

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA**



**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Avaliação dos Fatores de Risco de Câncer de Cavidade Oral e  
Laringe em Quatro Regiões Brasileiras**

Carmen V. Giacobbo Daudt

Orientador: Prof. Dr. Mary Clarisse Bozzetti

**Porto Alegre, dezembro de 2006.**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM EPIDEMIOLOGIA**



**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Avaliação dos Fatores de Risco de Câncer de Cavidade Oral e  
Laringe em Quatro Regiões Brasileiras**

Carmen V. Giacobbo Daudt

Orientador: Prof. Dr. Mary Clarisse Bozzetti

A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-graduação em Medicina: Epidemiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, Brasil.  
2006

**D238a** Daudt, Carmen Vera Giacobbo

Avaliação dos fatores de risco de câncer de cavidade oral e laringe em quatro regiões brasileiras / Carmen Vera Giacobbo Daudt ; orient.. Mary Clarisse Bozzetti. – 2006.

218 f. .

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação Medicina: Epidemiologia. Porto Alegre, BR-RS, 2006.

1. Neoplasias bucais 2. Neoplasias laríngicas 3.

Fatores de risco 4. Epidemiologia 5. Brasil I. Bozzetti,

Mary Clarisse II. Título.

NLM: WV 190

Catálogo Biblioteca FAMED/HCPA

## **BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dra. Maria Inês Reinert Azambuja – Doutora em Clínica Médica pela UFRGS. Professora adjunta do Departamento de Medicina Social, FAMED/ UFRGS.

Prof. Dr. Sotero Serrate Mengue – Doutor em Ciências Farmacêuticas. Professor do Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia, FAMED/ UFRGS.

Dra. Alice de Medeiros Zelmanowicz – Doutora em Epidemiologia pela UFRGS.

**Ao querido Alex, meu marido, por ser o melhor exemplo pessoal e profissional que eu poderia pensar em ter. Pelo carinho, companheirismo, pela confiança e compreensão incondicional sempre presente e, principalmente, por fazer a minha vida tão completa e feliz.**

**Ao Cristiano, por ter tornado todos os meus dias felizes, ensolarados e coloridos.**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos pacientes, estímulo constante para que eu queira sempre ser uma profissional de qualidade e um ser humano melhor.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela sua qualidade inquestionável e por toda a formação que tem me proporcionado desde a graduação. Ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da UFRGS pela honra e pela oportunidade fazer parte desse grupo.

À minha orientadora, Professora Mary Clarisse Bozzetti, pela compreensão, competência e confiança para a realização do trabalho. À Professora Maria Inês Azambuja, pelo exemplo de competência, pela postura impecável durante as críticas, sempre construtivas, nos seminários de pesquisa e pelas contribuições no presente trabalho. Ao Professor Sotero Serrate Mengue, pelo apoio, cobranças necessárias e orientações durante todo o período do mestrado e, principalmente, por ter me dado a honra de participar da minha banca. Ao colega Mathias Bressel, pela paciência e ajuda nas análises estatísticas.

À minha família Giacobbo, presente em todos os momentos da minha vida. Agradeço especialmente à Renata, Maria Luisa, Jussara e mãe Maria Célia, pela amizade e pelo apoio com o Cristiano em qualquer situação. Ao meu pai Francisco por continuar achando que eu vou sempre me sair bem. À querida Alicia, minha amiga, de quem tenho a imensa honra de ser boadrasta, e que me ajudou muito na revisão final do artigo.

Às minhas queridíssimas residentes do Centro de Saúde Escola Murialdo, com as quais eu aprendo muito todos os dias. À Dra. Maria Eugênia Bresolin Pinto e à Dra. Maria Amélia Mano pelos ensinamentos, pela confiança, pela amizade e por me fazerem ter muito orgulho de ser Médica de Família e Comunidade. À Ana Cristina Vidor, minha amiga, por ter me levado pela primeira vez ao PPG, pela amizade e pelo estímulo desde o começo dessa jornada.

## SUMÁRIO

Abreviaturas e Siglas.....	8
Resumo.....	9
Abstract.....	11
Lista de Tabelas.....	13
1. APRESENTAÇÃO.....	15
2. INTRODUÇÃO.....	16
3. REVISÃO DA LITERATURA	
1. Câncer de Cavidade Oral	
1.1. Epidemiologia.....	17
1.2. Fatores de risco.....	18
1.3. Prevenção.....	38
1.4. Diagnóstico.....	39
1.5. Estadiamento.....	41
1.6. Tratamento.....	41
1.7. Prognóstico.....	42
2. Câncer de Laringe	
2.1. Epidemiologia.....	43
2.2. Fatores de risco.....	45
2.3. Diagnóstico.....	58
2.4. Estadiamento.....	59
2.5. Tratamento.....	59
2.6. Prognóstico.....	59
4. JUSTIFICATIVA.....	61

5. OBJETIVOS.....	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
7. ARTIGO	
Abstract.....	74
Introdução.....	75
Metodologia.....	76
Resultados.....	79
Discussão.....	82
Tabelas.....	87
Referências bibliográficas.....	106
8. RESUMO DO ARTIGO.....	110
9. CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	112
10. ANEXOS	
Projeto de Pesquisa	
Aprovação pelo Comitê da Ética e Pesquisa	
Questionários / Formulários	



## **ABREVIATURAS E SIGLAS**

CYP2E - Citocromo P 450 2E1

GST - glutathione S-transferase

HPV – papilomavírus humano

IARC – International Agency for Research on Câncer.

IC – intervalo de confiança

INCA – Instituto Nacional do Câncer

OR – *odds ratio*

## RESUMO

Câncer de cabeça e pescoço é um importante problema de saúde pública. Em países em desenvolvimento representa a quinta causa mais freqüente de câncer em homens e a sétima mais freqüente em mulheres. O sul do Brasil, Argentina e Uruguai possuem a incidência mais alta de câncer de cabeça e pescoço da América Latina.

O objetivo do estudo foi avaliar o papel dos fatores de risco de câncer de cavidade oral e laringe nas populações do estudo. Nosso estudo foi um caso-controle de base hospitalar e foi conduzido de 1998 a 2003 em Pelotas (142 casos e 243 controles), Porto Alegre (200 casos e 165 controles), São Paulo (514 casos e 483 controles), Rio de Janeiro (443 casos e 251 controles) e Goiania (398 casos e 267 controles). Foi coordenado pela *International Agency for Research on Cancer* (IARC). Cada um dos centros participantes recrutou casos novos de câncer de cavidade oral e de laringe e um grupo de controles clínicos para comparação. Casos e controles foram entrevistados a respeito de sua história de exposição a fatores ambientais e de estilo de vida. Os dados foram analisados separadamente para cada centro, exceto Pelotas e Porto Alegre que foram analisados em conjunto. No presente trabalho, serão apresentados os dados da análise de todos os centros do Brasil conjuntamente.

Câncer de cavidade oral e laringe foi fortemente associado com tabagismo em nossas análises. Identificou-se uma relação de dose-resposta entre o número de cigarros-ano e o risco de câncer. Um aumento significativo no risco de câncer de cavidade oral e de laringe relacionado ao consumo de álcool também foi identificado no Brasil e em todos os centros

separadamente. Da mesma forma, a quantidade de álcool (drinques-ano) foi diretamente associada com um aumento significativo no risco de câncer, comparado com não bebedores, em todas as análises.

Em relação aos indicadores de saúde oral, a higiene oral precária apareceu como um fator de risco significativo para câncer de cavidade oral e laringe em nossas análises. Já a frequência na escovação dos dentes, o uso de prótese dentária e o sangramento gengival não foram associados com o risco de desenvolvimento destes tipos de câncer.

O consumo de mate foi associado com risco de câncer de cavidade oral e de laringe apenas em Porto Alegre . O tempo de consumo e a temperatura do mate não foram significativos em nossas análises. Em nosso estudo, não foi encontrada associação entre a infecção pelo HPV e o risco destes tipos de câncer.

## **ABSTRACT**

Head and neck cancer constitute an important public health problem. In developing countries, they represent the fifth most frequent types of cancer in males and the seventh most frequent in females. The Southern of Brazil, Argentina and Uruguai report the highest incidence of head and neck cancer in Latin America.

The objective of the study was to assess the role of risk factors for oral and laryngeal cancer in the study populations. The study had a hospital-based case-control design and was conducted from 1998 through 2003 in Pelotas (142 case patients and 243 control subjects), Porto Alegre (200 case patients and 165 control subjects), São Paulo (514 case patients and 483 control subjects), Rio de Janeiro (443 case patients and 251 control subjects) and Goiania (398 case patients and 267 control subjects). It was coordinated by the Units of Environmental Cancer Epidemiology and of Field and Intervention Studies of IARC (International Agency for Research on Cancer). Each centre recruited newly diagnosed cases of oral and laryngeal cancer and a comparable group of controls. Cases and controls were interviewed with respect to their history of exposure to lifestyle and environmental factors. The data was analysed together and separately for each centre, except for Pelotas and Porto Alegre.

Laryngeal and oral cancer were strongly associated to cigarette smoking in our analysis. A dose-response relationship between pack-years of cigarette smoked, was identified. A significant increase in risk of laryngeal and oral cancer related to alcohol drinking was observed in all centres and in Brazil. Similarly, lifetime exposure of alcohol drinking was directly associated

with significant increase in risk of laryngeal and oral cancer, compared with non-drinkers, in all analysis.

Poor oral hygiene was a significant risk factor for oral and laryngeal cancer in our analysis. Toothbrushing frequency, to wear denture and gum bleeding were not associated with laryngeal and oral cancer.

Mate drinking was associated to laryngeal and oral cavity cancer risk only in Porto Alegre. No association was found between HPV infection and laryngeal and oral cancer in Brazil (data not shown).

## LISTA DE TABELAS

**TABELA 1** – Distribuição de casos e controles de acordo com variáveis sócio-demográficas no Brasil.

**TABELA 2** – Análise univariada do risco do consumo de fumo e álcool no câncer de cavidade oral e laringe no Brasil.

**TABELA 3** - Análise univariada dos hábitos de fumo e álcool. no câncer de cavidade oral e de laringe no Brasil.

**TABELA 4** - Análise univariada dos dados referentes à saúde bucal em casos de câncer oral e de laringe e controles no Brasil.

**TABELA 5** - Análise multivariada dos fatores de risco de câncer de cavidade oral e de laringe, de acordo com o sexo, no Brasil.

**TABELA 6** - Análise multivariada dos fatores de risco de câncer de cavidade oral e de laringe no Brasil.

**TABELA 7** - Análise da interação entre fumo e álcool no risco de câncer de cavidade oral e de laringe no Brasil.

**TABELA 8** – Distribuição de casos e controles de acordo com variáveis sócio-demográficas nas quatro capitais brasileiras.

**TABELA 9** - Análise univariada do risco de consumo de fumo e álcool no câncer de cavidade oral e de laringe em casos e controles nas quatro capitais brasileiras.

**TABELA 10** – Análise multivariada dos fatores de risco de câncer de cavidade oral e de laringe em casos e controles nas quatro capitais brasileiras.

**TABELA 11** – Análise univariada do risco do consumo de fumo e álcool no câncer de cavidade oral e laringe no Brasil.

**TABELA 12** - Análise univariada dos dados referentes à saúde bucal em casos de câncer oral e controles no Brasil.

**TABELA 13** - Análise multivariada dos fatores de risco de câncer de cavidade oral e de laringe no Brasil.

**TABELA 14** - Análise univariada do risco do consumo de fumo e álcool no câncer de cavidade oral e laringe, no sexo masculino, no Brasil.

**TABELA 15** - Análise univariada do risco do consumo de fumo e álcool no câncer de cavidade oral e laringe, no sexo feminino, no Brasil.

**TABELA 16** - Análise univariada do risco do consumo de fumo e álcool no câncer de cavidade oral e laringe, no sexo masculino, nas quatro capitais brasilleiras.

**TABELA 17** - Análise univariada do risco do consumo de fumo e álcool no câncer de cavidade oral e laringe, no sexo masculino, nas quatro capitais brasilleiras.

**TABELA 18** - Análise multivariada dos fatores de risco de câncer de cavidade oral e de laringe, no sexo feminino, nas quatro capitais brasilleiras.

**TABELA 19** - Análise multivariada dos fatores de risco de câncer de cavidade oral e de laringe, no sexo masculino, nas quatro capitais brasilleiras.

**TABELA 20** - Análise univariada dos dados referentes à saúde bucal em casos e controles, nas quatro capitais brasileiras.

**TABELA 21** - Análise univariada do risco de consumo de mate em casos e controles, nas quatro capitais brasileiras.

## **APRESENTAÇÃO**

Este trabalho consiste na dissertação de mestrado intitulada “Avaliação dos Fatores de Risco de Câncer de Cavidade Oral e Laringe em Quatro Capitais Brasileiras”, apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

O trabalho é apresentado em três partes, na ordem que segue:

1. Introdução, Revisão da Literatura e Objetivos.
2. Artigo
3. Conclusões e Considerações Finais.

Documentos de apoio, incluindo o Projeto de Pesquisa, estão apresentados nos anexos.



## **INTRODUÇÃO**

O câncer de cavidade oral, faringe e laringe representam um relevante problema de saúde pública, particularmente nos países em desenvolvimento, devido a sua alta incidência, mortalidade e letalidade. Correspondem a mais de 90% das neoplasias de cabeça e pescoço (Pisani, 2002).

Mundialmente, a incidência do câncer de cabeça e pescoço é de 600.000 casos novos ao ano, no sexo masculino, o que corresponde a 15% de todas as neoplasias neste grupo. Afeta ambos os sexos e todas as raças, predominando no sexo masculino, em pessoas de raça negra e em asiáticos (American Cancer Society, 2002).

O sul do Brasil, Uruguai e Argentina apresentam as incidências mais altas de neoplasias de cabeça e pescoço na América Latina (Parkin, 2002).

O prognóstico do câncer de cabeça e pescoço não tem melhorado significativamente nas últimas duas décadas, apesar de uma melhor compreensão da biologia dos tumores invasivos, avanços nas técnicas cirúrgicas e aumento das terapias combinadas. A associação do câncer de cabeça e pescoço com morbidade clinicamente significativa e mutilação tornam de grande importância a detecção precoce e o conhecimento dos fatores que identifiquem os indivíduos de alto risco.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

### **1. CÂNCER DE CAVIDADE ORAL**

#### **1.1. EPIDEMIOLOGIA**

A estimativa de incidência do câncer de cavidade oral para 2005, no mundo, foi de 200.000 casos novos entre os homens e 104.000 entre as mulheres, com 160.000 e 68.000 óbitos, respectivamente (Ferlay, 2001).

Mundialmente, o câncer de cavidade oral tem diminuído, de forma significativa nos últimos 20 anos, em homens brancos, mulheres negras e em mulheres brancas com menos de 65 anos de idade (Silverman, 2001).

Por outro lado, as taxas de incidência e mortalidade têm aumentado em homens de raça negra. É uma das principais localizações anatômicas de câncer, estando, em todo o mundo, entre as dez neoplasias mais prevalentes (Ferlay, 1998).

Em regiões da Índia e no sudeste asiático, o câncer de cavidade oral é o câncer mais incidente entre homens e o terceiro entre as mulheres, associado principalmente ao hábito de mascar *betel* e tabaco (Blot, 1996 e Sankaranarayanan, 1989).

No Brasil, em 2006, estima-se que ocorram 13.470 casos novos de câncer de cavidade oral, sendo 10.060 casos no sexo masculino e 3.410 no sexo feminino (INCA, 2006).

No RS, estimam-se 1.020 casos novos de câncer de cavidade oral para o ano de 2006. A estimativa das taxas brutas de incidência, para este período, é de 14,89 casos /100.000 habitantes nos homens e 3,93 casos/100.000 habitantes nas mulheres (INCA, 2006).

Em Porto Alegre, a estimativa de incidência de 2006 para o câncer de cavidade oral é de 160 casos novos (INCA, 2006).

## **1.2. FATORES DE RISCO**

O câncer de cavidade oral é uma doença largamente atribuída a exposições ambientais.

Os principais agentes etiológicos envolvidos são o tabaco (fumado ou mascado) e o uso de álcool, com efeito sinérgico já demonstrado e uma fração atribuível próxima a 90% (Herrero, 2003). Porém, sabe-se que apenas uma pequena parcela de fumantes e usuários de álcool desenvolvem câncer, sugerindo a presença de co-fatores que podem incluir o HPV ou ainda outros agentes infecciosos. Dieta precária em certos nutrientes e alguns aspectos da higiene oral são descritos como prováveis co-fatores (Herrero, 2003). Além disso, a relevância das exposições ocupacionais na etiologia do câncer de cavidade oral vem sendo cada vez mais estudada, apesar de ainda não estar claramente estabelecida.

### **1.2.1. Uso de Tabaco**

Tabagismo e álcool permanecem sendo os dois maiores fatores de risco para este tipo de câncer (Gillison, 2000). Embora ambas as exposições sejam

altamente correlacionadas, seus papéis individuais parecem ser também independentes.

Em estudo caso-controle conduzido nos Estados Unidos, houve aumento no risco de desenvolver câncer de cavidade oral entre fumantes que não usavam álcool e entre usuários de álcool que não fumavam. Além disso, observou-se que a combinação de ambas as exposições foi associada com aumento do risco de desenvolver o câncer, o que sugeriu uma interação múltipla (Blot, 1988).

Em estudo caso-controle de base hospitalar, multicêntrico, realizado em São Paulo, Curitiba e Goiânia, foi investigada a associação entre câncer de cavidade oral e variáveis demográficas, tabagismo, consumo de álcool, dieta, hábitos de higiene, exposições ocupacionais, ambientais e domésticas. Na análise do consumo de tabaco foi observado aumento no risco para o desenvolvimento de câncer oral, particularmente entre uso de cachimbo, e câncer de língua (OR: 27,5; IC 95%: 3,0-256,0). Os autores também identificaram que, após 10 anos de cessação do tabagismo, o risco se equivale aquele observado entre os que nunca fumaram cigarros. Este estudo mostrou que o efeito combinado do álcool e do tabaco é maior do que a soma dos seus efeitos independentes (Franco, 1989).

Foi conduzido na Itália, um estudo caso-controle para investigar a associação entre câncer de cavidade oral, faringe, laringe e esôfago e hábitos de fumo e álcool. Em relação ao hábito de fumar foi demonstrado aumento de risco para câncer de cavidade oral em fumantes (OR:11,1; IC 95%: 3,4-

44,8) ajustados para idade, residência, escolaridade, ocupação e consumo de álcool. Em relação aos ex-fumantes, que cessaram o fumo por mais de 10 anos foi observado um risco próximo da unidade (OR:1,1; IC 95%: 0,3-5,1), ajustado por idade, residência, educação, ocupação e consumo de álcool (Franceschi, 1990).

Foi realizado estudo caso-controle em hospital de veteranos de *New Jersey*, Estados Unidos, no período de 1972 a 1983, para avaliar os efeitos carcinogênicos independentes do tabaco e do álcool e suas interações em uma população de usuários pesados destas substâncias. No total, 359 casos de câncer de cavidade oral e orofaringe e 2280 controles foram entrevistados a respeito de hábitos de fumo, uso de bebida alcoólica, café e chá, raça, origem familiar, religião e ocupação. Foram demonstrados aumento do risco com níveis acima de 35 cigarros por dia (OR: 4,0; IC 95%: 2,1-8,2) ajustados por idade, raça e uso de álcool, e um aumento dose-resposta à medida que aumentava o consumo do tabaco. Também foi evidenciado o aumento do risco com o consumo de mais de 21 unidades de uísque por dia (OR: 7,1; IC 95%: 4,1-12,2) ajustado por idade, raça e fumo. Não houve aumento do risco com nenhuma das outras exposições investigadas. Foi identificado um efeito protetor com a cessação do fumo, porém o número de ex-fumantes era pequeno, impedindo uma avaliação mais profunda deste achado. Os autores concluíram que fumo e álcool estavam associados à maioria dos casos de câncer de cavidade oral na população de veteranos americanos (Mashberg, 1993).

Estudo caso-controle foi realizado em três hospitais de Madri, com o objetivo de avaliar a associação entre tabaco, álcool e higiene oral. Setenta e cinco casos e 150 controles foram entrevistados em relação à exposição ao tabaco, exposição ao álcool e hábitos de higiene oral. Os resultados mostraram que o risco associado com o consumo de cigarro cresceu com o aumento do consumo. Foi observado um efeito dose-resposta. O *odds ratio* para o consumo de 6-20 cigarros ao dia foi de 3,1 (IC 95%: 1,4-6,7) e para mais de 20 cigarros ao dia foi de 7,96 (IC 95%: 3,29-19,26). Os investigadores concluíram que a maioria dos casos de câncer oral estavam relacionados ao consumo de tabaco e de álcool e identificaram que apenas 8 pacientes não estavam expostos a esses fatores (Moreno - López, 2000).

### **1.2.2. Uso de Álcool**

Uma relação causal entre o consumo de álcool e câncer de cavidade oral vem sendo relatada desde a década de 50, enquanto um efeito sinérgico entre uso de álcool e fumo foi demonstrado já nos anos 70 (IARC, 1988). O efeito carcinogênico do álcool independente do tabaco, isto é, um aumento do risco em não-fumantes, foi primeiramente reportado em 1961 e vem sendo confirmado desde então (Boffetta, 2006).

Vários mecanismos patogênicos vêm sendo sugeridos para explicar o aumento do risco de desenvolvimento de câncer de cavidade oral devido ao consumo elevado de álcool (Figuro-Ruiz, 2004). Na primeira hipótese, o álcool atuaria como um solvente, facilitando a passagem dos carcinógenos através da membrana celular. Na segunda, o consumo de etanol aumentaria a atividade do metabolismo hepático, podendo, portanto, ativar substâncias

carcinogênicas. Além disso, o etanol pode alterar o metabolismo das células epiteliais no sítio alvo. Esse prejuízo da função celular pode ser agravado pela coexistência de deficiências nutricionais (incluindo vitamina C, niacina, riboflavina, ferro). Finalmente, a concentração de etanol atingida pode causar irritação local (La Vecchia et al, 1997).

Estudos com análise por tipo de bebida alcoólica não têm mostrado resultados consistentes (Brennan, 2004). Em geral, a bebida associada com maior risco é aquela mais comumente consumida em cada estudo, o que poderia ser resultado de poder inadequado para avaliar as bebidas menos comumente utilizadas, sub-relatos ou classificação equivocada do consumo. Até o momento, as tentativas de estimar o efeito de bebidas específicas têm indicado que todas estas contribuem para o risco de câncer proporcionalmente ao seu conteúdo alcoólico (La Vecchia et al, 1997).

De 1986 a 1989, foi realizado estudo caso-controle de base hospitalar em São Paulo, Curitiba e Goiânia, com 784 casos de câncer de cavidade oral, faringe e laringe e 1578 controles, que foram entrevistados sobre hábitos de fumo e álcool. Os indivíduos que nunca fumaram, mas eram bebedores pesados apresentaram maior risco de desenvolver câncer (OR: 9,2; IC 95%: 1,7-48,5), ajustado por raça, temperatura da bebida, religião, uso de fogão à lenha e dieta apimentada, em comparação com aqueles que nunca beberam. Foi evidenciado um efeito dose-resposta em relação ao consumo de álcool. Em relação à localização do tumor, identificou-se aumento de risco de câncer de língua nas categorias de maior consumo de álcool em fumantes (OR: 22,3; IC 95%: 5,4-92,4) e não-fumantes (OR: 3,8; IC 95%: 0,7-20,4). A hipótese

levantada foi que o álcool possa atuar como promotor (com a exposição ao tabaco) ou como fator de risco isolado para o desenvolvimento de câncer de cavidade oral (Schlecht, 1999).

Na Itália, foi conduzido um estudo caso-controle para investigar a associação entre câncer de cavidade oral, faringe, laringe e esôfago e hábitos de fumo e álcool. Em relação ao hábito de beber, os bebedores de mais de 60 doses por semana apresentaram um risco maior do que os bebedores de menos de 19 doses por semana (OR: 3,4; IC 95%: 1,7-7,1), ajustado por idade, residência, educação, ocupação e hábito de fumo (Franceschi, 1990).

Estudo caso-controle de base hospitalar foi realizado em Madri, investigando a associação entre tabaco, álcool e câncer de cavidade oral. Setenta e cinco casos e 150 controles foram entrevistados quanto a esta exposição e os resultados demonstraram um elevado risco de câncer oral em consumidores de álcool. Este risco foi significativo com o consumo de mais de 50g de álcool por dia (OR: 5,3; IC 95%: 1,95-14,43). Como na amostra do estudo 50% dos pacientes bebiam regularmente, foi considerado o consumo de até 50g diárias como consumo social, não permitindo significância estatística para doses menores no estudo (Moreno - López, 2000).

