma. *Semin Radiat Oncol.* 2004; 14(2):153-66. Sai K, Saito Y, Itoda M, Fukushima-Uesaka H, Nishimaki-Mogami T, Ozawa S, et al. Genetic variations and haplotypes of ABC2 encoding MRP2 in a Japanese population. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 2008;23:139-47. Samimi G, Katano K, Holzer AK, Safaei R, Howell SB. Modulation of the cellular pharmacology of cisplatin and its analogs by the copper exporters ATP7A and ATP7B. *Mol Pharmacol.* 2004; 66(1):25-32. Santos NA, Catao CS, Martins NM, Curti C, Bianchi ML, Santos AC. Cisplatin-induced nephrotoxicity is associated with oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Arch Toxicol* 2007;81:495-504. Schrenk D, Baus PR, Ermel N, Klein C, Vorderstemann B, Kauffmann HM. Up-regulation of transporters of the MRP family by drugs and toxins. *Toxicol Lett.* 2001; 120(1-3):51-7. Scripture CD, Sparreboom A, Figg WD. Modulation of cytochrome P450 activity: implications for cancer therapy. *Lancet Oncol.* 2005; 6:780-9. Sharom FJ. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance. *Pharmacogenomics.* 2008;9(1):105-27. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2014;64:9-29. Sills, Mohanraj R, Butler E, McCrindle S, Collier L, Wilson EA, et al. Lack of association between the C3435T polymorphism in the human multidrug resistance (MDR1) gene and response to antiepileptic drug treatment. *Epilepsy.* 2005; 46:643-7. Smith HS, Taylor DM. Distribution and retention of the antitumor agent 195mPt-cis-dichlorodiammine platinum (II) in man. *J Nucl Med.* 1974;15(5):349-51. Stewart DJ, Benjamin RS, Luna M, Feun L, Caprioli R, Seifert W, et al. Human tissue distribution of platinum after cis-diamminedichloroplatinum. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1982; 10(1):51-4. Surowiak P, Materna V, Kaplenko I, Spaczynski M, Dietel M, Lage H, et al. Augmented expression of metallothionein and glutathione S-transferase pi as unfavourable prognostic factors in cisplatin-treated ovarian cancer patients. *Virchows Arch.* 2005; 447(3):626-33. Suzuki H, Sugiyama Y. Single nucleotide polymorphisms in multidrug resistance associated protein 2 (MRP2/ABCC2): its impact on drug disposition. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2002;54:1311-31. Suzuki H, Sugiyama Y. Transporters for bile acids and organic anions. In: *Membrane Transporters as Drug Targets*; 1999. pp. 387-439. Thompson Micromedex (banco de dados). Disponível em: [www.micromedex.com](http://www.micromedex.com). Acesso em 01/05/2017. Toyoda H, Mizushima T, Satoh M, Iizuka N, Nomoto A, Chiba H, et al. HeLa cell transformants overproducing mouse metallothionein show in vivo resistance to cis-platinum in nude mice. *Jpn J Cancer Res.* 2000; 91(1):91-8. Tsuji D, Yokoi M, Suzuki K, Daimon T, Nakao M, Ayuhara H et al. Influence of ABCB1 and ABCG2 polymorphisms on the antiemetic efficacy in patients with cancer receiving cisplatin-based chemotherapy: a TRIPLE pharmacogenomics study. *Pharmacogenomics J.* 2016. doi: 10.1038/tpj.2016.38. Tuan BT, Visacri MB, Amaral LS, Baldini D, Ferrari GB, Quintanilha JC, et al. Effects of High-Dose Cisplatin Chemotherapy and Conventional Radiotherapy on Urinary Oxidative and Nitrosative Stress Biomarkers in Patients with Head and Neck Cancer. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2016;118(1):83-6. U.S Department of Health and Human Services. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). U.S Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute, Version 4.0, 2010. Uematsu F, Kikuchi H, Motomiya M, Abe T, Sagami I, Ohmachi T, et al. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P45011E1 gene and susceptibility to lung cancer. *Jpn J Cancer Res.* 1991; 82:254-6. van Persijn van Meerten EL, Gelderblom H, Bloem JL. RECIST revised: implications for the radiologist. A review article on the modified RECIST guideline. *Eur Radiol.* 2010; 20(6):1456-67. Vasilioi V, Vasilioi K, Nebert DW. Human ATP-binding cassette (ABC) transporter family. *Human Genomics.* 2009;3(3):281-290. Verma PK, Raina R, Sultana M, Singh M, Kumar P. Total antioxidant status of plasma and renal tissue of cisplatin-induced nephrotoxic rats: protection by floral extracts of *Calendula officinalis* Linn. *Ren Fail.* 2015; 38(1):142-50. Wang A, Lai KN. Drug-induced renal diseases. *Adv Drug React Bull.* 1994; 168:635-8. Waseem M, Bhardwaj M, Tabassum H, Raisuddin S, Parvez S. Cisplatin hepatotoxicity mediated by mitochondrial stress. *Drug Chem Toxicol* 2015;13:1-8. Watanabe J, Hayashi S, Sawajiri K. Different regulation and expression of the human CYP2E1 gene due to the RsaI polymorphism in the 5'-flanking region. *J Biochem (Tokyo).* 1994; 116:321-6. Wolenski FS, Shah P, Sano T, Shinozawa T, Bernard H, Gallacher MJ, et al. Identification of microRNA biomarker candidates in urine and plasma from rats with kidney or liver damage. *J Appl Toxicol.* 2017; 37(3):278-86. Wolking S, Schaeffeler E, Lerche H, Schwab M, Nies AT. Impact of Genetic Polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature. *Clin Pharmacokinet.* 2015;54(7):709-35. Wolking S, Schaeffeler E, Lerche H, Schwab M, Nies AT. Impact of Genetic Polymorphisms of ABCB1 (MDR1, P-Glycoprotein) on Drug Disposition and Potential Clinical Implications: Update of the Literature *Clin Pharmacokinet.* 2015;54(7):709-35 Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci.* 2007; 334(2):115-24.

**Arquivo Anexos:**

Tipo	Arquivo
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pedro.docx
Brochura Pesquisa	Projeto_Pedro.docx
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Pedro.docx
Folha de Rosto	folhaderostopedro.pdf
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Pedro.pdf
Folha de Rosto	folhaderostopedro.pdf
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pedro.pdf
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio_Pedro.docx
Cronograma	Cronograma_Pedro.pdf
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Pedro.docx
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Pedro.docx
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio_Pedro.docx
Outros	vinculopatricia.pdf
Cronograma	Cronograma_Pedro.docx
Cronograma	Cronograma_Pedro.docx
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Biorrepositorio_Pedro.pdf
Outros	vinculopatricia.pdf
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1038962.pdf

**Finalizar**

Manter sigilo da integra do projeto de pesquisa: Sim

Prazo: Até a publicação dos resultados