Estudo caso-controle de base hospitalar foi conduzido na Itália e na Suíça, com 544 casos de câncer de cavidade oral e de faringe e 1775 controles, para investigar a associação desses tipos de câncer com hábitos de fumo e álcool. Foi observado um maior risco para os indivíduos que bebiam mais de 90 drinques por semana comparado aos que nunca beberam (OR:



11,64; IC 95%: 6,3-21,5). Também foi observado um efeito dose-resposta quando analisados bebedores atuais, porém o mesmo não ocorreu em relação à ex-bebedores. O risco estimado para ex-bebedores diminuiu no grupo com 10 ou mais anos de cessação (OR:1,9; IC 95%: 1,0-3,8), ajustado por idade, sexo, raça, centro do estudo, entrevistador, educação, tabagismo, consumo de drinques e quantidade de drinques por semana. Os autores sugeriram que o álcool possa atuar em mais de um estágio da carcinogênese, já que houve a permanência de risco elevado mesmo após vários anos de cessação do hábito de beber (Franceschi, 2000).

Estudo conduzido no Rio de Janeiro identificou uma freqüência de consumo de álcool de 59,3% entre pacientes com câncer de cavidade oral e destes 69,1% preferiam o consumo de bebidas destiladas. A relação entre consumo de álcool e câncer oral também foi investigada em São Paulo, Curitiba e Goiânia, revelando um risco importante naqueles pacientes bebedores de grandes doses diárias de cachaça (OR:17,5; IC 95%: 1,7-18,0). Em Salvador foi encontrada associação entre consumo de cachaça e câncer de cavidade oral e faringe (OR: 7,3; IC 95%: 4,5-23,1) (Wünsch Filho, 2002).

Evidências sugerem diferença na carcinogenicidade do álcool conforme o sítio da cabeça e pescoço, mostrando um maior risco de desenvolvimento de câncer em sítios anatômicos com contato direto com o álcool, como língua e hipofaringe (Boffetta, 2006).

### **1.2.3. Hábitos Alimentares**

A associação entre dieta e câncer oral vem sendo sugerida há muito tempo. Em estudo caso-controle de base hospitalar, conduzido na Itália, com 105 casos de câncer de cavidade oral e orofaringe e 1169 controles, foi observado efeito protetor estatisticamente significativo para o consumo freqüente de frutas (OR: 0,3; IC 95%: 0,1-0,9). A conclusão dos autores foi que o consumo de frutas pode ser um importante fator de proteção para estes tipos de câncer, com potenciais implicações preventivas (La Vecchia, 1991).

Outro estudo caso-controle multicêntrico, de base hospitalar, foi realizado na Itália e na Suíça, com objetivo de avaliar a associação de câncer de cavidade oral e faringe com vários fatores de risco, entre eles hábitos da dieta. Foi observado efeito protetor associado ao alto consumo de vegetais verdes (OR: 0,25; IC 95%: 0,15- 0,44), de frutas frescas (OR: 0,58; IC 95%: 0,37- 0,89) e beta-caroteno (OR: 0,54; IC 95%: 0,34- 0,86) (Bosetti, 2000).

A relação entre micronutrientes e câncer de cavidade oral e faringe também foi estudada através de um estudo caso-controle de base hospitalar (754 casos de câncer de cavidade oral e faringe e 1775 controles) conduzido na Suíça e na Itália no período de 1992 a 1997. Observou-se uma associação inversa entre o desenvolvimento destes tipos de câncer e determinados micronutrientes. Os OR foram ajustados pela idade, sexo centro do estudo, instrução, ocupação, índice de massa corporal, hábitos de fumo e álcool e energia não-alcoólica. Foi observado efeito protetor com caroteno, vitamina C e E, tiamina, vitamina B6, ácido fólico, niacina, potássio e ferro. Quando a

ingesta combinada de vitamina C, E e caroteno foi considerada, o efeito protetor de cada nutriente ficou mais evidente ou então restrita aos sujeitos com baixa ingestão dos outros dois nutrientes. A associação protetora encontrada com vitamina C e caroteno foi independente dos hábitos de fumo e álcool, enquanto com vitamina E foi menos evidente naqueles usuários pesados de fumo e álcool (Negri, 2000).

Diversos outros estudos têm implicado a falta de vitaminas e baixo consumo de frutas e vegetais como fator de risco para o desenvolvimento de câncer de cavidade oral e orofaringe. A deficiência de folato também tem sido associada ao desenvolvimento desses tipos de câncer, o que pode, pelo menos parcialmente, ser devido ao baixo consumo de frutas e vegetais, que são as principais fontes deste nutriente e são inversamente relacionadas ao risco de câncer (Weinstein, 2002; La Vecchia, 1999 e Negri, 2002).

Contudo, em estudo caso-controle realizado em 2002, o ajuste em relação ao consumo de frutas e vegetais reduziu apenas discretamente a associação inversa entre folato e o risco de câncer, que permaneceu significativa (OR: 0,66, 95% IC: 0,49 a 0,89). A possibilidade de que outros micronutrientes, particularmente os contidos em frutas e vegetais, possam ser responsáveis pelo efeito protetor observado não pode ser excluída (Negri, 2002). Vale lembrar que o alto consumo de álcool também é responsável por diminuir a absorção e aumentar a necessidade de folato no organismo (Romero, 1981).

Em três estudos de caso-controle (Estados Unidos, América Central e América Latina) não foi observada associação entre deficiência de folato e risco de câncer de cavidade oral e orofaringe (Weinstein, 2002; McLaughlin, 1988 e de Stefani, 1999). Porém, um estudo realizado na Itália observou uma diminuição significativa nos níveis de folato sérico em pacientes com câncer de cabeça e pescoço, quando comparados com controles fumantes e não-fumantes (Almadori, 2002).

Em estudos epidemiológicos prévios, encontrou-se um efeito protetor da ordem de 50% nos quartis mais altos quando comparados aos mais baixos de ingestão de vários tipos de vegetais, especialmente vegetais crus (como cenoura, tomate e saladas verdes) e frutas (como as cítricas) (McLaughlin, 1988 e Franceschi, 1995).

Em 2003, estudo caso-controle multicêntrico, realizado na Espanha, demonstrou que a alta ingestão de vegetais e frutas teria um efeito protetor para o desenvolvimento de câncer de cavidade oral e de orofaringe, particularmente em indivíduos fumantes e usuários pesados de álcool (Sanchez, 2003).

Em artigo de revisão, que avaliou 35 estudos epidemiológicos, também foram encontradas evidências que reforçam a hipótese de um papel preventivo deste tipo de dieta no desenvolvimento de câncer de cavidade oral e de faringe (Chainani, 2002).

#### **1.2.4. Hábitos de Higiene Oral**

Acredita-se que a higiene oral precária é um fator de risco para tumores de cabeça e pescoço, especialmente câncer de cavidade oral. Foi realizado um estudo caso-controle com 100 pacientes com diagnóstico de carcinoma epidermóide do trato aerodigestivo superior e 214 controles. A higiene oral e o estado dos dentes foram significativamente pior nos casos. As maiorias dos pacientes com tumor raramente ou nunca escovavam os dentes e a frequência de visitas ao dentista foi significativamente menor. No grupo dos casos, a incidência de deterioração dos dentes foi significativamente maior do que no grupo de controles. Inflamação crônica da gengiva foi observada em 28% dos casos e 13,5% dos controles. A higiene oral foi positivamente relacionada com o consumo de álcool e tabaco. Este estudo mostrou uma higiene oral precária e um estado dental pobre nos pacientes com câncer de cabeça e pescoço (Maier, 1993).

Em estudo retrospectivo foi investigada a associação entre anti-sépticos orais e câncer de cavidade oral. O uso diário de anti-sépticos orais mostrou um excesso de risco em mulheres, mas não em homens. A análise mostrou resultados inconsistentes em relação à duração e frequência no uso de anti-sépticos, além da possibilidade de confundimento pelo uso de álcool e tabaco. Não foi possível atribuir significância causal na associação entre uso diário de anti-séptico e câncer de cavidade oral (Winder, 1983).

Com o objetivo de avaliar a associação entre uso de anti-sépticos e câncer de cavidade oral, Elmore e colaboradores identificaram, através de busca no MEDLINE, estudos publicados em língua inglesa, no período de

1976 a 1994. Foram utilizados critérios metodológicos que definissem estudos caso-controle de aceitável qualidade metodológica. Os 7 estudos identificados foram revisados independentemente e critérios específicos foram aplicados para acessar questões referentes ao desenho, análise e resultados dos estudos. Os *odds ratios* dos 7 estudos variaram de um efeito protetor (OR: 0,82 para qualquer situação de uso de anti-séptico) até uma elevação no risco (OR: 2,5 para a exposição mais intensa). Dois dos estudos tiveram *odds ratios* não ajustados significativos para risco de câncer oral. Dos 3 estudos com dados sobre mulheres, ajustados para uso de álcool e tabaco, 1 foi estatisticamente significativo e nenhum dos 3 foi significativo em homens. Os 5 estudos com dados sobre mulheres não-fumantes, não-bebedoras, ou ambos, tiveram *odds ratios* variando de 1,1 a 3,16 (apenas 1 deles estatisticamente significativo). Os 4 estudos com dados semelhantes em homens não tiveram significância estatística. Os investigadores concluíram que uma revisão metodológica rigorosa e a análise de evidências disponíveis não sustentam a evidência de uma associação causal entre o uso de anti-sépticos orais e o câncer de cavidade oral (Elmore, 1995).

Foi realizado um estudo caso-controle de base hospitalar na China com 404 casos e 404 controles pareados. Os pacientes, além de serem entrevistados com perguntas referentes à saúde bucal, foram submetidos a exame padronizado da cavidade oral, a qual foi examinada por profissional treinado. Depois de ajustada para consumo de álcool e tabaco, a análise identificou a dentição precária (refletida pelo número de dentes perdidos) como um forte fator para câncer oral. O *odds ratio* para os pacientes com perda entre 15-32 dentes comparados com os que não haviam perdido

nenhum foi de 5,3 para homens e 7,3 para mulheres, tendo sido estatisticamente significativo em ambos os gêneros. Os pacientes que relataram não escovarem os dentes, também tiveram aumento do risco (OR: 6,9 para homens e 2,5 para mulheres, ambos estatisticamente significativo). Pessoas com leucoplasia e líquen plano também apresentaram um risco elevado de câncer oral entre homens e mulheres, comparados com aqueles que não apresentavam lesões na mucosa oral ao exame. O uso de prótese dentária não aumentou o risco de câncer oral, mas o uso de próteses dentárias com material metálico aumentou o risco (OR: 5,5 para homens). Os achados mostraram associação entre higiene oral precária e outras condições de saúde oral são fatores de risco para o desenvolvimento de câncer oral, independente da associação com fatores de risco estabelecidos como uso de álcool e tabaco (Zheng, 1990).

Foi investigada a relação entre variáveis de saúde dental e risco de câncer do trato aerodigestivo superior em estudo de caso-controle realizado no sul do Brasil, com 717 casos de câncer de cavidade oral, faringe e laringe e 1434 controles. O tempo de uso de prótese dentária não se mostrou associado com nenhum destes tipos de câncer, mas a história de lesões orais secundárias à má colocação de próteses se mostrou associada com câncer de boca (OR: 2,3; IC 95%: 1,2-4,6) e de faringe (OR: 2,7; IC 95%: 1,1-6,2) entre os usuários de prótese dentária. Uma frequência de escovação dentária menor do que uma vez ao dia também foi associada com risco de câncer de língua (OR: 2,1; IC 95%: 1,0-4,3) e outras partes da cavidade oral (OR: 2,4; IC 95%: 1,0-5,4). Dentes quebrados não foram associados com nenhum dos tipos de câncer. Os investigadores concluíram que higiene oral precária

devido à escovação infreqüente e lesões devido ao uso de prótese são fatores de risco para câncer de cavidade oral e que é pouco provável que os achados se devam a um número insuficientes de controles ou algum fator de confusão (Velly, 1998).

Foi conduzido estudo caso-controle em três hospitais de Madri, com 75 casos de câncer oral e 150 controles, para avaliar a associação de câncer oral com hábitos de fumo, álcool e higiene oral. Visita regular ao dentista foi identificada como fator protetor (OR: 0,63; IC 95%: 0,14-2,88), embora não tenha sido encontrada significância estatística. Por outro lado, a escovação dental diária foi identificada como fator protetor e, nesse caso, houve significância estatística (OR 0,31; IC 95%: 0,18-0,56). Os investigadores concluíram que a escovação diária dos dentes é um fator protetor contra o risco de câncer oral. Este risco cresce com o aumento do uso de tabaco e álcool (Moreno - López, 2000).

Dois estudos brasileiros revelaram risco excessivo de câncer oral entre pessoas com dentição precária, escovação dental infreqüente, próteses dentárias mal ajustadas, uso de anti-sépticos e consulta infreqüente ao dentista (Reis, 1997; Franco, 1989). Vale ressaltar que no Brasil 22,2% da população não tem acesso a suprimento de água e 37,8% não tem saneamento básico (Wünsch Filho, 2002).

#### **1.2.5. Papilomavírus Humano (HPV)**

Nos últimos 15 anos, o papilomavírus humano (HPV), um fator necessário ao desenvolvimento do câncer cervical, vem sendo associado



etiologicamente com o câncer de cavidade oral e orofaringe, principalmente com o carcinoma epidermóide (Kreimer, 2005). Poucos estudos têm examinado outros tipos histológicos, possivelmente porque a maioria dos tumores de cabeça e pescoço são carcinomas epidermóides (95%) ou por acreditarem que apenas este tipo histológico esteja associado ao HPV.

Existe falta de conhecimento sobre a prevalência, determinantes e história natural da infecção pelo HPV no epitélio da cavidade oral e da faringe. Não está claro se a infecção ocorre na cavidade oral e o porquê de a tonsila ser preferencialmente infectada. Este não parece estar presente em um grande número de casos, contrariamente ao estabelecido no câncer cervical, indicando outros possíveis agentes etiológicos.

A infecção por HPV tem associação estatisticamente significativa com história de múltiplos parceiros sexuais, prática de sexo oral e história de lesões genitais, sugerindo transmissão sexual, mas ainda faltam dados conclusivos (Schwartz et al., 1998). Porém, outras possibilidades têm sido levantadas, como a da transmissão da mãe para a criança e mesmo de fômites (Herrero, 2003).

A associação entre a presença do HPV e o desenvolvimento de câncer de cavidade oral e orofaringe ainda é reforçada pelo fato de os mesmos tipos de HPV oncogênicos (como o tipo 16 e o 18) detectados em carcinoma cervical serem identificados em câncer de cavidade oral e orofaringe (Daí, 2004).

Várias séries de casos têm sido publicadas, com prevalência de detecção do HPV DNA variando de 0% a 100%, dependendo da população, da combinação de topografias, do tipo de material investigado e do método de detecção do DNA (Franceschi, 1996 e Gillison, 2001). O tipo histológico predominante nestes estudos foi o HPV 16 e com uma prevalência bem maior em câncer de tonsila e de orofaringe do que em outras localizações anatômicas. Em série publicada de 253 pacientes, infecção por HPV foi encontrada em 25% dos tumores, com HPV 16 presente em 90% dos tumores positivos. A positividade do HPV foi muito mais freqüente (57%) em tumores de localização orofaríngea (Gillison, 2000).

Uma das limitações dos estudos de caso-controle tem sido a definição do tipo de amostra para a pesquisa de HPV em casos e controles.

A maioria dos estudos têm sido baseada em amostras de células escovadas de escovado da cavidade oral. O quanto este tipo de amostra representa infecção da cavidade oral, particularmente em tonsila e orofaringe, ainda não está estabelecido. A infecção focal pelo HPV pode não estar sendo identificada, resultando em uma subestimação da prevalência do HPV em algumas localizações anatômicas (Herrero, 2003).

Nos estudos de caso-controle, relacionando infecção por HPV e câncer de cavidade oral, a pesquisa de HPV DNA tem sido desenvolvida no tecido tumoral dos casos e, nas células escovadas do escovado da cavidade oral, por PCR, em casos e controles.

Estudo envolvendo 284 casos e 477 controles, não demonstrou diferença na prevalência do HPV quando pesquisado em células esfoliadas da cavidade oral de casos e controles (OR: 0,9; 95% IC: 0,5 a 1,6). Porém, o escovado oral, neste estudo, foi coletado em média nove meses após diagnóstico e tratamento dos casos. Por outro lado, aproximadamente 26% dos tecidos tumorais dos casos continham HPV DNA, com uma prevalência maior em casos de orofaringe e tonsila do que em outras localizações anatômicas. O HPV 16 foi subtipo predominante em quase 65% dos casos positivos. O estudo concluiu que o HPV 16 pode contribuir para o desenvolvimento de uma pequena proporção de câncer de cavidade oral, na população estudada, a maioria provavelmente em associação com o fumo de cigarros (Schwartz, 1998).

Contudo, em estudo caso-controle encontrada uma prevalência de HPV DNA de 15% no escovado de células orais dos casos, enquanto nos controles a prevalência foi menor de 5% , com um OR ajustado de 3,7 (95% IC = 1,5 a 9,3) (Smith, 1998).

#### **1.2.6. Exposição Ocupacional**

Tem sido documentada em estudos prévios a relação entre o desenvolvimento de câncer de cavidade oral e faringe e o exercício de determinadas ocupações, como: pescadores, agricultores, pintores, açougueiros, pedreiros, condutores de veículos a motor, encanadores, trabalhadores da construção civil e instaladores de carpetes (Andreotti, 2006).

Em estudo caso-controle de base populacional conduzido em quatro áreas dos Estados Unidos, de 1984 a 1985, foi analisada a associação entre ocupação e câncer de cavidade oral e faringe com 1114 casos e 1268 controles. Verificou-se aumento no risco de desenvolvimento de câncer em homens que trabalhavam na instalação de carpetes, com uma tendência crescente conforme o tempo de exposição (OR: 7,7; IC 95%: 2,4-24,9) e diminuição do risco em homens e mulheres que trabalhavam na indústria têxtil (OR: 0,48; IC 95%: 0,27-0,88). Também se verificou aumento do risco entre trabalhadores expostos a metal e aço (OR 4,1; IC 95%: 0,7-23,3), garçons (OR 2,6; IC 95%: 0,8-8,1) e trabalhadores da indústria de plástico e borracheiros (OR 2,1; IC 95%: 0,5-8,4), ajustados para idade, raça, centro do estudo e hábitos de fumo e álcool, porém estes resultados não foram estatisticamente significativos. Contrariando publicações prévias, neste estudo não foi encontrado aumento do risco de câncer oral em trabalhadores da área elétrica e eletrônica, trabalhadores de áreas semelhantes a de instaladores de carpete, em que houvesse a possibilidade de exposição ao formaldeído, e naqueles que trabalhavam com tipografia (Huebner, 1992).

Estudo conduzido na Suécia, utilizando dados do censo (1960 e 1970) e do registro de câncer (1971-1989), investigou a relação entre a exposição de pintores e de trabalhadores de fábricas de tintas e risco de câncer entre homens e mulheres suecos. Identificou-se risco aumentado de câncer oral e de laringe entre mulheres que tinham ofício de laqueadoras aumento do risco de câncer oral entre as mulheres que trabalhavam como vidraceiras. Estes achados estão de acordo com publicações da International Agency for Research on Câncer (IARC) que classificam o ofício de pintor como uma

causa ocupacional de câncer e acrescentam evidências de que o risco de certos tipos de câncer são aumentados com a exposição ao processo de produção de tintas (Brown, 2002).

Com a tentativa de avaliar a hipótese levantada por achados prévios em estudo realizado na Dinamarca de que pintores teriam um risco aumentado de desenvolver câncer oral e de faringe, dados a respeito destes tipos de câncer foram coletados entre pintores da Noruega, Suécia e Finlândia. Houve uma tentativa de controlar para os possíveis confundimentos do efeito do álcool e do tabaco. O risco para câncer oral e de faringe foi aumentado na Noruega, Suécia e Finlândia, mas o mesmo achado não se confirmou previamente na Dinamarca. Logo, os achados do estudo não comprovaram nem descartaram um aumento de risco de câncer oral e faringe como resultado desta exposição ocupacional (Skov, 1993).

Estudo caso-controle de base populacional conduzido em Porto Rico avaliou a relação entre exposição ocupacional e câncer de cavidade oral e orofaringe. O risco de desenvolver câncer de cavidade oral foi significativamente elevado em agricultores de indústrias de cana-de-açúcar (OR: 4,4; 95% IC: 1.4-13.6) (Coble, 2003).

Na tentativa de estimar o risco ocupacional em câncer de cavidade oral e orofaringe, foi conduzido estudo na região metropolitana de São Paulo com 325 casos e 468 controles recrutados. A análise por ramos de atividade e ocupação foi restrita aos homens (266 casos e 362 controles) e os odds ratios (OR) calculados por modelo de regressão logística foram controlados por

idade, tabagismo e consumo de álcool. Foi observado risco em trabalhadores de oficinas mecânicas (26 casos e 12 controles com OR: 2,45; IC 95%: 1,14-5,27) que foi aumentado em quem tinha exposição por dez anos ou mais (OR: 7,90; 95% IC: 2,03-30,72). Os mecânicos de veículos também tiveram aumento no risco (14 casos e 7 controles com OR: 2,10; 95% IC: 0,78-5,68) que aumentou com exposições de 10 anos ou mais (OR:26,21 95% IC: 2,34-294,06). As outras ocupações apresentaram um odds ratio (OR) maior ou igual a 1,5, porém não foram estatisticamente significativos. Este estudo concluiu que o ofício de mecânico de automóveis e ter emprego em oficinas mecânicas aumentam o risco de desenvolvimento de câncer oral e de faringe, independente da idade, uso de tabaco e de álcool. Também conclui que quanto maior o tempo de exposição, maior o risco (Andreotti, 2006).

### **1.2.7. Agregação Familiar e Suscetibilidade Genética**

Estudos têm demonstrado que a história de câncer em grupos familiares poderia ser um risco para a ocorrência de determinados tipos de câncer. Um estudo caso-controle conduzido no Brasil sobre câncer de cabeça e pescoço demonstrou aumento de risco para aqueles que relataram câncer de algum sítio anatômico em parentes de primeiro grau, com este risco sendo ainda mais elevado se o familiar tivesse desenvolvido um câncer de cabeça e pescoço (Foulkes, 1995). A maior dificuldade na interpretação destes estudos epidemiológicos é diferenciar a influência da hereditariedade ou a exposição aos mesmos fatores de risco ambientais. As evidências têm sugerido a interação de ambos os fatores.

O polimorfismo genético desempenha um importante papel na metabolização de vários agentes carcinogênicos, presentes na fumaça do tabaco, no álcool, exposições ambientais e ocupacionais. Citocromo P450 2E1 (CYP2E) é uma enzima secundária que pode metabolizar o etanol e a glutathione S-transferase (GST) que é envolvida na detoxificação de epóxidos e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. A habilidade interindividual variável de metabolização de substâncias tóxicas ambientais estaria relacionada à prevalência de mutação destes genes em diferentes populações. Em estudo realizado no Brasil foi identificado que genótipo nulo (que não confere risco de câncer) GSTM1 e GSTT1 eram mais altos em pacientes com câncer de cabeça e pescoço do que nos controles e que a prevalência do genótipo mutante CYP2e1 era mais alta em pacientes com câncer oral do que nos controles (Wünsch Filho, 2002).

### **1.3. PREVENÇÃO DO CÂNCER DE CAVIDADE ORAL**

Baseado em evidências de associação e redução de risco obtidos em estudos de coorte ou caso-controle, constatou-se que evitar ou cessar a exposição ao tabaco pode levar à diminuição do câncer oral.

Apesar do uso de álcool ser um fator de risco estabelecido para o desenvolvimento do câncer de cavidade oral, não existem evidências suficientes de que a cessação do uso de álcool diminua o risco deste tipo de câncer.

O risco de câncer de cavidade oral é maior em pessoas usuárias de álcool e tabaco simultaneamente, comparado com aquelas usando apenas um ou outro.

Não existem evidências adequadas para determinar se uma mudança na dieta diminuiria o risco de desenvolvimento de câncer de cavidade oral. As evidências de associação são provenientes apenas de estudos de coorte ou caso-controle.

Não existem evidências adequadas para estabelecer que o rastreamento do câncer de cavidade oral resulte em diminuição do câncer.

#### **1.4. DIAGNÓSTICO**

O diagnóstico de lesões assintomáticas requer a inspeção minuciosa da cavidade oral e orofaringe, onde em cerca de 90% dos casos existe presença de lesões pré-malignas como a leucoplasia e a eritroplasia (Silverman, 1984 e Smith, 1989).

Em lesões sintomáticas, queixas de dor persistente, obstrução e nódulo no pescoço são as manifestações mais freqüentes. Uma manifestação comum que pode não ser reconhecida durante meses é a otalgia unilateral. Dor referida unilateralmente para o ouvido é comum em pacientes com envolvimento de base de língua ou de hipofaringe.

Nódulo no pescoço em adulto deve sempre levantar suspeita. A localização do nódulo é um fator importante na definição do sítio onde se encontra o processo patológico. Não é comum o envolvimento inicial de



linfonodos supraclaviculares, sendo um nódulo isolado nesta área mais indicativo de doença metastática do pulmão ou de sítio abdominal primário (Foley, 1999).

Pacientes com diagnóstico de câncer de cavidade oral freqüentemente têm história de consulta médica nos últimos 6 -12 meses por problemas clínicos relacionados ao uso de álcool e / ou tabaco ou por queixas de problemas envolvendo cabeça e pescoço, de etiologia indefinida.

A palpação do pescoço e inspeção da cavidade oral e orofaringe, incluindo palpação das tonsilas e da base da língua, devem ser realizadas em pacientes de alto risco.

A confirmação diagnóstica somente é possível através da biópsia prévia ao tratamento, devendo-se evitar investigações diagnósticas demoradas e onerosas que apenas retardam o início do tratamento (Kowalski, 1991). Para a maioria dos casos, biópsia incisional e um RX de tórax são suficientes para confirmação diagnóstica e estadiamento.

Para tumores situados próximo à mandíbula, é obrigatório o estudo radiográfico ósseo através da radiografia panorâmica e da tomografia computadorizada.

O rastreamento de metástases à distância não é realizado de rotina. Exames como a cintilografia óssea, ultra-sonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética do abdome são dispensáveis na

rotina para o estadiamento (Umeda, 1992 e Vandenbrouk, 1980). Somente devem ser indicados para os casos (raros) em que exista real suspeita clínica de metástases para locais específicos (Kowalski, 1991; Lefebvre, 1996 e Bloom, 1980).

Metástases à distância são incomuns na ausência de doença regional avançada ou em linfonodos bilaterais. O pulmão e os ossos são os sítios mais freqüentemente acometidos à distância.

### **1.5. ESTADIAMENTO**

O estadiamento do câncer de cavidade oral é feito através do TNM, da União Internacional Contra o Câncer, que leva em conta a extensão do tumor primário, o envolvimento de linfonodos e metástases à distância, conforme descrito no anexo 1 (UICC, 1997).

### **1.6. TRATAMENTO DO CÂNCER DE CAVIDADE ORAL**

Dependendo do sítio, extensão do tumor primário e status dos linfonodos, o tratamento do câncer de cavidade oral pode ser apenas cirúrgico, radioterápico ou a combinação de ambos.

Câncer precoce (estágio I e II) da cavidade oral é altamente curável por cirurgia ou radioterapia. A escolha do tratamento é determinada em função do resultado estético e funcional previsível da terapia, além da disponibilidade de um especialista da área (Cummings, 1998; Harrison, 1999 e Wang, 1997).

A presença de margens positivas ou tumor com profundidade superior a 5 mm significa aumento do risco de recorrência local e sugere que a modalidade de terapia combinada pode ser benéfica (Jones, 1992 e PO Wing Yuen, 2002).

Câncer avançado (estágio III e IV) da cavidade oral representa um desafio para cirurgiões e radioterapeutas. Exceto para pacientes com pequenas lesões T3 sem linfonodos regionais e sem metástases à distância ou que não tenha linfonodos maiores que 2 cm, para os quais o tratamento radioterápico ou cirúrgico apenas pode ser apropriado, a maioria dos pacientes com estágio III e IV são candidatos a tratamento combinado (Harrison, 1999). Além disso, devido à recorrência local e/ ou metástases à distância ser comum neste grupo de pacientes, estes podem ser considerados para ensaios clínicos.

### **1.7. PROGNÓSTICO**

Pacientes com câncer de cavidade oral tem uma maior chance de desenvolver um segundo tumor primário do trato aerodigestivo superior (Day, 1992 e Van der Tol, 1999).

A taxa de cura do câncer de cavidade oral varia conforme o estágio e o sítio específico do tumor. Tumores pequenos do trígono retromolar, palato duro e gengiva superior são altamente curáveis por tratamento cirúrgico ou radioterápico, com taxas de sobrevida próximas dos 100%. Taxas de controle local próximas de 90% podem ser alcançadas com cirurgia ou radioterapia

em tumores pequenos da língua anterior, assoalho da boca e mucosa bucal (Wallner, 1986).

Lesões moderadamente avançadas e avançadas do trígono retromolar sem evidência de comprometimento de linfonodos cervicais são geralmente curáveis e têm apresentado taxas de controle local próximas de 90%, assim como lesões do palato duro, gengiva superior e mucosa bucal têm uma taxa de controle local próxima de 80%. Na ausência de evidência clínica de comprometimento de linfonodos cervicais, lesões moderadamente avançadas do assoalho da boca e porção anterior da língua são geralmente curáveis, com taxa de sobrevida de cerca de 70% e 65%, respectivamente (Wallner, 1986 e Takagi, 1992).

## **2. CÂNCER DE LARINGE**

### **2.1. EPIDEMIOLOGIA**

Estimativas mundiais de 2005 apontaram mais de 160.000 casos de câncer de laringe entre homens e 22.000 casos entre as mulheres, com 89.000 e 12.000 óbitos, respectivamente (Pisani, 2002).

A incidência do câncer de laringe, no mundo, tem-se apresentado com o mesmo padrão da neoplasia de pulmão, isto é, com uma pequena diminuição da incidência em homens brancos com menos de 65 anos, mas aumentando nas mulheres em geral, e em homens de raça negra e branca com mais de 65 anos (Shiboski, 2000).

A relação de incidência por sexo é de 7:1 (masculino – feminino), a maior diferença em comparação com qualquer outro sítio anatômico do corpo humano.

O câncer de laringe é um dos mais freqüentes a atingir a região da cabeça e pescoço, representando cerca de 25% dos tumores malignos que acometem esta área. Aproximadamente 2/3 desses tumores surgem na glote e 1/3 acomete a laringe supraglótica (INCA, 2006).

Estima-se que 75% a 90% destes tipos de câncer sejam atribuídos ao fumo (Johnson, 2001). Alguns estudos demonstram que este risco se eleva com o aumento do número de cigarros consumidos por dia e do número de anos do hábito de fumar (Talamini, 2002).

No Brasil, o câncer de laringe representa cerca de 2% de todos os tipos de câncer, correspondendo a aproximadamente 8.000 casos novos anualmente. Em relação aos óbitos por todas as causas de câncer, é responsável por 3,8% das mortes em homens e 0,6% nas mulheres, correspondendo à cerca de 3.000 óbitos anualmente (Wünsch, 2004).

Em Porto Alegre, no período de 1995-1999, as taxas de incidência segundo localização do câncer primário, no registro de câncer de base populacional, indicaram 48 casos novos de câncer de laringe e uma taxa bruta de incidência de 1,39/100.000 habitantes no sexo feminino. Na população masculina, o número total de casos novos foi de 366 e uma taxa bruta de incidência de 12,07/ 100.000 habitantes.

## **2.2. FATORES DE RISCO**

Vários fatores de risco estão envolvidos na gênese do câncer de laringe. Similarmente ao câncer de cavidade oral, a maior parcela dos casos de câncer de laringe podem ser atribuídos ao tabaco e ao álcool, tendo a associação de exposição, um efeito de risco multiplicado (Dosemeci, 1997).

Entretanto, aproximadamente 15 a 20% destes tumores ocorrem em indivíduos que nunca fumaram e / ou utilizaram álcool, sugerindo a presença de outras possibilidades etiológicas. Este grupo parece estar aumentando e inclui uma maior proporção de adultos jovens e mulheres (Ringström, 2002).

Risco ocupacional tem sido associado com câncer de laringe, tal como amiantos, ácidos inorgânicos fortes, poeira de cimento e sílica. Além disso, carne salgada e ingesta total de gordura têm sido associadas com risco de câncer de laringe. Por outro lado, vários estudos têm confirmado que frutas, vegetais crus e legumes protegem contra este tipo de câncer. Algumas pesquisas têm levantado a possibilidade da associação de câncer de laringe com o papilomavírus humano, mas esta hipótese não tem sido universalmente confirmada. História familiar de câncer, particularmente tumores de cabeça e pescoço, parecem aumentar o risco de câncer de laringe. Alguns polimorfismos genéticos, também têm mostrado associação positiva, mas ainda com resultados incertos (Wunsch Filho, 2004).

### **2.2.1. Uso de Tabaco**

Os fumantes apresentam um risco aproximadamente vinte vezes maior do que os não-fumantes de desenvolver câncer de orofaringe e de laringe ao longo da vida (Talamini, 2002).

O consumo de tabaco aumenta o risco de câncer de laringe em uma resposta dose-dependente. O risco é, em geral, muito maior para o consumo de tabaco do que para o consumo de álcool (Wünsch Filho, 2004).

Em estudo caso-controle, o risco estimado para o consumo de tabaco no câncer de laringe foi de treze vezes em relação aos não-fumantes (Winder, 1976). Também foi identificado que a combinação de tabaco e álcool tinham seus efeitos multiplicados no desenvolvimento do câncer de laringe (Flanders, 1982).

Um estudo caso-controle realizado em São Paulo encontrou um aumento de sete vezes no risco de câncer de laringe entre fumantes pesados (Sartor, 2003).

Gallus e colaboradores (2003) analisaram dois estudos caso-controle conduzidos de 1996-2000, no norte da Itália e Suíça. Os casos foram 68 mulheres, com menos de 79 anos, com diagnóstico de câncer de laringe. Os controles foram 340 mulheres, admitidas nos mesmos hospitais dos casos por condições agudas, sem relação com consumo de álcool e fumo. *Odds ratio* e correspondente intervalo de confiança de 95% foram estimados por modelos de regressão logística, controlados para idade, local do estudo e ano

da entrevista. Foram incluídas variáveis como: educação, índice de massa corporal (IMC), fumo, álcool e dieta. O câncer de laringe foi fortemente associado com o fumo (OR: 435,7, 95% IC: 38,2 - 4964,4 para fumantes de  $\geq$  25 cigarros/dia) e uso de álcool (OR: 4,3, 95% IC: 0,8-24,1 para  $\geq$  5 drinques/dia). Esta investigação fornece evidências definitivas que o fumo é um notável fator de risco para câncer de laringe em mulheres, justificado por 78% dos casos nesta população. Já o álcool, explica aproximadamente 30% dos casos (Gallus, 2003).

Dos escassos dados disponíveis especificamente sobre a população feminina está um estudo caso-controle desenvolvido nos Estados Unidos por Wynder e colaboradores (1976), que incluiu em sua população de estudo 56 mulheres com diagnóstico de câncer de laringe. Foi encontrado um *odds ratio* de 28,2 para fumantes de 20 cigarros ou mais, comparado com pacientes que nunca fumaram (Wynder, 1976).

O efeito independente do tabaco e do álcool no câncer de laringe foi avaliado em dois estudos caso-controle realizados na Itália e Suíça, comparando 40 casos não-fumantes e 68 casos não-bebedores com 160 controles não-fumantes e 161 controles não-bebedores. Na análise multivariada verificou-se um OR de 2,46 para bebedores pesados que não fumavam e OR de 9,38 para fumantes que não bebiam (Bosetti, 2002).

### **2.2.2. Uso de Álcool**

O consumo de álcool é uma das mais importantes causas de câncer depois do consumo de tabaco (Boffetta, 2006). A associação clínica entre o



consumo crônico de álcool e o câncer de cabeça e pescoço, inclusive laringe, vem sendo observado por décadas. A literatura fornece evidências suficientes que o uso crônico de álcool aumenta o risco de câncer de laringe independente da exposição ao tabaco (Riedel, 2005). O uso de álcool pode estar associado ao câncer de laringe através do contato direto da substância, com ação de solvente, pelo aumento do efeito do tabaco ou de outros carcinogênicos ambientais (Altieri, 2005).

Conforme relatado em estudo de revisão, este risco aumenta com a quantidade de álcool consumida. Em estudos recentemente realizados na América do Norte, Europa, Japão e Coréia, os riscos relativos para os níveis mais altos de consumo variaram entre 2 e 10, sendo 1,94 para 50g/dia e 3,95 para 100g/dia em meta-análise de 20 estudos. No caso dos não-fumantes o risco parece ser pequeno para quem consome quantidades moderadas de álcool, assim como o risco aumenta com o uso concomitante de tabaco (cada agente aproximadamente multiplicando o efeito do outro) (Altieri, 2005).

Após a cessação do álcool, alguma queda no risco de desenvolvimento de câncer de laringe se torna aparente, em longo prazo. Se existe alguma relação direta entre a idade de início e fim do hábito de beber e o desenvolvimento da doença, isto ainda não está evidente nos estudos. Além disso, parece não haver diferença entre os tipos de bebidas alcoólicas consumidas, apenas a bebida mais comumente utilizada em cada estudo parece ser mais associada com o risco de câncer (Altieri, 2005).

O consumo de álcool também é um fator de risco independente para o desenvolvimento do câncer de laringe. O mecanismo pelo qual o álcool promove a carcinogênese não é completamente conhecido. O etanol puro não tem se mostrado carcinogênico. O álcool tem sido considerado mais como um co-carcinogênico, facilitando a carcinogênese mais do que a iniciando.

Foi realizado um estudo de coorte na Suécia, com mulheres hospitalizadas por abuso de álcool e encontraram uma taxa de incidência padronizada de 8,9 de câncer de laringe neste grupo (Boffeta, 2001).

### **2.2.3. Hábitos Alimentares**

Fatores dietéticos têm sido relacionados ao risco de desenvolver câncer de laringe. Um alto consumo de frutas e vegetais provavelmente é protetor contra o câncer de laringe. Apesar de não existirem evidências adequadas, alguns alimentos como peixe, leite e laticínios têm mostrado efeito protetor em alguns estudos. Contudo, o consumo de carne tem sido associado com aumento no risco (American Institute for Câncer Research, 1997). Estudos conduzidos no Uruguai confirmaram o aumento do risco associado com baixo consumo de frutas e vegetais e com alto consumo de carne, em particular carne salgada (De Stefani, 1995).

Existem evidências consistentes de que o baixo consumo de frutas e vegetais está associado com risco aumentado de câncer de laringe, após ajuste estatístico para o consumo de álcool e tabaco. O consumo de óleos vegetais, peixe e uma razão moderada à alta de ácidos graxos

polinsaturados/ saturados foram associados com risco reduzido. Baixa ingestão de vitamina C, beta-caroteno e vitamina E foram associadas com aumento do risco de câncer de laringe, mas não existem evidências claras de que estes micronutrientes são melhores preditores de risco de câncer do que os principais grupos alimentares dos quais estes níveis de ingestão são estimados, isto é, frutas, vegetais, óleos vegetais e peixe (Riboli, 1996).

Por outro lado, existem evidências limitadas de outras correlações dietéticas com o desenvolvimento do câncer de laringe (World Cancer Research Fund, 1997) e poucos estudos coletam diários dietéticos detalhados para examinar a potencial relação do câncer de laringe com a grande variedade de micronutrientes (Bosetti, 2003).

Com o objetivo de avaliar se o consumo de vegetais, frutas e cereais em grãos são inversamente relacionados com o risco de desenvolver câncer de laringe, foi realizado estudo caso-controle de base hospitalar, multicêntrico, no período de 1992 a 2000, na Itália e na Suíça, com 527 casos de câncer de laringe e 1297 controles. O estudo encontrou uma relação inversa consistente entre a ingestão de fibras derivadas de vegetais (OR: 0,2; IC 95%: 0,1-0,4) e frutas (OR: 0,5; IC 95%: 0,3-0,7) e o risco de câncer de laringe. Não foi encontrada a mesma proteção das fibras derivadas de grãos (OR: 1,1; IC 95%: 0,6-1,9) (Pelucchi, 2003).

Foi realizado estudo caso-controle na Suíça, no período de 1992 a 2002 para avaliar o risco do consumo de carne processada no desenvolvimento de alguns tipos de câncer. Foram estudados 316 pacientes com câncer de cavidade oral e faringe, 138 pacientes com câncer de esôfago, 91 pacientes com câncer de laringe e 323 pacientes com câncer de colo-retal, comparados com 1271 controles hospitalares. Foi identificada uma tendência ao aumento do risco no consumo de carne processada nas várias neoplasias investigadas. Os pesquisadores concluíram que o consumo de carne processada é um forte indicador de dieta inadequada para câncer do trato digestivo e de laringe (OR: 3,4; IC 95%: 1,38-8,46) (Levi, 2004).

#### **2.2.4. Papilomavírus Humano (HPV)**

Apesar dos esforços dos últimos quinze anos, a associação entre infecção pelo HPV e câncer de laringe é menos clara. Embora o HPV DNA tenha sido detectado em uma proporção de casos, ainda não existem evidências suficientes de que o HPV desempenhe um papel substancial na etiologia do câncer de laringe. Por outro lado, a maioria dos estudos não tem utilizado métodos confirmatórios mais específicos para a detecção do HPV. (Herrero, 2003).

Similarmente ao câncer de cavidade oral e orofaringe, várias séries de casos têm reportado a prevalência do HPV DNA no câncer de laringe, com taxas que variam de 0 % a 100 % (Gorgoulis, 1999). Em série de casos, o

HPV DNA foi detectado em cerca de 25% dos casos de câncer de laringe (variando de 2-85%) (Franceschi, 1996).

Estudo caso-controle investigou a presença de infecção pelo HPV, por PCR, em 44 pacientes com câncer de laringe, 10 com leucoplasia e 12 pacientes com condições laríngeas benignas (controles). HPV foi detectado em 25% dos pacientes com câncer, em 30% dos pacientes com leucoplasia e em 16,7% dos controles após ser controlado para os efeitos do álcool e do tabaco no risco de desenvolver a doença. O HPV foi associado com risco aumentado de câncer e leucoplasia laríngea (OR: 3,0 e 6,0) comparados com controles, porém, os resultados não foram estatisticamente significativos (Smith, 2000).

Estudo desenvolvido na Dinamarca com trinta pacientes com diagnóstico de câncer de laringe, sem papilomatose laríngea pré-existente, avaliou por PCR a presença de HPV DNA, não mostrando associação entre HPV e câncer de laringe nesta população (Lindeberg, 1999). Já em estudo realizado na Noruega, 3 pacientes dos 16 casos investigados foram HPV positivo (19%), ficando de acordo com a maioria dos outros estudos. (Matzow, 1998).

### **2.2.5. Exposição Ocupacional**

Vários estudos têm sugerido agentes ocupacionais como fatores de risco adicionais no desenvolvimento do câncer de laringe.

Foi realizada a análise crítica das investigações epidemiológicas disponíveis da relação causal entre exposição ao amianto e câncer de laringe. A revisão de 9 estudos caso-controle indicou que o risco estimado atribuído à exposição ao amianto é irrelevante quando o fumo e o álcool são levados em conta na análise. Seis dos 12 estudos de coorte não demonstraram aumento significativo na taxa de mortalidade padronizada devido à exposição ao amianto. Os 6 estudos longitudinais avaliados mostraram aumento na taxa de mortalidade padronizada, mas a análise não foi ajustada para os fatores de confusão álcool e tabaco. Logo, as evidências disponíveis na ocasião não mostraram associação entre a exposição ao amianto e câncer de laringe (Chan, 1988).

O resultado de 31 estudos de coorte, 21 estudos caso-controle e 11 revisões são contraditórios na investigação da associação entre poeira de amianto e risco de câncer de laringe. Na maioria dos estudos não houve significância estatística de uma relação causal. O risco aumentado de câncer de laringe em pessoas expostas ao amianto foi identificado em estudos mais antigos, quando a análise não levava em conta a exposição ao tabaco e ao álcool (Kraus, 1995).

Foi realizada uma revisão sistemática para avaliar a relação entre exposição ao amianto e o risco de câncer de laringe. Todos os estudos identificados sobre trabalhadores com amianto e que forneciam dados

sobre doenças de laringe foram revisados, mais os estudos sobre câncer de laringe que forneciam evidências epidemiológicas ou experimentais da exposição associada foram analisados. Não foram encontradas evidências de que a exposição ao amianto aumente o risco de câncer de laringe. A maior dificuldade na análise, para ser identificada alguma associação entre amianto ou outro efeito ocupacional, foi a possibilidade de confundimento, principalmente quanto ao consumo de álcool e tabaco, e em menor extensão em relação à dieta e fatores sócio-econômicos. Poucos estudos forneciam detalhes do hábito de álcool e tabaco. Dos 24 estudos prospectivos avaliados, para os quais a taxa de mortalidade padronizada foi calculada, apenas em 1 deles houve evidente excesso de risco. Dos 17 estudos retrospectivos avaliados, apenas 2 deles mostraram um aumento significativo no risco. As evidências de experimentos animais e autópsias mostraram resultados negativos ou inconclusivos (Browne, 2000).

Em estudo caso-controle de base hospitalar foi avaliado o risco de câncer de laringe devido a exposições químicas como diesel, gasolina, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, formaldeído e solventes. Aumento no risco ocorreu devido a exposição a diesel, gasolina e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, este último apenas naqueles também expostos ao diesel (Elci, 2003).

Estudo de caso-controle aninhado a uma coorte realizado com mecânicos de automóveis em Michigan demonstrou associação entre câncer de laringe e exposição contínua cumulativa a fluidos metálicos (sintéticos,

solúveis e não-solúveis) utilizados para lubrificar, evitar corrosões nas maquinarias, concordando com conclusões prévias da coorte (Zeka, 2004).

Estudo caso-controle de base populacional realizado na Alemanha, no período de 1998 a 2002, também avaliou risco ocupacional para o desenvolvimento de câncer de laringe. Foram obtidas evidências que demonstraram aumento do risco em pessoas que foram expostas à poeira de cimento durante trabalho em construções civis (Dietz, 2004).

No período de 1979 a 1982 foi conduzido estudo caso-controle em seis centros no sul da Europa, com 1010 casos masculinos de câncer de laringe e hipofaringe e 2176 controles da população. As principais análises foram restritas a sujeitos com menos de 55 anos (315 casos e 819 controles), pois as informações sobre a história ocupacional foram coletadas a partir de 1945. Aumentos de risco significativos foram encontrados para exposição a solventes orgânicos (OR: 1,7; IC 95%: 1,1-2,5) e amianto (OR: 1,6; IC 95%: 1,0-2,5). Uma associação positiva entre exposição ao formaldeído e câncer de laringe também foi sugerida. Não foi encontrada associação positiva pela exposição ao arsênico e seus componentes, cromo e componentes e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. As análises que foram restritas a sujeitos com 55 anos ou mais mostraram risco elevado apenas com poeira de madeira (OR: 1,8; IC 95%: 1,3-2,7) (Berrino, 2004).



Um estudo de caso-controle de base populacional realizado no sudoeste da Alemanha mostrou um grande efeito da exposição a hidrocarbonetos aromáticos policíclicos no risco de desenvolver câncer de laringe, depois de ajustado estatisticamente para álcool e fumo. Também foi observada uma nítida relação dose-resposta referente à duração da exposição (Becher, 2005).

#### **2.2.6. Agregação Familiar e Suscetibilidade Genética**

Suscetibilidade genética a fatores de risco ambientais e carcinogênicos já é bastante reconhecida. Estudo caso-controle brasileiro, publicado em 1995, demonstrou um aumento do risco de desenvolvimento de carcinoma epidermóide de cabeça e pescoço em indivíduos que tivessem parente de primeiro grau com algum tipo de câncer, porém o risco foi ainda maior (OR: 3,65; IC 95%: 1,97-6,76) se o familiar tivesse tido um câncer de cabeça e pescoço (Wünsch, 2004). Baseado nos resultados dos estudos, assim como no câncer de cavidade oral, é difícil a distinção entre a influência hereditária e dos fatores ambientais.

Da mesma forma, a agregação familiar de casos de câncer deve ser explicada tanto pela predisposição genética como pelo fato de os membros de uma mesma família estarem suscetíveis aos mesmos tipos de exposição, como o uso do tabaco, uso de álcool, dieta e ocupações (Wünsch Filho, 2004).

Vários estudos têm abordado a influência do polimorfismo genético no risco de desenvolvimento de câncer de laringe. Os mais freqüentemente estudados são o citocromo P450 (CYP) e o glutathione S-transferase (GST).

O metabolismo carcinogênico é complexo, envolvendo a interação de numerosos carcinógenos e enzimas. Os GST têm uma variedade de substratos, incluindo carcinógenos ambientais, pesticidas, drogas e moléculas endógenas de peroxidação lipídica. A ação metabólica das enzimas GST pode diferir de acordo com o sítio de câncer. A maior concentração de GSTP1 tem sido observada em tecidos orais e faríngeos e as mais altas concentrações de GSTM1 tem sido observadas em tecido laríngeo, em relação aos demais GST. Em metanálise, que avaliou os genótipos GSTM1, GSTT1, GSTP1 e CYP1A1, foi sustentada a hipótese de que GSTM1, GSTT1 e CYP1A1 são modestos fatores de risco para câncer de cabeça e pescoço. Na análise agrupada, levantaram a idéia de que a herança de múltiplos genótipos GST de modesto risco, podem conferir um grande risco de desenvolver câncer de cabeça e pescoço (Hashibe, 2003).

Os estudos, de uma forma geral, têm mostrado resultados discrepantes, principalmente após a análise ser ajustada para fatores como consumo de álcool e tabaco (Wünsch Filho, 2004).

### **2.3. DIAGNÓSTICO**

O exame minucioso da cabeça e pescoço tem o objetivo de avaliar a extensão loco-regional do tumor, além de buscar identificação de outros sítios primários na região da cabeça e pescoço e detectar metástases em linfonodos regionais (Rapoport, 1989).

Entre os exames para confirmação diagnóstica está a laringoscopia indireta que tem por finalidade identificar o aspecto morfológico das lesões na laringe/ faringe além da funcionalidade do órgão, possibilitando o seu estadiamento (Carvalho, 1997).

Além disso, a laringoscopia direta com biópsia deve ser utilizada nos casos em que a biópsia durante a laringoscopia indireta não foi possível, ou em casos de exame indireto difícil em que se deseja uma melhor visualização (Carvalho, 1997).

O uso da tomografia computadorizada e/ ou ressonância nuclear magnética está indicado na avaliação da extensão da lesão quando se pretende indicar alguma cirurgia parcial, ou quando se pretende avaliar a operabilidade de paciente pós-recidiva ou em estágios muito avançados (Noronha, 1989).

Rouquidão pode ser intermitente inicialmente e até mesmo agravada por uma infecção viral. Este é um achado precoce no câncer de laringe em região glótica, mas pode ser um achado tardio em carcinomas supra-glóticos.

## **2.4. ESTADIAMENTO**

A laringe é dividida em três regiões anatômicas:

1. A laringe supraglótica: inclui epiglote, pregas vestibulares, ventrículos, pregas ariepiglóticas e aritenóides.
2. A glote inclui as pregas vocais e a comissura anterior e a região interaritenóidea.
3. A subglote: começa 1cm abaixo das pregas vocais e se estende até a borda inferior da cartilagem cricóide ou primeiro anel traqueal .

Essa classificação que utiliza informações acerca do tumor primário (T), cadeias linfáticas cervicais (N) e de possíveis metástases sistêmicas (M) constitui a base para a orientação terapêutica do câncer. No que diz respeito ao câncer de laringe o estágio T é dividido de acordo com a localização anatômica endolaríngea, conforme descrito no anexo 2.

## **2.5. TRATAMENTO DO CÂNCER DE LARINGE**

O tratamento baseia-se em cirurgia e ou radioterapia, conforme o estadiamento da doença.

## **2.6. PROGNÓSTICO**

O mais importante fator prognóstico adverso para o câncer de laringe inclui o aumento no estágio T e estágio N. Outros fatores incluem sexo, idade, performance do paciente e uma variedade de achados patológicos do tumor, incluindo grau e profundidade da invasão (Yilmaz, 1998).

O prognóstico dos tumores de laringe pequenos que não tem comprometimento de linfonodos é muito bom, com taxas de cura de 75% a 90% dependendo do sítio, volume do tumor e grau de infiltração (Reddy, 1998). Lesões intermediárias têm prognóstico intermediário dependendo do sítio, estágio T, N e performance do paciente.

Pacientes tratados por câncer de laringe tem grande risco de recorrência nos primeiros dois a três anos. Recorrências após cinco anos são raras e provavelmente representam um novo tumor primário. O seguimento regular é crucial para aumentar as chances de salvamento.

A possibilidade de desenvolvimento de um segundo tumor primário, em períodos iguais ou distintos, do trato aerodigestivo superior (boca, faringe, laringe, traquéia e esôfago cervicais) é estimada em 5% a 35%. Os fatores etiológicos são os mesmos descritos para o câncer laríngeo. O esôfago é o sítio mais freqüente de segundos tumores primários (Rapoport, 1989).

## **1. JUSTIFICATIVA**

O Brasil possui a mais alta incidência de tumores de cabeça e pescoço da América Latina, com grandes variações por regiões geográficas do país. Pela sua expressiva incidência, mortalidade e letalidade, constituem-se em relevante problema de saúde. De uma forma geral, o diagnóstico de câncer de cabeça e pescoço, no Brasil, é feito em fase mais avançada do que em países desenvolvidos. No nosso país, anualmente são registrados cerca de 13.000 casos novos e mais de 3.000 mortes pela doença. Não existem evidências de que a prevenção secundária reduza mortalidade, porém sabe-se que a maneira mais importante de reduzir a incidência é a intervenção nos fatores de risco. Já foi demonstrado que o tabaco e o álcool são os fatores de risco mais importante para o desenvolvimento desta doença. Por outro lado, uma parcela de não fumantes e não bebedores de álcool desenvolvem o câncer de cabeça e pescoço, sugerindo que outros fatores etiológicos, ainda não estabelecidos, estejam envolvidos no desenvolvimento desta doença.

## **2. OBJETIVOS**

Avaliar os fatores de risco de câncer de cavidade oral e laringe em quatro capitais brasileiras.

Identificar co-fatores que contribuam para o desenvolvimento da doença.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Almadori G, Bussu F, Galli J, et al. Serum folate and homocysteine levels in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 1006-1011.
2. Altieri A, Garavello W, Bosetti C, Gallus S, La Vecchia C. Alcohol consumption and risk of laryngeal cancer. *Oral Oncology*. 2005; 41 (10): 956-65.
3. Andreotti M, Rodrigues A, Cardoso L, Figueiredo R, Eluf-Neto J, Wunsch V. Ocupação e câncer de cavidade oral e de orofaringe. *Cad. Saúde Pública*, 2006; 22 (3): 543-552.
4. Becher H, Ramroth H, Ahrens W, Risch A, Schmezer P, Dietz A. Occupation, exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and laryngeal cancer risk. *Int J Cancer*.2005; 116 (3): 451-7.
5. Berrino F, Richiardi L, Boffetta P, Esteve J, Belletti I, Raymond L, et al. Occupation and larynx and hypopharynx cancer: a job exposure matrix approach in an international case-control study in France, Italy, Spain and Switzerland. *Cancer Causes Control*. 2003 14 (3): 213-23.
6. Bloom ND, Spiro RH. Carcinoma of the cheek mucosa. A retrospective analysis. *Am J Surg* 1980; 140:556-9.
7. Blot, WJ, McLaughlin JK, Winn DM, et al., Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res*. 1988; 48: 3282-3287.
8. Blot, W. J.; McLaughlin, J. K.; Devesa, S. S. & Fraumeni Jr., J. E. 1996. *Cancer Epidemiology and Prevention* (Schottenfeld, D.; Fraumeni Jr., J. F.), pp. 666-680, New York: Editora Oxford.

9. Boffetta P., Ye, W., Adami, H. O., Mucci, L. A., and Nyren, O. Risk of cancers of the lung, head and neck in patient hospitalized for alcoholism in Sweden. *Br. J. Cancer.* 2001; 5: 678-682.
10. Boffetta P. Hashibe M.: Alcohol and Cancer. *The Lancet.* 2006; 7: 149-156.
11. Bosetti C, Gallus S, Franceschi S, Levi F, Bertuzzi M, Negri E, et al. Cancer of the larynx in non-smoking alcohol drinkers and in non-drinking tobacco smokers. *Br J Cancer.* 2002; 27; 87 (5): 516-8.
12. Bosetti C, La Vecchia C, Talamini R, Negri E, Levi F, Fryzek J, et al. Energy, macronutrients and laryngeal cancer risk. *Annals of Oncology.* 2003; 14: 907-912.
13. Brandão LG, Ferraz AR. Anatomia e função da laringe. In: Noronha MJR, Dias FL, editores. *Câncer da laringe: uma abordagem multidisciplinar.* Rio de Janeiro: Revinter; 1997; 4-7.
14. Brown LM, Moradi T, Gridley G, Plato N, Dosemeci M, Fraumeni-Junior JF. Exposures in the painting trades and paint manufacturing industry and risk among men and women in Sweden. *J Occup Environ Med* 2002; 44:258-64.
15. Browne K, Gee JB. Asbestos exposure and laryngeal cancer. *Ann Occup Hyg.* 2000; 44 (4): 239-50.
16. Carvalho RLT. Propedêutica com Laringoscópio e Videolaringostroboscopia. In: Noronha MJR, Dias FL, editores. *Cancer da Laringe; uma abordagem multidisciplinar.* Rio de Janeiro: Revinter; 1997; 22-32.
17. Chainani WN. Diet and oral, pharyngeal, and esophageal cancer. *Nutr Cancer* 2002; 44 (2): 104-26.



18. Chan CK, Gee JB. Asbestos exposure and laryngeal cancer: an analysis of the epidemiologic evidence. *J Occup Med.* 1988; 30 (1): 23-7.
19. Coble JB, Brown LM, Hayes RB, Huang WY, Winn DM, Gridley G, et al. Sugarcane farming, occupational solvent exposures, and the risk of oral cancer in Puerto Rico. *J Occup Environ Med.* 2003 45 (8): 869-74.
20. Cummings CW, Fredrickson JM, Harker LA. *Otolaryngology - Head and Neck Surgery.* Saint Louis, Mo: Mosby-Year Book, Inc., 1998.
21. Day GL, Blot WJ: Second primary tumors in patients with oral cancer. *Cancer.* 1992; 70 (1): 14-9.
22. Dai M, Clifford GM, Calvez F, Castelsague X, Snijders P, Pawlita M, et al. Human papillomavirus type 16 and TP53 mutation in oral cancer: matched analysis of the IARC multicenter study. *Cancer Res.* 2004; Jan; 64: 468-471.
23. De Stefani E, Oreggia F, Rivero S, et al., Salted meat consumption and the risk of laryngeal cancer. *Eur. J. Epidemiol.* 1995; 11: 177-180.
24. De Stefani E, Ronco A, Medilaharsu M, Deneo-Pellegrini H. Diet and risk of câncer of the upper aerogigestive tract II. *Nutrients. Oral Oncol.* 1999; 35: 22-26.
25. Dias FL, Kligerman J, Cervantes O, Tavares MR,, et al., Diagnóstico e Tratamento do Câncer da Laringe. Projeto Diretrizes. 2001. Associação Médica Brasileira e Conselho Federal de Medicina.
26. Dietz A, Ramroth H, Urban T, Ahrens W, Becher H. Exposure to cement dust, related occupational groups and laryngeal cancer risk: results of a population based case-control study. *Int J Cancer.* 2004 108 (6): 907-11.
27. Dosemeci M, Gokemen I, Unsal M, Hayes R, Blair A. Tobacco, alcohol use, and risk of laryngeal and lung cancer by subsite and histologic type in Turkey. *Cancer Causes Control.* 1997; 8: 729-737.

28. Elci OC, Akpınar-Elci M, Blair A, Dosemeci M. Risk of laryngeal cancer by occupational chemical exposure in Turkey. *J Occup Environ Med.* 2003 45 (10): 1100-6.
29. Elmore J, Horwitz R. Oral cancer and mouthwash use: Evaluation of the epidemiologic evidence. *Otolaryngol Head and Neck Surg.* 1995; 113 (3).
30. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. *Globocan 2000: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Version 1.* International Agency for Research on Cancer (IARC). Cancer base n5. Lyon (France); IARC Press; 2001.
31. Ferley J.; Parkin D. M. & Pisani P. 1998. *Globocan 1: Cancer incidence and mortality worldwide (CD-ROM).* Lyon, IARC Press.
32. Flanders W, Rothman K. Interaction of alcohol and tobacco in laryngeal cancer. *Am J Epidemiol.* 1982; 115 (3): 371-9.
33. Foley J, Vose J, Armitage J. *Current therapy in cancer 2° ed.* W.B. Saunders Company, 1999.
34. Foulkes W, Brunet J, Kowalski L, Narod A, Franco E. Family history of cancer is a risk factor for squamous cell carcinoma of the head and neck in Brazil: a case-control study. *International Journal of Cancer* 1995; 63: 769-73.
35. Franceschi S, Bidoli E, Báron AE, et al., Nutrition and cancer of the oral cavity and pharynx in north-east Italy. *International Journal of Cancer.* 1995; 63: 769-773.
36. Franceschi S, Munoz N, Snijders PJ, Walboomers W W. Human papillomavirus and cancers of the upper aerodigestive tract: a review of epidemiological and experimental evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1996; 5: 567-575.

37. Franco E, Kowalski L, Oliveira B, Curado M, Pereira R, Silva M, et al. Risk factors for oral cancer in Brazil: a case-control study. *International Journal of Cancer*. 1989; 43:992-1000.
38. Figuero-Ruiz E, Carretero-Pelaéz MA, Cerero-Lapiedra R, Esparza-Gomez G, Moreno-Lopez LA. Effects of the consumption of alcohol in the oral cavity: Relationship with oral cancer. *Med Oral*. 2004; 9: 14-23.
39. Gallus S, Bosetti C, Franceschi S, Levi F, Negri E, La Vecchia. Laryngeal cancer in women: tobacco, alcohol, nutritional, and hormonal factors. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2003; 12: 514-517.
40. Gillison ML, Wayne M, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra W, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92: 709-720.
41. Gillison ML, Shah KV. Human papillomavirus-associated head and neck squamous cell carcinoma: mounting evidence for an etiologic role for HPV in a subset of head and neck cancers. *Curr Opin Oncol.* 2001; 13: 183-188.
42. Gorgoulis VG, Zacharatos P, Korsinas A, Kyroudi A, Rassidakis A, Ikonomopoulos J, et al. Human papillomavirus virus (HPV) is possibly involved in laryngeal but not in lung carcinogenesis. *Human Pathol.* 1999; 30: 274-283.
43. Harrison LB, Sessions RB, Hong WK. *Head and Neck Cancer: A Multidisciplinary Approach*. Philadelphia, Pa: Lippincott-Raven, 1999.
44. Hashibe M, Brennan P, Strange R, Bhisey R, Cascorbi I, Lazarus P. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 2003; 12: 1509-17.
45. Herrero R.: Human papillomavirus and cancer of the upper aerodigestive tract. *J Natl Cancer Inst Monographs.* 2003; n 31.

46. International Agency for Research on Cancer. Alcohol drinking. 1988; IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, vol 44. Lyon: IARC.
47. Instituto Nacional do Câncer. Ministério da Saúde. Estimativa 2006: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro (Brasil): INCA; 2006. Disponível em <http://www.inca.gov.br>. Acessado em março de 2006.
48. Johnson N. Tobacco use and oral câncer: A global perspective. J Dent Educ 2001; 65 (4) : 328-339.
49. Jones KR, Lodge-Rigal RD, Reddick RL. Prognostic factors in the recurrence of stage I and II squamous cell cancer of the oral cavity. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1992; 118 (5): 483-5.
50. Kraus T, Drexler H, Weber A, Raithel HJ. The association of occupational asbestos dust exposure and laryngeal carcinoma. Isr J Med Sci. 1995; 31 (9): 540-8.
51. Kreimer AR, Clifford GM, et al: Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: A sistematic review. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005 Feb ; 14 (2): 467-475.
52. Kowalski LP. Oral carcinoma: epidemiology, diagnosis and treatment. Acta WHO 1991; 10:128.
53. La Vecchia C, Negri E, Davanzo B, Boyle P, Franceschi S. Dietary indicators of oral and pharyngeal câncer. International Journal of Epidemiology. 1991; 20: 39-44.
54. La Vecchia C, Tavani A, Franceschi S, Levi F, Corrao G, Negri E. Epidemiology and prevention of oral câncer. Oral Oncology. 1997; 33 (5): 302-12.

55. La Vecchia C, Chatenoud L, Franceschi S et al. Vegetables and fruit and human cancer : update of an Italian study. *Int J Cancer* 1999; 82: 151-152.
56. Lefebvre JL, Chevalier D, Lubinski B, et al. Larynx preservation in pyriform sinus cancer: preliminary results of a European Organization for research and treatment of cancer phase III trial *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:890-9.
57. Levi F, Pasche C, Lucchini F, Bosetti C, La Vecchia C. Processed meat and the risk of selected digestive tract and laryngeal neoplasms in Switzerland. *Annals of Oncology*. 2004; 15(2): 346-9.
58. Lindeberg H, Krogdahl A.: Laryngeal cancer and human papillomavirus: HPV is absent in the majority of laryngeal carcinomas. *Cancer Lett*. 1999; 146 (1): 9-13.
59. Maier H, Zoller J, Herrmann A, Kreiss M, Heller WD. Dental status and oral hygiene in patients with head and neck cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1993 108 (6): 655-61.
60. Mashberg A, Boffetta P, Winkelmann R, Garfinkel L. Tobacco smoking, alcohol drinking, and cancer of the oral cavity and oropharynx among U.S. veterans. *Cancer*. 1993; 72 (4): 1369-75.
61. Matzow T, Boysen M, Kalantari, Johansson B, Hagmar B. Low detection rate of HPV in oral and laryngeal carcinomas. *Acta Oncol*. 1998; 37 (1): 73-76.
62. McLaughlin JK, Gridley G, Block G, et al. Dietary factors in oral and pharyngeal cancer. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 1237-1243.

63. Moreno- López LA, Esparza- Gómez GC, Gonzalez- Navarro A, Cerero- Lapiedra R, Gonzalez-Hernandez MJ, Dominguez-Rojas V. Risk of oral câncer associated with tobacco smoking, alcohol consumption and oral hygiene: a case-control study in Madrid, Spain. *Oral Oncol.* 2000; 36: 170-4.
64. Negri E, Franceschi S, Bosetti C, Levi F, Conti E, Parpinel M, et al. Selected micronutrients and oral and pharyngeal cancer. *Int J Cancer.* 2000; 86 (1): 122-7.
65. Negri E, La Vecchia C, Franceschi S. Relations between vegetable, fruit and micronutrient intake. Implications for odds ratio in a case-control study. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: 166-170.
66. Noronha MJR. Tumores malignos da laringe. In: Brandão LG, Ferraz AR, editores. *Cirurgia de cabeça e pescoço.* São Paulo: Editora Roca; 1989. p. 395-412.
67. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas D. Cancer incidence in five continents. 2002; Vol VIII. Lyon: IARC. (IARC Scientific Publications N155).
68. Pellegrini H, Zavala D, Fontham E., Risk factors for laryngeal câncer. *Cancer.* 1987; 60: 3087-3091.
69. Pelucchi C, Talamini R, Negri E, Levi F, Conti E, Franceschi S, et al. Fibre intake and laryngeal cancer risk. *Annals of Oncology.* 2003; 14:162-7.
70. Pisani P, Bray F, Parkin DM. Estimates of the worldwide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. *International Journal of Cancer.* 2002; 97: 72-81.

71. Po Wing Yuen A, Lam KY, Lam LK. Prognostic factors of clinically stage I and II oral tongue carcinoma-A comparative study of stage, thickness, shape, growth pattern, invasive front malignancy grading, Martinez-Gimeno score, and pathologic features. *Head Neck*. 2002; 24 (6): 513-20.
72. Rapoport A, Kowalski LP. O diagnóstico clínico em cabeça e pescoço. In: Brandão LG, Ferraz AR, editores. *Cirurgia de cabeça e pescoço*. São Paulo: Roca; 1989. p. 5-10.
73. Reis S, Lima C, Marchioni A, Setúbal M. Fatores de risco de câncer da cavidade oral e da orofaringe. Fumo, álcool e outros determinantes. *Revista de Pós-Graduação*. 1997; 4:127-32.
74. Riboli E, Kaaks R, Esteve J. Nutrition and laryngeal cancer. *Cancer Causes Control*. 1996; 7 (1): 147-56.
75. Riedel F, Goessler UR, Hormann K. Alcohol-related diseases of the mouth and throat. *Digestive Diseases*. 2005; 23 (3-4): 195-203.
76. Ringström E, Peters E, Hasegawa M, Posner M, Liu M, Kelsey K. Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of head and neck. *Clin Cancer Res*. 2002; Oct; 8: 3187- 3192.
77. Romero JJ, Tamura T, Halsted CH. Intestinal absorption of [3H] folic acid in the chronic alcoholic monkey. *Gastroenterology*. 1981; 80:99-102.
78. Sanchez MJ, Martinez C, Nieto A, Castelsague X, Quintana MJ, Bosch FX, et al. Oral and oropharyngeal Câncer in Spain: influence of dietary patterns. *Eur J Cancer Prev*. 2003; Feb; 12 (1): 49-56.
79. Sankaranarayanan R; Duffy, S.W; Day N, Nair M, Padmakumary G. A case-control investigation of cancer of the oral tongue and the floor of the mouth in Southern India. *International Journal of Cancer*. 1989; 44: 617-621.

80. Sartor SG. Riscos ocupacionais para câncer de laringe: um estudo caso-controle. [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2003.
81. Schildt E, Eriksson M, Hardell L, Magnuson A. *Oncol Rep.* 1999 Mar-Apr; 6(2):317-20.
82. Schwartz SM, Daling JR, Doody DR, Wipf GC, Carter JJ, Madeleine MM, et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst.* 1998; 90: 1628-1636.
83. Shiboski CH, Shiboski SC, Silverman S, et al., Trends in oral cancer rates in the United States, 1973-1996. *Community Dent Oral Epidemiol*, 28(4): 249-256, 2000.
84. Silverman S, Jr: Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers: The outcomes, the trends, the challenge. *J. Am. Dent. Assoc.* 2001. 132 suppl. 75-115.
85. Smith EM, Hoffman HT, Summersgill KS, Kirchner HL, Turek L, Haugen T. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope.* 1998; 108: 1098-1103.
86. Silverman S Jr, Migliorati C, Barbosa J. Toluidine blue staining in the detection of oral precancerous and malignant lesions. *Oral Surg* 1984; 57:379-82.
87. Skov T, Weiner J, Pukkala E, Malke H, Andersen A, Lynge E. Risk for cancer the pharynx and oral cavity among male painters in the Nordic countries. *Arch Environ Health* 1993; 48:176-80.
88. Smith CJ. Oral cancer and pre cancer: background epidemiology and a etiology. *Br Dent J* 1989; 167:377-83.



89. Smith EM, Summersgill KF, Allen J, Hoffman HT, McCulloch T, Turek LP, et al. Human papillomavirus and risk of laryngeal cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2000; 109 (11): 1069-1076.
90. Society AC: Cancer facts and figures 2002. Atlanta, Georgia. American Cancer Society, 2002.
91. Talamini R, et al: Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: A case-control study. *Cancer Causes Control* 2002; 13 (10): 957-964.
92. TNM UICC, 1997. Tradução INCA, Rio de Janeiro, 1997.
93. Umeda M, Yokoo S, Take Y. Lymphnode metastasis in squamous cell carcinoma of the oral cavity: correlation between histologic features and the prevalence of metastasis. *Head Neck* 1992; 14:263-72.
94. Van der Tol IG, de Visscher JG, Jovanovic A, et al.: Risk of second primary cancer following treatment of squamous cell carcinoma of the lower lip. *Oral Oncol.* 1999; 35 (6): 571-4.
95. Vandenbrouk C, Sancho-Garnier H, Chassagne D. Elective versus therapeutic radical neck dissection in epidermoid carcinoma of the oral cavity: results of a randomized clinical trial. *Cancer.* 1980; 46:386-90.
96. Velly AM, Franco EL, Schlecht N, Pintos J, Kowalski LP, Oliveira BV, et al. Relationship between dental factors and risk of upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncol.* 1998; 34 (4): 284-91.
97. Wallner PE, Hanks GE, Kramer S. Patterns of Care Study. Analysis of outcome survey data- anterior two-thirds of tongue and floor of mouth. *Am J Clin Oncol.* 1986; 9 (1): 50-7.
98. Wang CC, ed.: Radiation Therapy for Head and Neck Neoplasms. 3rd ed. New York: Wiley-Liss, 1997.

99. Weinstein SJ, Gridley G, Harty LC et al. Folate intake, serum homocysteine and methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T genotype are not associated with oral cancer risk in Puerto Rico. *J Nutr* 2002; 132: 762-767.
100. WCRF / AICR, Food, nutrition, and prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, DC, 1997.
101. Winder EL, Kabat G, Rosenberg S, Levenstein M. Oral cancer and mouthwash use. *J Natl Cancer Inst.* 1983; 70 (2): 255-60.
102. World Cancer Research Fund in association with the American Institute for Cancer Research. Food, nutrition and the prevention of cancer: a Global perspective. Washington, DC: World Cancer Research Fund 1997.
103. Wünsch Filho V. The epidemiology of oral and pharynx cancer in Brazil. *Oral Oncology.* 2002; 38: 737-46.
104. Wünsch Filho V. The epidemiology of laryngeal cancer in Brazil. *São Paulo Med J.* 2004; 122 (5): 188-94.
105. Wynder, E. L., Covey, L. S, Mabuchi, K., and Mushunski, M. Environmental factors in cancer of the larynx: a second look. *Cancer* . 1976 ; (Phila), 38: 1591-1601.
106. Yilmaz T, Hoşal S, Gedikoglu G . Prognostic significance of depth of invasion in cancer of the larynx. *Laryngoscope.* 1998; 108 (5): 764-8.
107. Zeka A, Eisen EA, Kriebel D, Gore R, Wegman DH. Risk of upper aerodigestive tract cancers in a case-cohort study of autoworkers exposed to metalworking fluids. *Occup Environ Med.* 2004 61 (5): 426-31.
108. Zheng T, Boyle P, Hu H, Duan J, Jiang P, Ma D, et al. Dentition, oral hygiene, and risk of oral cancer: a case-control study in Beijing, People's Republic of China. *Cancer Causes Control.* 2004; 3 (1): 235-241.

## **ARTIGO**

***Título: Fatores de Risco de Câncer Oral e de Laringe em Quatro Regiões Brasileiras.***

***Título em inglês: Risk factors for laryngeal and oral cancer in four Regions in Brazil.***

### ***Abstract***

*Objective:* to assess risk factors to laryngeal and oral cancer in Brazil.

*Methods:* A hospital-based case-control study conducted from 1998 through 2003. Newly diagnosed cases of oral and laryngeal cancer and control subjects were recruited in four centers in Brazil: Porto Alegre (342 case patients and 408 controls), São Paulo (514 case patients and 483 controls), Rio de Janeiro (443 case patients and 251 controls) and Goiania (398 case patients and 267 controls). Participants were interviewed with respect to their history of exposure to lifestyle and environmental risk factors for laryngeal and oral cancer. Multivariable logistic regression analyses provides estimates of odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (95% CIs).

*Results:* Laryngeal and oral cancer were strongly associated to cigarette smoking: Porto Alegre (OR: 10,41 95% CI: 6,42-16,8), São Paulo (OR: 12,46 95% CI: 7,86-19,7), Rio de Janeiro (OR: 8,79 95% CI: 5,35-14,4) and Goiania (OR: 15,75 95% CI: 8,45-29,2).

Significant increase in risk of laryngeal and oral cancer related to alcohol drinking was observed in all centres: Porto Alegre (OR: 4,53 95% CI: 3,09-6,62), São Paulo (OR: 5,89 95% CI:3,99-8,68), Rio de Janeiro (OR:4,26 95% CI:2,69-6,76) and Goiania (OR: 2,53 95% CI: 1,60-4,01). We observed a dose-response relationship between cancer risk and increasing number of alcoholic drinks per day was observed. The association was significant in all

centres for consumption of  $\geq 3$  drinks/day. Poor oral hygiene was a significant risk factor for cancer in Porto Alegre (OR:3,68 95% CI:2,48-5,45), Rio de Janeiro (OR:2,46 95% CI:1,57-3,85) and Goiania (OR:2,91 95% CI:1,80-4,70). Toothbrushing frequency, wear denture and gum bleeding were not associated with laryngeal and oral cancer. No association was found between HPV infection and laryngeal and oral cancer in Brazil. In multivariable analysis tobacco and alcohol consumption remain as important risk factors for laryngeal and oral cancer in all centres. Oral health indicators changed significance in accordance with the center analysed. Results were similar when centres were analysed together.

*Conclusions:* In our results, the most important risk factor for laryngeal and oral cancer was tobacco smoking followed by alcohol consumption with a clear dose-response relationship. A significant association between poor oral hygiene and the risk of these cancers, except in São Paulo, was found.

## ***Introduction***

Head and neck cancer constitute an important public health problem (1). In developing countries, it represents the fifth most frequent types of cancer in males and the seventh most frequent in females. Southern Brazil, Argentina and Uruguai report the highest incidence of head and neck cancer in Latin America (2). In Brazil, estimates for 2006 predict more than 10.000 new cases of oral cancer in males and more than 3.000 in females (3). These numbers have been stable for the last two decades. Larynx cancer accounts for 2% of the cancer cases in Brazil (4). In USA, these cancer sites are increasingly prevalent, especially among females (5). Oral and laryngeal cancer are largely attributed to environmental exposures. Primary risk

factors for these cancers are smoking and alcohol consumption (6,7). A small fraction of nonsmokers and nondrinkers develop head and neck cancer, suggesting other possible etiologic factors. This group may be growing and includes a large proportion of young adults and women (8). The influence of diet components, aspects of oral hygiene, occupational exposures and HPV infection are also discussed as risk factors (9, 10, 11, 12, 13).

### ***Materials, Patients and Methods***

A hospital-based case-control study co-ordinated by the International Agency for Research on Cancer (IARC) was conducted in Latin America from 1998 through 2003. Cases and controls patients were recruited in Brazil, in Argentina (Buenos Aires) and Cuba (Havana). Our analysis included only centres in Brazil. We recruited 1697 cases (1103 oral/oropharyngeal and 594 larynx/hypopharynx) and 1409 controls subjects. The laryngeal and oral cancer study were composed by the following centres in Brazil: Porto Alegre and Pelotas (342 case patients and 408 control subjects), São Paulo (514 case patients and 483 control subjects), Rio de Janeiro (443 case patients and 251 control subjects) and Goiania (398 case patients and 267 control subjects). Porto Alegre and Pelotas were analysed together as Rio Southern region. Each centre recruited newly diagnosed cases of oral and laryngeal cancer among individuals older than 15 years of age and before any treatment. Cases were histologically or cytologically confirmed. Topographic locations included lip (excluded external lip), base of the tongue, other parts of tongue, gum, floor of the mouth, palate, other parts of the mouth, parotid gland, other major salivary glands, tonsil, oropharynx, pyriform sinus,

hypopharynx and larynx. Controls subjects were admitted as in-patients or out-patients in the same hospitals as the cases or in nearby hospitals which share, with the hospitals where cases were identified, the same catchment area. They were selected and frequency-matched by sex and 5-year age group (quinquennia) to the cases. Controls could not have a history or current suspicion of laryngeal or oral cancer. With respect to eligible reasons of hospital admission for control subjects, diseases associated positively or negatively with the know or suspected risk factors for these cancers were excluded. The group of controls served as comparison for both groups of cases.

### ***Sample size***

The initial expected size in each centre was 200 cases and 200 controls for each group of cancer to detect, in each of them, a odds ratio (OR) of 2.1, with  $\alpha = 0,05$  and power = 0,80 and estimated prevalence of exposure of interest of 10% among controls. Overall, was expected at least 1000 cases and 1000 controls to allow the detection of a OR of 1,4 for exposures with the same prevalence or, alternatively, compatible with the detection of a OR of 1,8 for rare exposures (prevalence 3%). Additional statistical power was desirable in order to assess main effects after controlling for confounding and to investigate interactions.

### ***Data Collection***

Specially trained interviewers administered a standardized questionnaire with respect to subjects history of exposure to lifestyle and environmental risk factors for head and neck cancers. The answers included demographic characteristics (age, sex, area of birth and residence), education (if the subject ever attended school), use of tobacco products, alcohol drinking

habits, dietary habits, sexual history, family history of cancer, longest occupation and oral cavity health. A smoker was defined as a subject who smokes or has smoked any tobacco product daily for at least one year. A former was defined as a smoker who stopped smoking more than one year ago. The variable pack-years was created by multiplying the amount of cigarettes per day by the duration of cigarette consumption in years. A drinker was defined as a subject who consumes or has consumed any type of alcoholic beverage at least once per month for at least one year and a former drinker was a subject who reported stopped drinking more than one year ago. A drink was defined as 50ml of aperitif , 350ml of beer or 90ml of wine. Subjects were asked about the number of drinks of each alcoholic beverage that they had consumed, with a specification on the volume of the drink. For each alcoholic beverage type, we converted the volume specified in the questionnaire to milliliters, and divided this by the number of days (7 for week and 30 for month consumption). After obtained drinks per day, we created the variable drinks-years multiplying the numbers of drinks per day by the duration of alcohol drinking in years. Related to oral health indicators, interviewers also briefly examined the oral cavity to determine the number of missing teeth and the quality of general oral hygiene. General oral hygiene was realized by trained interviewers and indicated a subjective score (good, average and poor) based on the general conditions of teeth (tartar, odour) and gum (bleeding, etc.).

### ***Specimen Collection***

Samples of blood and oral mucosa cells were obtained from cases and controls, and fresh or paraffin embedded tumor samples were obtained from

cases. Biological samples were used to analyse the presence of HPV by polymerase chain reaction (PCR).

The study was approved by the IARC and local ethical committees, and informed consent was obtained from all participants.

### ***Statistical Analysis***

We constructed a model containing all of the variables having statistical significance in the univariate models. Initially, crude odds ratios (ORs) and 95% confidence intervals (95% CIs) were calculated for each centre. In a second moment, multivariable logistic regression models were used to determine the effect of multiple risk factors on laryngeal and oral cancer. In the logistic regression model, adjusted odds ratios (ORs) and the corresponding 95% confidence intervals (CIs) were estimated using variables relevant for each centre (only if  $p < 0,05$ ). In Porto Alegre, the final multivariable model included terms for tobacco consumption, alcohol consumption, quality of oral hygiene and mouthwash use. In São Paulo the final model included terms for sex, tobacco consumption, alcohol consumption, and frequency of visits to a dentist. In Rio de Janeiro the final model included age, tobacco consumption, alcohol consumption, frequency of visits to a dentist and missing teeth. In Goiania, the final model included terms for age, tobacco consumption, alcohol consumption, quality of oral hygiene, missing teeth and mouthwash use. Computations were performed by use of SPSS 11.0 statistical software (SPSS inc, Chicago, Illinois, USA).

### ***Results***

Table 1 show the distribution according to age, sex and education in Brazil. Males were over representative among case subjects.



In Goiania a lower educational status was observed in case patients (OR: 1,58 95% CI: 1,1-2,24).

Table 2 shows the association between smoking and drinking habits and risk of oral and laryngeal cancer in Brazil. Laryngeal and oral cancer were strongly associated to cigarette smoking in the univariate analysis. Related to tobacco consumption, compared with never smokers, the risk increased for current smokers (OR: 11,68 95% CI: 9,09-15,01) and was maintained for former smokers (OR: 3,92 95% CI: 3,00-5,10). A significant increase in risk was observed according to the numbers of pack-years of cigarettes smoked. The OR was 8,32 (95% CI: 6,22-11,15) for smokers of 40 or more pack-years, compared with never smokers.

A significant increase in risk of laryngeal and oral cancer related to alcohol drinking was observed in our analysis. Compared with nondrinkers, the ORs were 4,54 (95% CI: 3,70-5,57) for current drinkers and 3,50 (95% CI: 2,81-4,36) for former drinkers in Brazil. The association was statistically significant until for consumption of < 50 drink-years compared with non-drinkers A significant increase in risk was observed according to the amount of drinks-years.

Table 3 shows that risk for smokers who never drank was greater than risk for drinkers who never smoked ( OR: 2,96 95% CI: 2,03-4,31 for smokers who never drank). The greater risk was found for smokers who drinks (OR: 9,14 95% CI: 6,70-12,48).

Table 4 shows the association between oral health indicators and laryngeal and oral cancer in Brazil. Poor oral hygiene was a significant risk factor for

cancer (OR: 2,59 95% CI:2,10-3,19). Missing 6 or more teeth was observed as a significant risk for cancer (OR was 1,72 for 6-15 missing teeth and 1,86 for more than 15 missing teeth (95% CI:1,37-2,15 and 1,51-2,29, respectively). Never or not visit to a dentist for more than 5 years was also a risk factor for cancer in Brazil (OR was 1,45 for not visit to a dentist for more than 5 years and 2,32 for never visit to a dentist (95% CI:1,10-1,90 and 1,77-3,04, respectively). Mouthwash use increased significantly the risk of cancer (OR:1,35 95% CI:1,11-1,63). Wear denture was identified as a protective factor for oral and laryngeal cancer (OR: 0,83 95% CI: 0,72-0,96). Toothbrushing frequency and gum bleeding were not associated with laryngeal and oral cancer. As expected, the association between oral health indicators and cancer was stronger when the analyses included only cases of oral cancer. Gum bleeding was the only variable not associated with oral cancer.

Table 5 shows the alcohol and tobacco risk according to sex. Compared with never smokers, the risk increased for current smokers in both sex (OR: 12,39 95% CI: 8,57-17,90 for males and OR: 7,08 95% CI: 4,42-11,33 for females) and was maintained for former smokers (OR: 4,35 95% CI: 12,98-6,35 for males and OR: 1,94 95% CI: 1,17-3,22 for females). Similarly, related to alcohol consumption, compared with non-drinkers, the risk increased for current drinkers in both sex (OR: 3,66 95% CI: 2,66-5,04 for men and OR: 1,70 95% CI: 1,08-2,69 for women).

In the multivariable model showed in table 6, after adjusting for age, center, drinks-year, quality of oral hygiene, dental check-ups and mouthwash use, pack-years of cigarettes smoked remains as significant risk factor for laryngeal and oral cancer (OR: 4,46 95% CI:3,15-6,31 for smokers of 40

pack-years or more. Related to alcohol consumption, odds ratio was 5,78 for drinkers of 300 drinks-years or more, after adjusting for age, pack-years, quality of oral hygiene, dental check-ups and mouthwash use (95% CI:4,14-8,05).

Odds ratio for quality oral hygiene, after adjusting for age, pack-years, drinks-years, dental check-ups and mouthwash use, was 1,52 (95% CI:1,19-1,94 for poor hygiene). Never visit to a dentist (OR: 1,94 95% CI: 1,39-2,70, after adjusting for age, pack-years, drinks-years, quality of oral hygiene and mouthwash use) and mouthwash use (OR:1,65 95% CI:1,39-2,70 after adjusting for age, pack-years, drink-years, quality of oral hygiene, and dental check-ups), remained as risk factors for laryngeal and oral cancer.

Table 7 shows the joint effect of alcohol and tobacco consumption on risk of laryngeal and oral cancer.

Mate drinking was associated to laryngeal and oral cavity cancer risk only in Porto Alegre (OR: 1,96 95% CI: 1,37-2,80). The duration of mate drinking and temperature were not associated to cancer risk in our analysis.

No association was found between HPV infection and laryngeal and oral cancer in Brazil.

## ***Discussion***

As expected, tobacco consumption was the most important risk factor identified among brazilian cases for laryngeal and oral cancer, followed by alcohol consumption. Although the risk for head and neck cancer be increased in former smokers compared with never smokers, our results suggest a benefit of stopping cigarette smoking in all centres. This results are according with previous publications. Around 80% of all head and neck

carcinomas are attributable to tobacco smoking particularly cigarette smoking (14). In a prospective study conducted since 1951 with male British doctors longevity improved rapidly for non-smokers, but not for men who continued smoking cigarettes. Additionally, in the same study they observed that cessation at age 50 halved the hazard and cessation at 30 avoided almost all of it (16).

There is sufficient evidence that tobacco and alcohol are the main risk factors for head and neck cancers. As summarized by the International Agency for Research on Cancer (IARC), twenty years ago there were convincing experimental and epidemiologic evidences in favor of a relationship among tobacco, alcohol consumption and cancer (17,18). Tobacco smoke contains more than 50 carcinogens being the most harmful tobacco-specific nitrosamines (TsNAs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). These potent carcinogens bind to DNA producing DNA adducts and mutations which can activate proto-oncogenes or inactivate suppressor genes. In fact, tobacco is considered a complete carcinogen because it participates in all phases of chemical carcinogenesis: initiation, promotion and progression (14,19).

In corroboration with a causal role, our results show evidence of a dose-response effect between amount and duration of smoking and risk of developing head and neck cancer in smokers compared to lifelong nonsmokers (Tables 2 and 6).

Related to alcohol consumption, we identified a dose-response relationship between cancer risk and increasing amount drinks- years in Brazil. A decrease in risk is suggested in our data after stop drinking. A review recently published, based in studies from North America, Europe, Japan and

Korea, to evaluate alcohol consumption and risk for laryngeal cancer, showed that after stopping smoking, some fall in risk becomes apparent in the long term (20).

Alcohol has also been considered independent risk factor for head and neck cancer. Because all types of alcoholic beverages are implicated in these claims, ethanol and its metabolites seem to be the effective component. However, there is no evidence that alcohol or ethanol are complete carcinogens (19). Accordingly, alcohol appears to act as a co-carcinogen facilitating carcinogenesis by effects on oral mucosa, DNA repair mechanisms, nutrition, and carcinogen metabolism (such as induction of microsomal enzymes which enhance the metabolic activation of tobacco carcinogens) (14, 21). Concerning only alcohol consumption, our findings show a clear dose-response influence related to the number of drinks-years (Table 6). Previous studies have shown a carcinogenic effect of alcohol independently from that of smoking and a consistent dose-response relation between alcohol consumption and risk of head and neck cancer.

According to sex, tobacco smoking has been estimated to cause approximately 25% of all cancers in men and 4% in women. In the same way, alcohol drinking is estimated to be involved in the etiology of 4% of all cancers in men and 2% in women. The low attributable risk in women is due to low consumption of tobacco and alcohol in past decades (22). The risk observed in women possibly reflects sex differences in prevalences of smoking and alcohol habits.

In addition to these factors of established risk, we observed that poor oral hygiene is associated with increased risk in all centres analysed, especially in Porto Alegre and Goiania. These data are consistent with previously

published reports. Oral hygiene could be a cofactor in these cancers or only to be reflecting the socioeconomics conditions and dental healthcare access of the Brazilian population. In two centres, Rio de Janeiro and Goiania, missing teeth were associated with increased risk for cancer. However, this result could be due to poor oral hygiene observed in our study. In our final model, the use of dentures was not associated with risk of cancer. Velly et al. conducted a case-control study in Southern Brazil and did not find any association between use of dentures and mouth, pharynx and larynx cancer. However, history of chronic ulcerations from an insatisfactory appliance of denture was associated with mouth and pharynx cancer (23).

Mouthwash use appears as significant risk factor in Brazil (especially in Porto Alegre and Goiania), suggesting that ethanol in mouthwash is a causal factor for oral cancer. This increase in risk was not much more expressive when we analysed oral cancer separately. Our results were in accordance with Winn et al., that in a large case-control study, found increased risk associated with regular use of mouthwash (ORs 1,4 for men and 1,6 for women, after adjusting for alcohol and tobacco consumption) (24). Risk increased in proportion to frequency and duration of mouthwash use, and were apparent when the alcohol content of the mouthwash exceeded 25 percent. On the other hand, Elmore and Horwitz reviewed the methodology of seven case-control studies of this association. Their analysis did not support a causal association between mouthwash use and risk of oral cancer (25).

Given the relative paucity of epidemiologic information on head and neck cancer in developing countries, we expect that our study, with 1697 cases representative of high risk areas in Brazil, may add a quality piece of data in favor of the main role of tobacco and alcohol drinking in the development of

this common malignancy (26). Mainly, we hope to contribute for a generation of a more preventative population-based public health approach to these both “lifestyle” carcinogenic agents (27-29). The most important way to reduce the incidence of laryngeal and oral cancer is to minimize or eliminate the use of tobacco and alcohol. Then, primary prevention through avoiding or limiting tobacco and alcohol consumption is strongly recommended.

Related to secondary prevention, the earlier lesions are found the greater the chance of recovery and a good quality of life and function. A major problem is that more than half of all oral cancer cases have already metastasized to regional or distant structures at the time of detection. Opportunistic screening is less systematic but very much more cost-effective than population screening. Screening for oral cancer and pre-cancer becomes part of the routine examination. Programs for early detection of oral lesions should be encouraged in primary care, specially in individuals with established risk factors (alcohol and tobacco).

## TABLES

TABELA 1 - Characteristics of study subjects in Brazil

VARIABLE	BRAZIL	
	CASES n (%)	CONTROLS n (%)
	1697 (54,67)	1409 (45,36)
AGE (yr)		
<60	981 (57,8)	842 (59,8)
≥60	715 (42,1)	567 (40,2)
SEX		
female	254 (15)	293 (20,8)
male	1442 (85)	1116 (79,2)
EDUCATION		
yes	1384 (81,6)	1181 (83,8)
no	312 (18,4)	228 (16,2)



TABLE 2 – Smoking and drinking habits in cases and controls in Brazil

VARIABLE	BRAZIL				OR (CI 95%)
	CASES n (%)		CONTROLS n (%)		
	1697	(54,67)	1409	(45,36)	
Smoking					
Never	89	5,2	429	30,4	reference
Current	1219	71,8	503	35,7	11,68(9,09-15,01)
Former	388	22,9	477	33,9	3,92(3,00-5,10)
p-trend					0,000
Smoking (pack/year)					
0	121	7,1	449	31,9	reference
< 10	735	43,3	504	35,8	5,41 (4,29-6,81)
10-19	215	12,7	158	11,2	5,05 (3,79-6,73)
20-29	189	11,1	100	7,1	7,01 (5,12-9,61)
30-39	151	8,9	70	5,0	8,00 (5,66-11,33)
40 ou+	276	16,3	123	8,7	8,32 (6,22-11,15)
p-trend					0,000
Alcohol					
Never	171	10,1	445	31,6	reference
Current	999	58,9	572	40,6	4,54 (3,70-5,57)
Former	526	31,0	391	27,8	3,50 (2,81-4,36)
p-trend					0,000
Alcohol (drinks/year)					
0	167	9,8	449	31,9	reference
< 50	474	27,9	458	32,5	2,78 (2,23-3,46)
≥ 50	191	11,3	159	11,3	3,23 (2,45-4,25)
≥ 100	267	15,7	155	11,0	4,63 (3,55-6,04)
≥ 200	154	9,1	71	5,0	5,83 (4,18-8,13)
≥ 300	444	26,2	117	8,3	10,20 (7,79-13,37)
					0,000

TABELA 3 – Univariate analysis from smoking and drinking habits in in Brazil

VARIABLE	BRAZIL				OR (CI 95%)
	CASES n %		CONTROLS n %		
Non-smoker/non-drinker	52	3,1	251	17,8	reference
Non-smoker/drinker	37	2,2	178	12,6	1,00 (0,63-1,59) 0,989
Smoker/non-drinker	119	7,0	194	13,8	2,96 (2,03-4,31) 0,000
Smoker/drinker	1487	87,7	785	55,7	9,14 (6,70-12,48) 0,000

TABLE 4 – Oral Health Indicators in cases and controls in Brazil

VARIABLE	BRAZIL				OR (CI 95%)
	CASES n (%)		CONTROLS n (%)		
	1697	54,67	1409	45,36	
Hygiene					
Good	270	15,9	317	22,5	reference
Average	540	31,8	585	41,5	1,08 (0,88-1,32)
Poor	704	41,5	319	22,6	2,59(2,10-3,19)
p-trend					0,000
Toothbrush (times/day)					
≥1	1274	90,5	1162	91,9	reference
<1	133	9,5	102	8,1	1,18 (0,90-1,55)
p-trend					0,207
Denture					
No	776	45,8	579	41,2	reference
Yes	920	54,2	825	58,8	0,83 (0,72-0,96)
p-trend					0,000
Missing teeth					
≤ 5	208	12,3	273	19,4	reference
6-15	464	27,3	354	25,1	1,72 (1,37-2,15)
>15	853	50,3	602	42,7	1,86 (1,51-2,29)
missing	172	10,1	180	12,8	0,000
p-trend					
Dental check-ups					
Every year	113	6,7	149	10,6	reference
Every 2-5yr	206	12,1	255	18,1	1,06 (0,78-1,44)
> Every 5yr	593	34,9	539	38,3	1,45 (1,10-1,90)
Never	773	45,6	439	31,2	2,32 (1,77-3,04)
p-trend					0,000
Gum bleeding					
No	1077	63,5	959	68,1	reference
Yes	378	22,3	321	22,8	1,05 (0,88-1,24)
missing	242	14,3	129	9,2	0,590
p-trend					
Mouthwash					
No	1356	79,9	1185	84,1	reference
Yes	321	18,9	208	14,8	1,35 (1,11-1,63)
missing	20	1,2	16	1,1	
p-trend					0,002

TABELA 5 – Risk factors for oral and laryngeal cancer in Brazil according to sex

VARIABLE	BRAZIL	
	OR	CI 95%
<b>SMOKING</b>		
<b>MALES</b>		
Never	1,00	reference
Current	12,39	8,57-17,90 (p < 0,000)
Former	4,35	2,98-6,35 (p < 0,000)
<b>FEMALES</b>		
Never	1,00	reference
Current	7,08	4,42-11,33 (p < 0,000)
Former	1,94	1,17-3,22 (p < 0,010)
<b>ALCOHOL</b>		
<b>MALES</b>		
Never	1,00	reference
Current	3,66	2,66-5,04 (p < 0,000)
Former	3,11	2,24-4,32 (p < 0,000)
<b>FEMALES</b>		
Never	1,00	reference
Current	1,70	1,08-2,69 (p < 0,022)
Former	2,23	1,28-3,89 (p < 0,005)

TABELA 6 – Multivariable model from risk factors for oral and laryngeal cancer in Brazil

VARIABLE	BRAZIL	
	OR	CI 95%
Smoking (pack/year)		
0	1,00	reference
< 10	2,95	2,24-3,88 (p < 0,000)
10-19	2,68	1,91-3,77 (p < 0,000)
20-29	4,04	2,79-5,85 (p < 0,000)
30-39	4,90	3,25-7,37 (p < 0,000)
40 ou+	4,46	3,15-6,31 (p < 0,000)
Alcohol (drinks/year)		
0	1,00	reference
< 50	1,83	1,40-2,40 (p < 0,000)
≥ 50	1,90	1,37-2,64 (p < 0,000)
≥ 100	2,58	1,87-3,55 (p < 0,000)
≥ 200	3,18	2,14-4,71 (p < 0,000)
≥ 300	5,78	4,15-8,06 (p < 0,000)
Hygiene		
Good	1,00	reference
Average	0,76	0,59-0,94 (p < 0,014)
Poor	1,52	1,19- 1,94 (p < 0,001)
Dental check-ups		
Every year	1,00	reference
Every 2-5yr	1,09	0,76-1,57 (p < 0,640)
> Every 5yr	1,19	0,86-1,65 (P < 0,300)
Never	1,94	1,39-2,70 (p < 0,000)
Mouthwash		
No	1,00	reference
Yes	1,65	1,39-2,70 (p < 0,000)

Odds ratios (OR) adjusted for age, center, drink/year, pack/year, quality of oral hygiene, dental check-ups and mouthwash use.

TABLE 7 – Joint effect of alcohol and tobacco consumption on risk for oral and laryngeal cancer in Brazil

ALCOHOL drink- years	TOBACCO pack - years						OR (adjusted for tobacco)
	0	< 10	≥10	≥20	≥30	≥ 40	
0	1,00	2,92	2,10	3,20	2,34	2,98	1,00
< 100	1,40	5,87	5,11	7,90	6,71	7,66	1,98
≥ 100	2,22	7,33	5,51	9,36	16,59	16,04	2,81
≥ 200	2,81	9,63	10,53	6,76	15,21	15,74	3,39
≥ 300	2,88	17,5	18,71	23,39	24,95	21,83	6,07
OR (adjusted for alcohol)	1,00	3,51	3,05	4,30	4,68	4,80	

## TABLES NOT INCLUDED IN THE PAPER

TABELA 8– Characteristics of study subjects

VARIABLE	PORTO ALEGRE				SÃO PAULO				RIO DE JANEIRO				GOIÂNIA			
	CASES		CONTROLS		CASES		CONTROLS		CASES		CONTROLS		CASES		CONTROLS	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
	342	45,6	408	54,4	514	51,6	483	48,4	443	63,8	251	37,2	398	59,9	267	40,1
AGE (yr)																
<60	203	59,4	224	54,9	313	60,8	286	59,2	241	54,4	157	62,5	174	43,7	91	34,1
≥60	139	40,6	184	45,1	201	39,2	197	40,8	202	45,6	94	47,5	223	56,0	176	65,9
SEX																
female	48	14,1	79	19,4	75	14,6	101	21,0	63	14,3	58	23,2	68	17,1	55	20,6
male	294	85,9	329	80,6	439	85,4	382	79,0	380	85,7	193	76,8	329	82,7	212	79,4
													01	0,3	-	-
EDUCATION																
yes	292	85,3	339	83,0	441	85,9	416	86,1	386	87,2	223	88,9	265	66,6	203	76,0
no	50	14,7	69	17,0	73	14,2	67	13,9	57	12,8	28	11,1	132	33,2	64	24,0
													01	0,3	-	-

TABELA 9 – Smoking and drinking habits in cases and controls

VARIABLE	PORTO ALEGRE					SÃO PAULO					RIO DE JANEIRO					GOIÂNIA				
	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)
	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%	
	342	45,6	408	54,4		514	51,6	483	48,4		443	63,8	251	37,2		398	59,9	267	40,1	
Smoking																				
Never	24	7,0	136	33,3	reference	25	4,9	143	29,6	reference	26	5,9	76	30,3	reference	14	3,5	71	26,6	reference
Current	239	69,9	130	31,9	10,41(6,42-16,8)	388	75,5	178	36,9	12,46(7,86-19,7)	316	71,3	105	41,8	8,79(5,35-14,4)	276	69,3	89	33,3	15,72(8,45-29,2)
Former	79	23,1	142	34,8	3,15(1,88-5,27)	100	19,5	162	33,5	3,53(2,16-5,78)	101	22,8	70	27,9	4,21(2,46-7,23)	108	27,1	107	40,1	5,11(2,72-9,63)
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000
Number of cigarettes																				
no	27	7,9	136	33,3	reference	39	7,6	152	31,5	reference	34	7,7	81	32,3	reference	20	5,0	70	26,2	reference
<20	144	42,1	142	34,8	5,10(3,18-8,20)	239	46,5	203	42,0	4,58(3,08-6,83)	265	59,8	120	47,8	5,26(3,33-8,29)	261	65,6	137	22,5	6,66(3,89-11,4)
≥20	171	50,0	130	31,9	6,62(4,13-10,6)	236	45,9	128	26,5	7,18(4,75-10,8)	144	32,5	50	19,9	6,86(4,10-11,4)	117	29,4	60	51,3	6,82(3,79-12,2)
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000
Duration of smoking																				
no	28	8,2	137	33,6	reference	37	7,2	153	31,6	reference	33	7,4	81	32,3	reference	20	5,0	71	26,6	reference
<20years	97	28,4	91	22,3	5,21(3,17-8,57)	212	41,2	213	44,1	4,11(2,74-6,17)	305	68,8	124	49,4	6,03(3,82-9,52)	95	23,9	77	28,8	4,38(2,45-7,82)
≥20years	217	63,5	180	44,1	5,90(3,75-9,27)	265	51,6	117	24,3	9,36(6,15-14,2)	105	23,7	46	18,3	5,60(3,28-9,54)	283	71,1	119	44,6	8,44(4,91-14,4)
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000
Alcohol																				
Never	53	15,5	168	41,2	reference	45	8,8	149	30,8	reference	34	7,7	69	27,5	reference	39	9,8	59	22,1	reference
Current	187	54,7	131	32,1	4,53(3,09-6,62)	272	52,9	153	31,7	5,89(3,99-8,68)	271	61,2	129	51,4	4,26(2,69-6,76)	216	54,3	129	48,3	2,53(1,60-4,01)
Former	102	29,8	109	26,7	2,97(1,96-4,47)	197	38,3	180	37,3	3,62(2,45-5,35)	138	31,2	53	21,1	5,28(3,15-8,88)	142	35,7	79	29,6	2,72(1,67-4,44)
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000
Duration of drinking																				
no	54	15,8	164	40,2	reference	46	8,9	151	31,3	reference	33	7,4	68	27,1	reference	32	8,0	59	22,1	reference
<20years	56	16,4	42	10,3	4,04(2,44-6,70)	70	13,6	92	19,0	2,49(1,58-3,93)	126	28,4	80	31,9	5,68(3,54-9,11)	63	15,8	56	21,0	2,07(1,18-3,63)
≥20years	232	67,8	202	49,5	3,48(2,43-5,00)	398	77,4	240	49,7	5,44(3,77-7,85)	284	64,1	103	41,0	3,24(1,96-5,35)	303	76,1	152	56,9	3,67(2,29-5,89)
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000
Drinks/day																				
no	55	16,1	164	40,2	reference					reference	33	7,4	68	27,1	reference	30	7,5	59	22,1	reference
<1	26	7,6	54	13,2	1,43(0,82-2,51)	44	8,6	154	31,9	2,33(1,42-3,83)	44	9,9	35	13,9	reference	67	16,8	59	22,1	2,23(1,27-3,91)
1-2	17	5,0	28	6,9	1,81(0,92-3,55)	48	9,3	72	14,9	2,98(1,55-5,70)	22	5,0	26	10,4	2,59(1,41-4,75)	26	6,5	23	8,6	2,23(1,09-4,53)
2-3	16	4,7	27	6,6	1,76(0,88-3,52)	23	4,5	27	5,6	3,75(2,01-7,00)	30	6,8	14	5,6	1,74(0,86-3,52)	18	4,5	12	4,5	2,95(1,25-6,91)
3-4	83	24,3	55	13,5	4,50(2,84-7,11)	29	5,6	27	5,6	5,86(3,86-8,90)	105	23,7	41	16,3	4,41(2,06-9,42)	147	36,9	64	24,0	4,51(2,66-7,66)
≥4	145	42,4	80	19,6	5,40(3,58-8,14)	166	32,3	99	20,5	6,86(4,55-10,3)	209	47,2	67	26,7	5,27(3,04-9,15)	110	27,6	50	18,7	4,33(2,49-7,51)
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000

TABELA 10 – Multivariable analysis from risk factors for oral and laryngeal cancer in cases and controls subjects

VARIABLE	PORTO ALEGRE		SÃO PAULO		RIO DE JANEIRO		GOIÂNIA	
	OR	CI 95%	OR	CI 95%	OR	CI 95%	OR	CI 95%
Smoking								
Never	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference
Current	6,60	3,80-11,4 (p < 0,000)	8,34	5,07-13,7 (p < 0,000)	5,96	3,34-10,6 (p < 0,000)	11,42	5,26-24,8 (p < 0,000)
Former	2,32	1,31-4,10 (p < 0,004)	2,52	1,48-4,27 (p < 0,001)	2,51	1,36-4,63 (p < 0,003)	3,43	1,54-7,62 (p < 0,000)
Alcohol								
Never	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference
Current	2,15	1,34-3,44 (p < 0,001)	3,18	2,03-4,98 (p < 0,000)	1,85	1,05-3,28 (p < 0,033)	2,40	1,24-4,64 (p < 0,009)
Former	1,62	0,99-2,63 (p < 0,051)	2,03	1,29-3,17 (p < 0,002)	2,67	1,45-4,91 (p < 0,002)	2,45	1,21-4,96 (p < 0,012)
Hygiene								
Good	1,00	referência	not included		not included		1,00	reference
Average	0,83	0,54-1,27 (p < 0,397)	in the model		in the model		0,90	0,52-1,58 (p < 0,72)
Poor	2,21	1,42-3,43 (p < 0,000)					2,07	1,18-3,62 (p < 0,010)
Missing teeth								
≤ 5	not included		not included		1,00	reference	1,0	referência
6-15	in the model		in the model		1,64	0,95-2,85 (p < 0,074)	1,79	1,01-3,18 (p < 0,046)
>15					1,92	1,17-3,13 (p < 0,009)	2,18	1,30-3,65 (p < 0,003)
Dental check-ups								
Every year	not included		1,00	reference	1,00	reference	not included	
Every 2-5yr	in the model		1,57	0,89-2,78 (p < 0,116)	1,11	0,49-2,54 (p < 0,79)	in the model	
> Every 5yr			2,30	1,38-3,82 (p < 0,001)	1,48	0,74-2,96 (p < 0,26)		
Never			3,49	2,10-5,82 (p < 0,000)	2,22	1,12-4,40 (p < 0,022)		
Mouthwash								
No	1,00	reference	not included		not included		1,00	reference
Yes	2,05	1,19-3,55 (p < 0,010)	in the model		in the model		2,86	1,63-4,99 (p < 0,000)

In Porto Alegre, odds ratios (OR) adjusted for age, alcohol consumption, tobacco consumption, quality of oral hygiene and mouthwash use.

In São Paulo, odds ratios (OR) adjusted for age, alcohol consumption, tobacco consumption and dental check-ups.

In Rio de Janeiro, odds ratios (OR) adjusted for age, alcohol consumption, tobacco consumption, missing teeth and dental check-ups.

In Goiânia, odds ratios (OR) adjusted for age, alcohol consumption, tobacco consumption, quality of oral hygiene, missing teeth and mouthwash use.



TABLE 11 – Smoking and drinking habits in cases and controls in Brazil

VARIABLE	BRAZIL				OR (CI 95%)
	CASES n (%)		CONTROLS n (%)		
Smoking	1697	(54,67)	1409	(45,36)	
Never	89	5,2	429	30,4	reference
Current	1219	71,8	503	35,7	11,68(9,09)
Former	388	22,9	477	33,9	3,92(3,00-5,10)
p-trend					0,000
Number of cigarettes					
no	120	7,1	439	31,2	reference
<20	909	53,6	602	42,7	5,52 (4,40-6,93)
≥20	668	39,4	368	26,1	6,64 (5,23-8,43)
p-trend					0,000
Duration of smoking (yr)					
no	118	7,0	442	31,4	reference
<20	708	41,7	506	35,9	5,24 (4,15-6,61)
≥20	871	51,3	461	32,7	7,07 (5,61-8,93)
p-trend					0,000
Alcohol					
Never	171	10,1	445	31,6	reference
Current	999	58,9	572	40,6	4,54 (3,70-5,57)
Former	526	31,0	391	27,8	3,50 (2,81-4,36)
p-trend					0,000
Duration of drinking (yr)					
no	165	9,7	442	31,4	3,12 (2,45-3,98)
<20	315	18,6	270	19,2	4,68 (3,82-5,72)
≥20	1217	71,7	697	49,5	0,000
p-trend					
Drinks / day					
no	162	9,5	445	31,6	reference
<1	185	10,9	220	15,6	2,31 (1,77-3,01)
1-2	88	5,2	104	7,4	2,32 (1,66-3,25)
2-3	93	5,5	80	5,7	3,19 (2,25-4,52)
3-4	502	29,6	259	18,4	5,32 (4,21-6,73)
≥4	667	39,3	301	21,4	6,08 (4,85-7,63)
p-trend					0,000

TABLE 12 – Oral Health Indicators in oral cancer subjects in Brazil

VARIABLE	BRAZIL				OR (CI 95%)
	CASES n (%)		CONTROLS n (%)		
	1697	54,67	1409	45,36	
Hygiene					
Good	151	13,7	316	22,5	reference
Average	359	32,5	589	41,4	1,29 (1,02-1,63)
Poor	501	45,4	319	22,7	3,29 (2,59-4,18)
missing	92	8,3	192	13,8	
p-trend					0,000
Toothbrush (times/day)					
≥1	836	75,8	1158	82,4	reference
<1	99	9,0	102	7,3	1,34 (1,00-1,80)
missing	168	15,2	145	10,3	
p-trend					0,046
Denture					
No	526	47,7	578	41,1	reference
Yes	576	52,2	822	58,5	0,77 (0,66-0,90)
p-trend					0,001
Missing teeth					
≤ 5	155	14,1	273	19,4	reference
6-15	310	28,1	353	25,1	1,55 (1,20-1,98)
>15	550	49,9	599	42,6	1,62 (1,29-2,03)
missing	88	8,0	180	12,8	
p-trend					0,000
Dental check-ups					
Every year	81	7,3	149	10,6	reference
Every 2-5yr	135	12,2	253	18,0	0,98 (0,70-1,38)
> Every 5yr	395	35,8	537	38,2	1,35 (1,00-1,83)
Never	485	44,0	439	31,2	2,03 (1,50-2,74)
p-trend					0,000
Gum bleeding					
No	708	64,2	955	68,0	reference
Yes	258	23,4	321	22,8	1,08 (0,90-1,31)
missing	137	12,4	131	9,6	
p-trend					0,406
Mouthwash					
No	861	78,1	1183	84,2	reference
Yes	230	20,9	206	14,7	1,53 (1,25-1,89)
missing	12	1,1	20	1,6	
p-trend					0,000

TABELA 13 – Multivariable model from risk factors for oral and laryngeal cancer in Brazil

VARIABLE	BRAZIL	
	OR	CI 95%
Smoking		
Never	1,00	reference
Current	7,19	5,36- 9,65 (p < 0,000)
Former	2,60	1,91- 3,52 (p < 0,000)
Alcohol		
Never	1,00	reference
Current	2,51	1,94- 3,26 (p < 0,000)
Former	2,08	1,59- 2,74 (p < 0,000)
Hygiene		
Good	1,00	reference
Average	0,77	0,61- 0,97 (p < 0,029)
Poor	1,43	1,11- 1,82 (p < 0,005)
Missing teeth		
≤ 5	1,00	reference
6-15	1,37	1,05- 1,79 (p < 0,018)
>15	1,43	1,11- 1,83 (P < 0,005)
Dental check-ups		
Every year	1,00	reference
Every 2-5yr	1,10	0,76- 1,60 (P < 0,597)
> Every 5yr	1,35	0,97- 1,88 (P < 0,075)
Never	1,99	1,42- 2,78 (P < 0,000)
Mouthwash		
No	1,00	reference
Yes	1,71	1,35- 2,17 (p < 0,000)

Odds ratios (OR) adjusted for age, alcohol consumption, tobacco consumption, quality of oral hygiene, missing teeth, Dental check-ups and mouthwash use.

TABELA 14 – Univariate analysis from smoking and drinking habits in males in Brazil

VARIABLE	BRAZIL				OR (CI 95%)
	CASES		CONTROLS		
	n	%	n	%	
	1442	56,37	1116	43,62	
Smoking					
Never	69	4,8	264	23,7	reference
Current	902	62,6	443	39,7	16,68(11,66-23,84)
Former	470	32,6	409	36,6	5,77(3,99-8,35) p< 0,000
Number of cigarettes					
no	57	4,0	272	24,4	reference
<20	773	53,6	512	45,9	7,20(5,30-9,79)
≥20	612	42,4	332	29,7	8,80(6,42-12,06) p< 0,000
Duration of smoking (yr)					
no	56	3,9	274	24,6	reference
<20	621	43,1	447	40,1	6,80(4,97-9,29)
≥20	765	53,1	395	35,4	9,48(6,93-12,95) p< 0,000
Alcohol					
Never	69	4,8	244	21,9	reference
Current	902	62,6	510	45,7	6,25(4,69-8,35)
Former	470	32,6	361	32,3	4,60(3,40-6,22) p< 0,000
Duration of drinking (yr)					
no	61	4,2	238	21,3	reference
<20	260	18,0	234	21,0	4,33(3,11-6,04)
≥20	1121	77,7	644	57,7	6,79(5,04-9,14) p< 0,000
Drinks / day					
no	58	4,0	240	21,5	reference
<1	134	9,3	168	15,1	3,30(2,29-4,76)
1-2	74	5,1	91	8,2	3,36(2,21-5,12)
2-3	77	5,3	75	6,7	4,25(2,77-6,52)
3-4	465	32,2	248	22,2	7,76(5,60-10,74)
≥4	634	44,0	294	26,3	8,92(6,49-12,27) p< 0,000

TABELA 15 – Univariate analysis from smoking and drinking habits in females in Brazil

VARIABLE	BRAZIL				OR (CI 95%)
	CASES		CONTROLS		
	n	%	n	%	
	254	46,43	293	53,56	
Smoking					
Never	50	19,7	165	56,3	reference
Current	156	61,4	60	20,5	8,59(5,56-13,25)
Former	48	18,9	68	23,2	2,33(1,43-3,79)
					p< 0,000
Number of cigarettes					
no	62	24,4	167	57,0	reference
<20	136	53,5	90	30,7	4,07(2,74-6,04)
≥20	56	22,0	36	12,3	4,19(2,52-6,98)
					p< 0,000
Duration of smoking (yr)					
no	61	24,0	168	53,7	reference
<20	87	34,3	59	20,1	4,06(2,61-6,32)
≥20	106	41,7	66	22,5	4,42(2,90-6,76)
					p< 0,000
Alcohol					
Never	101	39,8	201	68,6	reference
Current	97	38,2	62	21,2	3,11(2,09-4,64)
Former	56	22,0	30	10,2	3,71(2,24-6,15)
					p< 0,000
Duration of drinking (yr)					
no	103	40,6	204	69,6	reference
<20	55	21,7	36	12,3	3,02(1,87-4,90)
≥20	96	37,8	53	18,1	3,59(2,38-5,40)
					p< 0,000
Drinks / day					
no	103	40,6	205	70,0	reference
<1	51	20,1	52	17,7	1,95(1,24-3,07)
1-2	14	5,5	13	4,4	2,14(0,97-4,73)
2-3	16	6,3	05	1,7	6,37(2,27-17,87)
3-4	37	14,6	11	3,8	6,70(3,28-13,66)
≥4	33	13,0	07	2,4	9,38(4,01-21,94)
					p< 0,000

TABELA 16 – Smoking and drinking habits in cases and controls females

VARIABLE	PORTO ALEGRE					SÃO PAULO					RIO DE JANEIRO					GOIÂNIA				
	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)
	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%	
Smoking	48	37,8	79	62,2		75	42,6	101	57,4		63	52,0	58	47,9		68	55,3	55	44,7	
Never	19	39,6	53	67,1	reference	10	13,3	59	58,4	reference	15	23,8	29	50,0	reference	06	8,8	22	40,0	reference
Current	21	43,8	14	17,7	4,18(1,77-9,84)	52	69,3	21	20,8	14,61(6,30-33,8)	37	58,7	14	24,1	5,11(2,12-12,26)	46	67,6	11	20,0	15,33(5,01-46,85)
Former	08	16,7	12	15,2	1,86(0,65-5,24)	13	17,3	21	20,8	3,65(1,39-9,56)	11	17,5	15	25,9	1,41(0,52-3,84)	16	23,5	22	40,0	2,66(0,88-8,08)
p-trend					p< 0,004					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000
Number of cigarettes																				
no	19	39,6	53	67,1	reference	13	17,3	61	60,4	reference	19	30,2	32	55,2	reference	11	16,2	21	38,2	reference
<20	16	33,3	19	24,1	2,35(1,00-5,47)	44	58,7	27	26,7	7,64(3,55-16,4)	32	50,8	18	31,0	2,99(1,33-6,72)	44	64,7	26	47,3	3,23(1,34-7,75)
≥20	13	27,1	07	8,9	5,18(1,80-14,9)	18	24,0	13	12,9	6,50(2,56-16,5)	12	19,0	08	13,8	2,52(0,87-7,28)	13	19,1	08	14,5	3,10(0,99-9,73)
p-trend					p< 0,008					p< 0,000					p< 0,019					p< 0,021
Duration of smoking (yr)																				
no	19	39,6	53	67,1	reference	12	16,0	61	60,4	reference	19	30,2	32	55,2	reference	11	16,2	22	40,0	reference
<20	11	22,9	08	10,1	3,83(1,34-10,9)	33	44,0	21	20,8	7,99(3,49-18,24)	32	50,8	19	32,8	2,66(1,18-5,96)	13	19,1	11	20,0	2,36(0,80-6,96)
≥20	18	37,5	18	22,8	2,79(1,20-6,44)	30	40,0	19	18,8	8,02(3,44-18,6)	12	19,0	07	12,1	3,37(1,15-9,82)	44	64,7	22	40,0	4,00(1,64-9,70)
p-trend					p< 0,008					p< 0,000					p< 0,018					p< 0,007
Alcohol																				
Never	30	62,5	61	77,2	reference	28	37,3	77	76,2	reference	23	36,5	35	60,3	reference	20	29,4	28	50,9	reference
Current	07	14,6	10	12,7	1,42(0,49-4,10)	26	34,7	15	14,9	4,76(2,21-10,28)	25	39,7	18	31,0	2,11(0,94-4,71)	34	50,0	17	30,9	2,80(1,23-6,34)
Former	11	22,9	08	10,1	2,80(1,01-7,67)	21	28,0	09	8,9	6,41(2,62-15,66)	15	23,8	05	8,6	4,56(1,45-14,28)	14	20,6	10	18,2	1,96(0,72-5,30)
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,013					p< 0,041
Duration of drinking (yr)																				
no	30	62,5	61	77,2	reference	31	41,3	79	78,2	reference	23	36,5	35	60,3	reference	11	16,2	29	52,7	reference
<20	04	8,3	02	2,5	4,04(2,44-6,70)	14	18,7	08	7,9	4,46(1,70-11,68)	21	33,3	12	20,7	2,66(1,1,-6,44)	13	19,1	14	25,5	1,74(0,69-4,38)
≥20	14	29,2	16	20,3	3,48(2,43-5,00)	30	40,0	14	13,9	5,46(2,55-11,65)	19	30,2	11	19,0	2,62(1,05-6,53)	44	64,7	12	21,8	4,20(1,74-10,10)
p-trend					p< 0,046					p< 0,000					p< 0,031					p< 0,004
Drinks/day																				
no	30	62,5	61	77,2	reference	31	41,3	80	79,2	reference	23	36,5	35	60,3	reference	19	27,9	29	52,7	reference
<1	06	12,5	11	13,9	1,10(0,37-3,28)	15	20	14	13,9	2,76(1,19-6,39)	13	20,6	13	22,4	1,52(0,60-3,86)	17	25,0	14	25,5	1,85(0,74-4,62)
1-2	03	6,3	03	3,8	2,03(0,38-10,6)	05	6,7	03	3,0	4,30(0,96-19,0)	03	4,8	02	3,4	2,28(0,35-14,73)	03	4,4	05	9,1	0,91(0,19-4,28)
2-3	01	2,1	03	3,8	0,67(0,06-6,79)	04	5,3	01	1,0	10,32(1,11-96,0)	07	11,1	01	1,7	10,65(1,22-92,4)	04	5,9	0	0	-
3-4	02	4,2	0	0	-	11	14,7	01	1,0	28,38(3,5-229,2)	07	11,1	04	6,9	2,66(0,70-10,13)	17	25,0	06	10,9	4,32(1,44-12,94)
≥4	06	12,5	01	1,3	12,2(1,40-105)	09	12,0	02	2,0	11,61(2,37-56,8)	10	15,9	03	5,2	5,07(1,25-20,43)	08	11,8	01	1,8	12,21(1,41-105-6)
p-trend					p< 0,030					p< 0,000					p< 0,030					p< 0,002

TABELA 17 – Smoking and drinking habits in cases and controls males

VARIABLE	PORTO ALEGRE					SÃO PAULO					RIO DE JANEIRO					GOIÂNIA					
	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	
	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%		
	294	47,2	329	52,8		439	53,5	382	46,5		380	66,3	193	33,7		329	60,8	212	39,2		
Smoking																					
Never	05	1,7	83	25,2	reference	15	3,4	84	22,0	reference	11	2,9	47	24,4	reference	07	2,1	49	23,1	reference	
Current	218	74,1	116	35,3	31,2(12,3-79,08)	336	76,5	157	157	11,98(6,70-21,4)	279	73,4	91	47,2	13,1(6,52-26,3)	230	69,9	78	36,8	20,6(8,97-43,45)	
Former	71	24,1	130	39,5	9,06(3,51-23,40)	87	19,8	141	141	3,45(1,87-6,36)	90	23,7	55	28,5	6,99(3,34-14,6)	92	28,0	85	40,1	7,57(3,25-17,63)	
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000	
Number of cigarettes																					
no	08	2,7	83	25,2	reference	26	5,9	91	23,8	reference	15	3,9	49	25,4	reference	08	2,4	49	23,1	reference	
<20	128	43,5	123	37,4	10,80(5,01-23,2)	195	44,4	176	46,1	3,87(2,40-6,27)	233	61,3	102	52,8	7,46(4,00-13,92)	217	66,0	111	52,4	11,97(5,48-26,16)	
≥20	158	53,7	123	37,4	13,32(6,21-28,6)	218	49,7	115	30,1	6,63(4,06-10,84)	132	34,7	42	21,8	10,27(5,23-20,1)	104	31,6	52	24,5	12,25(5,40-27,75)	
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000	
Duration of smoking																					
no	09	3,1	84	25,5	reference	25	5,7	92	24,1	reference	14	3,7	49	25,4	reference	08	2,4	49	23,1	reference	
<20years	86	29,3	83	25,2	9,67(4,56-20,48)	179	40,8	192	50,3	3,43(2,10-5,58)	275	72,4	102	52,8	9,16(4,85-17,30)	82	24,9	66	31,1	7,61(3,37-17,18)	
≥20years	199	67,7	162	49,2	11,46(5,60-23,5)	235	53,5	98	25,7	8,82(5,34-14,56)	91	23,9	42	21,8	8,16(4,04-16,48)	239	72,6	97	45,8	15,09(6,89-33,04)	
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000	
Alcohol																					
Never	23	7,8	107	32,5	reference	17	3,9	72	18,8	reference	11	2,9	34	17,6	reference	18	5,5	31	14,6	reference	
Current	180	61,2	121	36,8	6,92(4,17-11,48)	246	56,0	138	36,1	7,55(4,27-13,32)	246	64,7	111	57,5	6,85(3,35-14,01)	182	55,3	112	52,8	2,80(1,49-5,23)	
Former	91	31,0	101	30,7	4,20(2,46-7,13)	176	40,1	171	44,8	4,36(2,47-7,70)	123	32,4	48	24,9	7,92(3,71-16,89)	128	38,9	69	32,5	3,19(1,66-6,12)	
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000	
Duration of drinking																					
no	24	8,2	103	31,3	reference	46	8,9	151	31,3	reference	10	2,6	33	17,1	reference	12	3,6	30	14,2	reference	
<20years	52	17,7	40	12,2	5,58(3,04-10,22)	70	13,6	92	19,0	2,49(1,58-3,93)	105	27,6	68	35,2	5,09(2,35-11,01)	47	14,3	42	19,8	2,80(1,27-6,15)	
≥20years	218	74,1	186	56,5	5,03(3,09-8,17)	398	77,4	240	49,7	5,44(3,77-7,85)	265	69,7	92	47,7	9,50(4,50-20,04)	270	82,1	140	66,0	4,82(2,39-9,70)	
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000	
Drinks/day																					
no	25	8,5	103	31,3	reference	44	8,6	154	31,9	reference	10	2,6	33	17,1	reference	10	3,0	30	14,2	reference	
<1	20	6,8	43	13,1	1,91(0,96-3,81)	48	9,3	72	14,9	2,33(1,42-3,83)	31	8,2	22	11,4	4,65(1,90-11,36)	50	15,2	45	21,2	3,33(1,46-7,58)	
1-2	14	4,8	25	7,6	2,30(1,05-5,06)	23	4,5	27	5,6	2,98(1,55-5,70)	19	5,0	24	12,4	2,61(1,03-6,61)	23	7,0	18	8,5	3,83(1,49-9,86)	
2-3	15	5,1	24	7,3	2,57(1,18-5,61)	29	5,6	27	5,6	3,75(2,01-7,00)	23	6,1	13	6,7	5,83(2,18-15,57)	14	4,3	12	5,7	3,50(1,22-10,02)	
3-4	81	27,6	55	16,7	6,06(3,48-10,57)	166	32,3	99	20,5	5,86(3,86-8,90)	98	25,8	37	19,2	8,74(3,92-19,49)	130	39,5	58	27,4	6,72(3,08-14,66)	
≥4	139	43,7	79	24,0	7,25(4,32-12,15)	204	39,7	104	21,5	6,86(4,55-10,3)	199	52,4	64	33,2	10,26(4,79-21,9)	102	31,0	49	23,1	6,24(2,82-13,80)	
p-trend					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000					p< 0,000	

TABELA 18 – Multivariable analysis in females subjects

VARIABLE	PORTO ALEGRE		SÃO PAULO		RIO DE JANEIRO		GOIÂNIA	
	OR	CI 95%	OR	CI 95%	OR	CI 95%	OR	CI 95%
Smoking								
Never	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference
Current	4,15	1,54-11,2 (p < 0,005)	11,30	4,53-28,1 (p < 0,000)	4,62	1,72-12,36 (p < 0,002)	12,31	3,85-39,33 (p < 0,000)
Former	1,60	0,52-4,87 (p < 0,410)	3,86	1,41-10,5 (p < 0,001)	0,93	0,31-2,75 (p < 0,896)	2,08	0,64-6,75 (p < 0,220)
Alcohol								
Never	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference
Current	0,70	0,21-2,38 (p < 0,576)	2,87	1,19-6,90 (p < 0,018)	1,27	0,49-3,24 (p < 0,617)	1,76	0,66-4,68 (p < 0,258)
Former	1,70	0,54-5,30 (p < 0,363)	3,62	1,31-10,0 (p < 0,013)	3,96	1,11-14,17 (p < 0,034)	1,44	0,45-4,58 (p < 0,535)

OR adjusted for age, alcohol and tobacco consumption.

TABELA 19 – Multivariable analysis in males subjects

VARIABLE	PORTO ALEGRE		SÃO PAULO		RIO DE JANEIRO		GOIÂNIA	
	OR	CI 95%	OR	CI 95%	OR	CI 95%	OR	CI 95%
Smoking								
Never	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference
Current	21,04	8,16-54,24 (p < 0,000)	9,12	4,99-16,6 (p < 0,000)	9,74	4,55-20,81 (p < 0,000)	18,59	8,00-43,19 (p < 0,000)
Former	6,81	2,60-17,87 (p < 0,000)	2,85	1,51-5,39 (p < 0,001)	4,58	2,09-10,02 (p < 0,000)	6,01	2,54-14,23 (p < 0,000)
Alcohol								
Never	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference	1,00	reference
Current	4,01	2,27-7,09 (p < 0,000)	4,11	2,22-7,61 (p < 0,000)	2,78	1,20-6,41 (p < 0,017)	2,15	1,05-4,39 (p < 0,034)
Former	3,06	1,71-5,49 (p < 0,000)	2,75	1,48-5,09 (p < 0,001)	3,57	1,51-8,43 (p < 0,004)	2,79	1,33-5,85 (p < 0,007)

OR adjusted for age, alcohol and tobacco consumption.



TABELA 20 – Univariate analysis from oral health indicators in cases and controls subjects

VARIABLE	PORTO ALEGRE					SÃO PAULO					RIO DE JANEIRO					GOIÂNIA				
	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)
n	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%	
Hygiene																				
Good	71	20,8	141	34,6	reference	64	12,5	54	11,2	reference	81	18,3	66	26,3	reference	55	13,9	55	20,5	reference
Average	102	29,8	166	40,7	1,22 (0,84-1,78)	157	30,5	208	43,1	0,63 (0,42-0,96)	187	42,2	125	49,8	1,22 (0,82-1,81)	94	23,7	86	32,1	1,09(0,68-1,75)
Poor	150	43,9	81	19,9	3,68 (2,48-5,45)	222	43,2	127	26,3	1,47 (0,96-2,25)	163	36,8	54	21,5	2,46 (1,57-3,85)	169	42,6	58	21,6	2,91(1,80-4,70)
missing	19	5,6	20	4,9	p< 0,000	71	13,8	94	19,5	p< 0,000	12	2,7	06	2,4	p< 0,000	79	19,9	69	25,7	p< 0,000
p-trend																				
Toothbrush (times/day)					reference					reference					reference					reference
<1	274	80,1	334	81,8	1,35 (0,72-2,52)	411	80,0	409	84,7	0,87 (0,56-1,36)	268	60,5	187	74,5	0,374 (0,15-0,93)	321	80,7	232	86,9	1,21 (0,73-1,99)
≥1	17	4,97	28	6,86	p< 0,340	46	8,9	40	8,2	p< 0,552	23	5,19	06	2,39	p< 0,023	47	11,8	28	10,5	p< 0,444
missing	51	14,9	46	11,3		57	11,1	34	7,03		152	34,3	58	23,1		30	7,5	07	2,6	
p-trend																				
Denture					reference					reference					reference					reference
Yes	161	47,1	153	37,5	0,68 (0,50-0,91)	241	46,9	191	39,5	0,74 (0,58-0,96)	209	47,2	113	45,0	0,91 (0,67-1,25)	164	41,2	122	45,7	1,20 (0,87-1,64)
No	181	52,9	253	62,0	p< 0,012	272	52,9	289	59,8	p< 0,027	234	52,8	138	55,0	p< 0,639	234	58,8	145	54,3	p< 0,252
missing	-	-	02	0,5		01	0,20	03	0,62		-	-	-	-		-	-	-	-	
p-trend																				
Missing teeth					reference					reference					reference					reference
≤ 5	35	10,2	63	15,4	1,81 (1,13-2,91)	60	11,7	73	15,1	1,54 (1,00-2,35)	55	12,4	64	25,5	2,19 (1,34-3,60)	58	14,6	73	27,2	2,17(1,33-3,53)
6-15	144	42,1	143	35,0	1,41 (0,83-2,25)	135	26,3	107	22,2	1,45 (0,98-2,14)	98	22,1	52	20,7	2,52 (1,66-3,81)	88	22,2	51	19,0	2,81(1,81-4,36)
>15	144	42,1	184	45,1	p< 0,035	249	48,4	209	43,3	p< 0,112	290	65,5	134	53,4	p< 0,000	170	42,8	76	28,4	p< 0,000
missing	19	5,60	18	4,50		70	13,6	94	19,5		-	-	01	0,4		81	20,4	68	25,4	
p-trend																				
Dental check-ups					reference					reference					reference					reference
Every year	31	9,10	34	8,3	0,95 (0,52-1,73)	36	7,0	70	14,5	1,30 (0,78-2,17)	20	4,50	31	12,4	1,50 (0,72-3,15)	26	6,5	14	5,2	0,46(0,21-0,98)
Every 2-5yr	59	17,3	68	16,7	0,80 (0,47-1,38)	65	12,6	97	20,1	2,10 (1,33-3,32)	33	7,40	34	13,5	4,20 (2,28-7,70)	49	12,3	57	21,3	0,71(0,36-1,43)
> Every 5yr	121	35,4	165	40,4	1,04 (0,61-1,80)	172	33,5	159	32,9	p< 0,000	136	30,7	92	36,7	p< 0,000	164	41,2	123	46,1	p< 0,000
Never	129	37,7	135	33,1	p< 0,471	234	45,5	141	29,2		254	57,3	94	37,5		156	39,2	68	25,5	
missing	02	0,60	06	1,50		07	1,40	16	3,30		-	-	-	-		03	0,8	05	1,9	
p-trend																				
Gum bleeding					reference					reference					reference					reference
No	221	64,6	289	70,8	1,32 (0,92-1,88)	371	72,2	361	74,7	1,00 (0,72-1,38)	198	44,7	131	52,2	0,967 (0,65-1,42)	287	72,1	178	66,7	0,74 (0,52-1,05)
Yes	81	23,7	80	19,6	p< 0,121	96	18,7	93	19,2	p< 1,000	100	22,6	64	25,5	p< 0,943	101	25,4	84	31,5	p< 0,096
missing	40	11,7	39	9,60		47	9,14	29	6,00		145	32,7	56	22,3		10	2,5	05	1,9	
p-trend																				
Mouthwash					reference					reference					reference					reference
No	291	85,1	373	91,4	1,92 (1,19-3,08)	395	76,8	379	78,5	1,09 (0,80-1,49)	376	84,9	206	82,0	0,77 (0,51-1,18)	294	73,9	227	85,0	2,09 (1,38-3,15)
Yes	48	14,0	32	7,8	p< 0,009	106	20,6	93	19,2	p< 0,629	64	14,4	45	18,0	p< 0,287	103	25,9	38	14,2	p< 0,001
missing	03	0,90	03	0,73		13	2,53	11	2,27		03	0,70	-	-		01	0,3	02	0,7	
p-trend																				

TABELA 21 – Mate drinking in cases and controls

VARIABLES	PORTO ALEGRE					SÃO PAULO					RIO DE JANEIRO					GOIÂNIA				
	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)	CASES		CONTROLS		OR (CI 95%)
	n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%		n	%	n	%	
Mate	342	45,6	408	54,4		514	51,6	483	48,4		443	63,8	251	37,2		398	59,9	267	40,1	
Yes	57	16,6	115	28,2	reference	467	90,8	450	93,1	reference	434	97,9	244	97,2	reference	382	96,0	249	93,3	reference
No	285	83,3	293	71,8	1,96 (1,37-2,80)	43	8,36	30	6,21	1,38 (0,85-2,24)	09	2,03	07	2,79	0,72 (0,26-1,96)	16	4,0	18	6,7	0,57 (0,29-1,15)
missing	-	-	-	-	p < 0,000	04	0,77	03	0,62	p < 0,234					p < 0,707					p < 0,167
Duration of drinking																				
<20years	55	19,3	47	16,0	reference	33	76,7	20	66,6	reference	05	55,5	03	42,8	reference	03	18,7	07	38,9	reference
≥20years	225	79,0	243	82,9	0,75 (0,62-0,89)	06	13,9	10	33,3	0,36 (0,11-1,15)	02	22,2	-	-	1,60 (0,93-2,73)	11	68,7	11	61,1	0,42 (0,87-2,10)
missing	05	1,75	03	1,02	p < 0,285	04	9,30	-	-	p < 0,143	02	22,2	04	57,1	p < 0,863	02	12,5	-	-	p < 0,501
p-trend																				
Temperature																				
hot	82	28,8	37	12,6	reference	08	18,6	07	23,3	reference	03	33,3	02	28,6	reference	03	18,7	05	27,7	reference
cold	202	70,9	256	87,3	0,35 (0,23-0,54)	20	46,5	21	70,0	0,83 (0,25-2,72)	06	66,6	02	28,6	2,00 (0,18-22,0)	11	68,7	12	66,6	1,52 (0,29-7,94)
missing	01	0,35	-	-	p < 0,000	15	34,9	02	6,66	p < 1,000	-	-	03	42,8	p < 1,000	02	12,5	01	5,5	p < 0,926
p-value																				

## References

1. Ferlay J, Bray F, Pizani P, Parkin DM. Globocan 2000: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. Version 1. International Agency for Research on Cancer (IARC). Cancer base n5. Lyon (France); IARC Press; 2001.
2. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, et al., Cancer incidence in five continents. Vol VIII. Lyon: IARC, 2002. (IARC Scientific Publications N155).
3. Instituto Nacional do Câncer. Ministério da Saúde. Estimativa 2006: Incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro (Brasil): INCA; 2006. Disponível em <http://www.inca.gov.br>. Acessado em março de 2006.
4. Wünsch Filho V. The epidemiology of laryngeal cancer in Brazil. São Paulo Med J :122 (5): 188-94, 2004.
5. Shiboski CH, Shiboski SC, Silverman S, et al., Trends in oral cancer rates in the United States, 1973-1996. Community Dent Oral Epidemiol, 28(4): 249-256, 2000.
6. Gillison ML, Shah KV. Human papillomavirus-associated head and neck squamous cell carcinoma: mounting evidence for an etiologic role for HPV in a subset of head and neck cancers. Curr Opin Oncol; 13: 183-188, 2001.
7. Boffetta P. Hashibe M.: Alcohol and Cancer. The Lancet 7: 149-156, 2006.
8. Ringström E, Peters E, et al: Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of head and neck.. Clin Cancer Res. 2002 Oct; 8: 3187- 3192.
9. Herrero R.: Human papillomavirus and cancer of the upper aerodigestive tract. J Natl Cancer Inst Monographs n 31, 2003.

10. Elmore J, Horwitz R. Oral cancer and mouthwash use: Evaluation of epidemiologic evidence. *Otolaryngology – Head and Neck Surgery* 113 (3): 253-61,1995.
11. Velly AM, Franco EL, Schlecht N, Pintos J, Kowalski L, Oliveira B. Relationship between dental factors and risk of upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncol* 1998; 34:284-91.
12. De Stefani E, Ronco A, Medilaharsu M, Deneo-Pellegrini H. Diet and risk of cancer of the upper aerodigestive tract II. Nutrients. *Oral Oncol* 1999; 35: 22-26.
13. Schildt E, Eriksson M, Hardell L, Magnuson A. *Oncol Rep.* 1999 Mar-Apr; 6(2):317-20.
14. Quon H, Hershock D, Feldman M, Sewell D, Weber R. Cancer of the head and neck. Chapter 71: 1497-1560 IN *Clinical Oncology*. 3<sup>rd</sup> edition. Abeloff M, Armitage JO, Niederhuber JE, Kastan MB, McKenna WG. Elsevier Churchill Livingstone, 2004.
16. Doll R, Peto R, Boreham J, Sutherland I. Mortality in relation to smoking: 50 years' observation on male british doctors. *Brit Med J*, 2004; 328: 1519.
17. IARC Working Group, Lyon 23-30 October 1986: Tobacco smoking. IARC Monograph Eval Carcinog Risk Chem Hum 1986; 38: 1-421.
18. International Agency for Research on Cancer. Alcohol drinking. 1988; IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, vol 44. Lyon: IARC.
19. Pitot III HC, Dragan YP. Chemical carcinogenesis. Chapter 8: 201-267 IN Caserett & Doull's *Toxicology. The basic science of poisons*. 5<sup>th</sup> edition. Klaassen CD. McGraw Hill, 1996.

20. Altieri A, Garavello W, Bosetti C, Gallus S, La Vecchia C. Alcohol consumption and risk of laryngeal cancer. *Oral Oncology*. 2005; 41 (10): 956-65.
21. Viswanathan H, Wilson JA. Alcohol- the neglected risk factor in head and neck cancer. *Clin. Otolaryngol*. 2004, 29: 295-300.
22. Stewart BW, Kleihues P (Eds). *World Cancer Report, 2003*; IARC Press, Lyon.
23. Velly AM, Franco EL, Schlecht N, Pintos J, Kowalski LP, Oliveira BV, et al. Relationship between dental factors and risk of upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncol*. 1998; 34 (4): 284-91.
24. Winn DM, Blot WJ, McLaughlin JK, et al. Mouthwash use and oral conditions in the risk of oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 3044-7.
25. Elmore J, Horwitz R. Oral cancer and mouthwash use: Evaluation of the epidemiologic evidence. *Otolaryngol Head and Neck Surg*. 1995; 113 (3).
26. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Coordenação de Prevenção e Vigilância. *Estimativa 2006: Incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: INCA, 2005. 94p. il. Bibliografia ISBN 85-7318-112-5
27. Room R, Babor T, Rehm J. Alcohol and public health. *The Lancet* 2005, 385: 519-530.
28. Eyre H, Kahn R, Robertson RM, and the ACS/ADA/AHA Collaborative Writing Committee. Preventing Cancer, Cardiovascular Disease, and Diabetes. A Common Agenda for the American Cancer Society, the American Diabetes Association, and the American Heart Association. *Circulation*. 2004;109:3244-3255.

29. Derek Yach D, Hawkes C, Gould CL, Hofman KJ. The Global Burden of Chronic Diseases. Overcoming Impediments to Prevention and Control. JAMA 2004, 291 (21):2616-2622.

## RESUMO DO ARTIGO

Objetivo: avaliar o papel dos fatores de risco para câncer de cavidade oral e laringe em quatro regiões brasileiras. Métodos: Estudo de caso-controle de base hospitalar foi conduzido de 1998 a 2003. Casos novos diagnosticados de câncer de cavidade oral e de laringe e controles para comparação foram recrutados em 5 cidades do Brasil: Pelotas (142 casos e 243 controles), Porto Alegre (200 casos e 165 controles), São Paulo (514 casos e 483 controles), Rio de Janeiro (443 casos e 251 controles) e Goiânia (398 casos e 267 controles). Pelotas foi analisado em conjunto com Porto Alegre com amostra representativa da região sul. Participantes foram entrevistados a respeito de sua história de exposição a fatores ambientais e de estilo de vida. Em relação à análise estatística, inicialmente odds ratios brutos (OR) e respectivos intervalos de confiança (IC 95%) foram calculados para cada centro. Em um segundo momento, modelos de regressão logística multivariada, contendo todas as variáveis que tiveram significância estatística na análise univariada, foram utilizados para determinar o efeito dos múltiplos fatores de risco para câncer de cavidade oral e laringe. Odds ratios (OR) ajustados e respectivos intervalos de confiança (IC 95%) foram estimados usando variáveis relevantes para cada centro ( $p < 0,05$ ). Resultados: câncer de cavidade oral e laringe foram fortemente associados com o consumo de cigarros. Comparando com quem nunca fumou, o risco foi aumentado para quem fuma atualmente (OR: 11,68 95% IC: 9,09-15,01) e permaneceu aumentado para ex-fumantes (OR: 3,92 95% IC: 3,00-5,10). Um aumento significativo no risco de câncer de cavidade oral e laringe relacionado ao consumo de álcool

foi observado no Brasil: OR de 4,54 (95% CI: 3,70-5,57) para bebedores atuais e OR de 3,50 (95% CI: 2,81-4,36) para ex-bebedores. Foi identificada uma relação de dose-resposta entre o risco de câncer e a quantidade de álcool consumida. A associação foi significativa até para consumos < 50 drinques-ano. Higiene oral precária foi um fator de risco significativo no Brasil (OR: 1,52 95% CI:1,19-1,94). Frequência da escovação dentária, uso de prótese dentária e sangramento gengival não foram associados com o risco destes tipos de câncer. Em nosso estudo, não foi encontrada associação entre a infecção pelo HPV e o risco de câncer de cavidade oral e laringe. Na análise multivariada tabaco e álcool permaneceram como importantes fatores de risco. Indicadores de saúde oral apresentaram-se como possíveis co-fatores do desenvolvimento do câncer de cavidade oral e laringe. Conclusões: em nossos resultados o principal fator de risco para câncer de cavidade oral e laringe foi o fumo seguido do consumo de álcool, com uma clara relação de dose-resposta. Também foi encontrada uma associação significativa entre higiene oral precária e risco destes tipos de câncer, exceto na cidade de São Paulo. Ressaltamos que a maneira mais importante de reduzir a incidência de câncer de cabeça e pescoço é minimizar ou eliminar o uso de álcool e tabaco. Então, a prevenção primária através da intervenção nos fatores de risco é fortemente recomendada. Quanto à prevenção secundária, o rastreamento oportunista é menos sistemático, mas mais custo-efetivo do que o rastreamento populacional. O rastreamento para câncer oral e lesões pré-malignas precisa se tornar parte do exame de rotina, principalmente em indivíduos com as exposições de risco fortemente estabelecidas (álcool e tabaco). Programas em atenção primária, para detecção precoce de lesões orais devem ser encorajados.



## CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho apresentado faz parte de um estudo multicêntrico para avaliar fatores de risco de câncer de cabeça e pescoço, coordenado pela IARC (International Agency for Research on Cancer). A elaboração do estudo, aqui em Porto Alegre, iniciou em 1998. Tive a oportunidade de participar desde a tradução do material, seleção e treinamento de entrevistadores, seleção dos pacientes e até mesmo assistir reuniões onde eram definidos critérios para os centros brasileiros. Com certeza foi uma vivência muito enriquecedora pessoalmente e profissionalmente. O banco de dados foi uma das conseqüências desta experiência.

Como foram abordadas muitas questões nas entrevistas com os pacientes, ainda existem muitos temas a serem explorados em análises posteriores. Estas, em um segundo momento, podem ser divididas por topografia, para que possam ser avaliados quais sítios anatômicos estão mais propensos aos fatores de risco abordados.

O estudo vem tendo continuidade em outros centros brasileiros e o próximo passo em Porto Alegre é a avaliação do questionário ocupacional, que fornece informações suficientes sobre a exposição do paciente em relação a este fator de risco. Além disso, serão melhor abordadas as características demográficas da população do estudo, especialmente escolaridade.

Relativo às limitações do estudo, sabe-se que quando se solicita que casos e controles relembrem suas exposições prévias, a aferição fica predisposta a erros. A própria condição da doença pode afetar suas respostas e a própria exposição. Por exemplo, muitos pacientes podem ser identificados como ex-

fumantes e ex-bebedores devido à doença já instalada. Além disso, ter a doença em questão pode afetar a recordação do paciente em relação à exposição, o que se chama viés recordatório. No presente estudo, não foram utilizadas outras fontes alternativas de informação para que este tipo de viés pudesse ser controlado. Além disso, não houve cegamento dos entrevistadores em relação à questão de pesquisa. Outro ponto importante e que necessita ser mais bem explorado são as diferenças sociais na população do estudo. Muitos dos co-fatores levantados no estudo podem ser decorrentes das diferenças sociais existentes no Brasil, das dificuldades de acesso aos serviços de saúde, principalmente no que diz respeito à higiene bucal.

Devido à relativa insuficiência de informações epidemiológicas sobre câncer de cabeça e pescoço, em países em desenvolvimento, esperamos que o nosso estudo, com 1697 casos representativos de áreas de risco no Brasil, possa acrescentar dados sobre os fatores de risco no desenvolvimento destas malignidades. Principalmente, estes estudos servem para sensibilizar sobre a necessidade de programas preventivos referentes aos fatores de risco identificados.

## **ANEXOS**

- a. Projeto de Pesquisa
- b. Questionário / Manual do Questionário
- c. Aprovação pelo Comitê da Ética e Pesquisa

**International study of environment, viruses  
and cancer of the oral cavity and the larynx**

Study protocol

Paolo Boffetta, Paul Brennan and Rolando Herrero  
International Agency for Research on Cancer, Lyon, France

Annex 1 - Lifestyle questionnaire

Annex 2 - General occupational questionnaire

Annex 3 - Specialized occupational questionnaire

Annex 4 - Interviewers' manual

Annex 5 - Examples of log sheets

Annex 6 - Disposable equipment needed for 100 subjects

Annex 7 - Details on centrifugation

Annex 8 - List of occupational exposure to be assessed

## 1. Background

### 1.1 Cancer of the oral cavity and the oropharynx

#### 1.1.1 Descriptive epidemiology

Cancers of the oral cavity and pharynx in men account for 7% of the new cancer cases worldwide, with nearly 270,000 estimated cases per year among males and 143,000 among women (Parkin *et al.*, 1993). In developing countries, these cancer sites (approximately 187,000 new cancer cases per year in men and 114,000 in women) represent the fifth most frequent cancer in the male sex and the seventh most frequent in females. In Southern Asia, cancer of the oral cavity and pharynx among men ranks first in terms of incidence (Parkin *et al.*, 1993). With respect to mortality, the picture is very similar although, on account of substantial variations in survival, the gap between developed and developing countries and between ethnic groups (e.g., whites and blacks in the United States) is wider (Pisani *et al.*, 1993).

Incidence and mortality rates of cancer of the oral cavity and pharynx are rising in some areas of the world, in particular a two-to-three-fold mortality increase has been recorded in Eastern and Central Europe in the last three decades (La Vecchia *et al.*, 1992). These secular trends are not explained by trends in tobacco consumption and appear more closely related to changes in alcohol consumption. However, this can only partly explain such upward trends, which are not seen, for instance, for cancer of the oesophagus, pointing to the possibility of other still unknown determinant(s).

#### 1.1.2 Risk factors

##### 1.1.2.1 Tobacco, alcohol and betel quid

Tobacco smoking and alcohol drinking are the major risk factors for oral cancer in western countries and, although both exposures are highly correlated, their individual roles appear to be independent. For example, in a study conducted in the United States (Blot *et al.*, 1988), risk increased among smokers who did not drink and among drinkers who did not smoke, and the combination of both exposures was associated with a risk increase that suggested a multiplicative interaction. In addition, there is extensive evidence of the carcinogenic role of both exposures in humans (IARC, 1986, 1988). It has been calculated that tobacco smoking and alcohol drinking play a role in about 75% of all oral and

pharyngeal cancers in the United States (Blot *et al.*, 1988). There is also evidence that betel quid chewing, a common habit in the Eastern hemisphere, when consumed with tobacco, is carcinogenic (IARC, 1985). However, its role in the aetiology of oral cancer when consumed without tobacco is less clear and deserves further investigation.

#### 1.1.2.2 Dietary factors

Cancers of the oral cavity and oropharynx are, among common cancer sites, those which have shown in previous epidemiological studies the most consistent and strong associations with dietary habits. Most notably, protective effects of the order of 50% have been reported in the highest as compared to the lowest quartiles of intake of various types of vegetables, especially raw vegetables (e.g., carrots, tomatoes, green salads) and fruit (e.g., citrus fruit) (McLaughlin *et al.*, 1988; Franceschi *et al.*, 1991). Thus, in the study of new putative risk factors for cancer of the oral cavity and the pharynx it is important to allow for the confounding effect of dietary habits.

#### 1.1.2.3 Human papillomavirus

Human papillomaviruses (HPVs) are recognized as important human carcinogens (IARC, 1995). The role of some HPVs, most notably HPV 16 and 18, in the aetiology of cancer of the cervix uteri is firmly established (IARC, 1995). HPV DNA was detected in over 93% of cervical tumours worldwide, with no significant variation in HPV positivity of neoplasms among countries (Bosch *et al.*, 1995). Elevated odds ratios (OR) for HPV in pre-invasive and invasive cervical neoplasias emerged from the vast majority of nearly 100 case-control studies on the topic, most notably those where the most accurate HPV DNA detection test (polymerase chain reaction, PCR) was used (i.e., several ten-fold risk increases, with attributable fractions above 70%) (Muñoz *et al.*, 1992; Bosch *et al.*, 1993; Eluf-Neto *et al.*, 1994). Other rarer anogenital cancers are also causally linked to HPV. It thus seems possible that the influence of such potent carcinogens as HPVs is not restricted to the genital tract. Similarities regarding epithelial and tumour types, as well as evidence from a variety of studies, place cancers of the oral cavity and pharynx among the most likely candidates.

Several case-series (with or without a comparison group) have dealt with the association between HPV and cancer of the oral cavity and oropharynx. Restricting to case-series which were not too small (>15 cases) and in which the most accurate detection techniques (i.e., Southern blot (SB) and PCR) were used, thirteen case-series without a comparison

group have been reported (reviewed by Franceschi *et al.*, 1996). Most of these investigations included also some cases of cancer of the pharynx. The prevalence of HPV was 181/392 (46%) with values, however, ranging from 0% (Ogura *et al.*, 1993) to 100% (Watts *et al.*, 1991). Studies where PCR methods were used tended, on average, to show higher prevalences than those based on Southern blot.

The high prevalence of HPV in oral cancer (74%) recently reported by Balaram *et al.* (1995) is of special interest because, besides using consensus primers, the identity of every positive amplicon was confirmed by direct sequencing. This was crucial in order to exclude false-positives (due to mismatching of MY09/MY11 pair) as well as false-negatives (due to deletions in HPV genomes).

At least nine studies compared HPV DNA presence in cases of cancer of the oral cavity and corresponding tissues in non-cancer controls. Practically all these studies found higher HPV positivity among cases (average 19%) than controls (average 6%). Interestingly, two studies of cancer of the tonsil (Niedobitek *et al.*, 1990; Snijders *et al.*, 1992) detected HPV in all the cases and none of the controls. However, it is difficult to evaluate the results of these studies because the majority had limited information on study design and some had obvious sources of bias (Franceschi *et al.*, 1996).

In addition, the majority of studies used HPV detection techniques of insufficient sensitivity to detect a wide range of HPVs.

In the only two formal case-control studies which examined the association between HPV DNA and cancers of the oral cavity (Maden *et al.*, 1992; Schwartz *et al.*, 1995), the search for HPV DNA was done by means of PCR in exfoliated buccal cells, collected with a tooth brush. In the study by Maden *et al.* (1992) (131 cases and 136 population controls) men with an oral HPV 6 infection had 2.9 times the risk of oral cancer than non-infected men (95% confidence interval (CI): 1.1-7.3), whereas those with an oral HPV 16 infection showed an OR of 6.2 (95% CI: 0.7-52.2). The OR for HPV 6 was not modified by adjustment for age, smoking and alcohol consumption. Schwartz *et al.* (1995) (206 cases and 206 controls) did not find any association with HPV infection (OR for any type of HPV = 0.6, 95% CI: 0.3-1.3). The presence of HPV DNA did not seem to add anything to the risk associated with smoking. However, HPV DNA was detected, among cancer cases, eight times more frequently in histological specimens than in exfoliated cells, possibly because exfoliated cells were collected after cancer treatment. Both case-control studies could rely on information on a wide spectrum of exposures and/or characteristics but did not find any

significant relationship between oral cancer risk and either sexual practices (including oral sex) or sexually transmitted diseases.

The transmission route of HPV to the oral cavity and oropharynx is still poorly understood. Sexual transmission from the orogenital tract is conceivable (Cason *et al.*, 1995). In one study that investigated sexual behaviour, no clear associations were observed with UADT cancer (Maden *et al.*, 1992) and a poor concordance was found in a study of HPV types present in the oral region and in the anogenital tract in women and their male partners (Kellokoski *et al.*, 1992). Vertical transmission at delivery (implicated with the early onset of recurrent respiratory papillomatosis), digital transmission from periungual infections (known to harbour HPV 16, Moy *et al.*, 1989) and transmission from HPV-contaminated fomites are also possible, especially with the presence of macerated or abraded epithelial surfaces (Cason *et al.*, 1995).

Thus, epidemiological and experimental evidence lends some support to the possibility of HPV playing an aetiological role in the onset of oral cancer, although the findings are incomplete and, in some instances, contradictory. Indeed, oral cavity also represents an area where, like in HPV-related anogenital sites, transition from keratinized to non-keratinized epithelium (Cotran *et al.*, 1989) is present (i.e., gingiva and palate) and chronic inflammation and chemical insults are very frequent. Repeated traumas from betel chewing, for instance, was indicated as a contributory factor because it stimulates mitosis and exposes germinal cells to infection to HPV (Balaram *et al.*, 1995). This may also apply to tobacco smoking and alcohol drinking elsewhere.

Thus, it is clear that HPV-DNA has been found with a certain frequency in cancers of the oral cavity and oropharynx, whereas it is rare in the corresponding locations in healthy patients. Several mechanisms for the putative malignant transformation have also been proposed.

Available epidemiological data derive, however, from relatively small studies, where a role of chance or bias cannot be confidently excluded. Only a sufficiently large case-control study, able to combine a good design with a reliable measurement of HPV DNA could elucidate the role of these viruses. The strong associations of oral cancer with smoking, drinking and betel chewing do not refute, per se, a viral hypothesis but oblige to consider, in the study design, the need for an accurate lifetime history of these exposures and a sufficient statistical power to assess confounding and/or modifying effects.



#### 1.1.2.4 Genetic factors

Several authors have described familial aggregation of oral cancers (Foulkes *et al.*, 1995) and it has been proposed that this may be explained by genetic polymorphisms of carcinogen metabolizing enzymes. Modulation of biotransformation process is genetically determined and is likely to be one of the major sources of interindividual variability in susceptibility to carcinogens (Harris, 1987).

The metabolic polymorphisms associated with increased risk of cancer include Glutathione S-transferase and N-acetyl transferase (Seidegard *et al.*, 1990; Hirvonen *et al.*, 1993; Alexandrie *et al.*, 1994; Anttila *et al.*, 1995), cytochrome P450 1A1 (Alexandrie *et al.*, 1994; Hayashi *et al.*, 1992; Kawajiri *et al.*, 1993) and cytochrome P450 2E1 (Kato *et al.*, 1994). In addition, it is possible that recently found polymorphisms of CYP2A6 is associated to some cancers (Fernandez-Salguero *et al.*, 1995).

Cytochromes P450 (CYP:s) is a superfamily of enzymes metabolizing various drugs and foreign chemicals. Some of them are important for carcinogen metabolism and activation: particularly those belonging to families 1-3. Glutathione transferases (GST:s) and N-acetyltransferases (NAT:s), on the other hand, play an important role in the inactivation of carcinogens. If a polymorphism of one or more genes encoding for these enzymes leads to increased activation of carcinogens or decreased capacity to inactivate them (or both), it is possible that such an individual faces an increased risk of cancer when exposed to carcinogens. An example to this is an increased risk of lung cancer associated with the polymorphism of CYP1A1, and a greatly increased risk with a combined polymorphism of CYP1A1 and GST among smokers.

Smoking, drinking and diet are contributing risk factors in oral cancer. It is likely therefore that enzymes metabolizing carcinogens which are found in these constituents play a role in the initiation and promotion of oral cancers. Polymorphisms of the encoding genes should therefore be reflected in a variability of individual risk.

In addition to the genetic polymorphisms, local expression of the metabolizing enzymes is probably also relevant, particularly in the oral cavity, where food, tobacco, alcohol, HPV infection or inflammation can be able to induce the enzymes in the target organ. In this respect CYP1A:s, CYP2A6, CYP2E1, and GST:s are particularly interesting as they can be induced by one or several of these exposures.

## 1.2 Cancer of the larynx

### 1.2.1 Descriptive epidemiology

Cancer of the larynx (ICD10 C32) accounts for 3.1% of the new cancer cases in males worldwide, with 121,000 estimated new cases per year (Parkin *et al.*, 1993). Among women it is less frequent, with 21,000 estimated new cases (0.6% of all cancers).

Among men, the highest incidence rate during the early 1990s has been reported from Zaragoza, Spain (ASR 17.1/100,000 year); areas at high incidence in men (ASR >10/100,000 year) are Northern France, Northern Italy, Spain, various areas of Central Europe, Southern Brazil and Uruguay (Table 1). Areas at low incidence include most areas of Africa and Eastern Asia with available cancer incidence data, Australia, Canada except Quebec and several, although not all, countries of Northern Europe; the lowest rate has been reported from Qidong, China (ASR 0.7/100,000 year).

Among women, Blacks from the United States have the highest reported incidence (e.g., among Blacks in Detroit ASR 2.9/100,000 year); other populations at high incidence include Whites from United States, areas of South America, Asia and Europe. The low rates found in women from Spain and France are noteworthy.

The time trends in laryngeal cancer incidence and mortality are consistent with trends in other cancers associated with tobacco and alcohol. Increasing trends are seen in Central and Eastern Europe and most developing countries, while in North America and Western Europe incidence and mortality either have levelled off or are decreasing (Coleman *et al.*, 1993). In Latin American countries, different patterns are suggested for Costa Rica (steady increase), Uruguay (small but persistent increase) and Chile and Venezuela (decrease in young birth cohorts).

### 1.2.2 Known and suspected risk factors

#### 1.2.2.1 Tobacco smoking and alcohol drinking

Tobacco and alcohol are the best established risk factors of laryngeal cancer (Austin and Reynolds, 1996). Both factors show a strong dose-response relation with laryngeal cancer risk and a synergistic combined effect. Their effect has been also shown in studies conducted in North America, Europe, India as well as South America. In particular, De

Stefani *et al.* (1987) conducted a study in Uruguay showing a stronger effect of back tobacco as compared to blond tobacco and a similar effect of red wine and hard liquor. In a subsequent study, laryngeal cancer risk was greater among smokers of hand rolled cigarettes than among smokers of manufactured cigarettes (De Stefani *et al.*, 1992).

#### 1.2.2.2 Occupational exposures

The only established occupational carcinogen for laryngeal cancer is exposure to strong inorganic acid mists (IARC, 1992). The evidence linking asbestos exposure and laryngeal cancer is controversial (Austin and Reynolds, 1996). A number of additional agents, including nickel and chromium, man-made mineral fibres, and polycyclic aromatic hydrocarbons and wood dust have been suggested from the findings of various studies. Among occupational groups repeatedly reported at increased risk are farmers, textile workers, meat cutters, food preparation workers and mechanics. In a recent study from Uruguay, the risk was increased among butchers, vintners, bakers and car assemblers as well as among workers exposed to asbestos, strong inorganic acid mists and pesticides (De Stefani *et al.*, in press).

#### 1.2.2.3 Dietary factors

High intake of fruits and vegetables is probably protective against laryngeal cancer (WCRF/AICR, 1997). Additional foods that have shown a protective effect in some but not all studies are fish and milk and dairy products, while meat consumption was associated with an increased risk. The evidence of an effect of fish, milk and meat consumption is however inadequate (WCRF/AICR, 1997). High intake of preserved meat may be an additional risk factor (Zheng *et al.*, 1992). Studies conducted in Uruguay confirmed the increased risk associated with low intake of fruits and vegetables (De Stefani *et al.*, 1987) and with high intake of meat, and in particular of salted meat (De Stefani *et al.*, 1995).

#### 1.2.2.4 Mate drinking

Mate drinking has been associated with an increased risk of laryngeal cancer in two studies from Uruguay (De Stefani *et al.*, 1987) and Southern Brazil (Pintos *et al.*, 1994).

#### 1.2.2.5 HPV

HPV 6 and 11 cause juvenile and adult laryngeal papillomas of the larynx (Austin and Reynolds, 1996). The proportion of papillomas reported to be HPV positive, mainly from studies based on techniques with low sensitivity for viral detection, ranged from 50 to 84% (Franceschi *et al.*, 1996). In one study, samples of normal mucosa adjacent to papillomas were also positive for HPV (Rihkanen *et al.*, 1994).

In case-series of laryngeal cancer, HPV DNA has been detected in about one fourth of the cases (range 2-85%, Franceschi *et al.*, 1996). In three studies with a comparison group, the prevalence of HPV positivity was somewhat higher in tumours than in normal tissue samples. No formal case-control studies have been conducted so far on HPV positivity. The viral types most frequently searched for and found are HPV 16, 11 and 6.

In a study of 24 patients with papillomas who were all positive for HPV (21 for type 6, 2 for type 11 and one for type 16), co-infection with herpes simplex virus was detected in 12 cases, with Epstein-Barr virus in 6 cases, and with cytomegalovirus in no cases (Pou *et al.*, 1995). Patients with coinfection had a more aggressive clinical course than other patients. No reports are available on the presence of viruses other than HPV in laryngeal cancer.

#### 1.2.2.6 Genetic factors

A role of genetic predisposition to laryngeal cancer, as to other head and neck cancers, is well documented by studies of multiple neoplasm syndromes (Trizna and Schantz, 1992), studies of multiple primary tumours (Spitz *et al.*, 1994) and studies of family history of cancer (Bondy *et al.*, 1993). In a study from Brazil, there was a twofold increased risk of laryngeal cancer for individuals with a first degree relative with a previous cancer in any site (Foulkes *et al.*, 1995). The increase was greater if the relative had a head and neck cancer.

Studies on genetic polymorphism for enzymes involved in the activation and detoxification of carcinogens suggests a link with laryngeal cancer risk. Elevated activity of P450 CYP2D6, a phase 1 enzyme, was associated with increased risk in a French study (Benhamou *et al.*, 1996). Subjects null for GST M1 gene, encoding a phase 2 enzyme, were found at increased risk in one study (Lafuente *et al.*, 1993), but not in a subsequent study, in which GST T1 null genotype was associated with increased risk (Jahnke *et al.*, 1997). Additional enzymes whose polymorphism may influence laryngeal cancer risk are alcohol dehydrogenase (ADH), aldehyde dehydrogenase (AIDH) and myeloperoxidase.

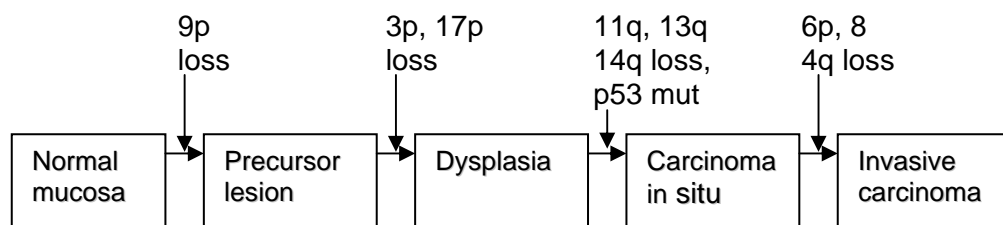
### 1.3 Genetic alterations in head and neck cancers

A review of molecular biology of head and neck cancers has been recently published (Sidransky, 1997). The most frequent cytogenetic abnormalities in head and neck cancers involve chromosomes 3p, 5q, 8p, 9p, 18q, 21q. Cyclin D1 is frequently amplified in laryngeal cancer, possibly due to lack of suppression by Rb and particularly p16. The role of other proto-oncogenes (e.g., ras) is less clear. In addition, loss of normal negative regulation of the cell cycle may derive from mutations in type II TGF- $\beta$  receptor; another negative regulator may be retinoic acid receptors (RAR), in particular RAR- $\beta$ , although the mechanism is still unclear.

The most commonly deleted region in head and neck cancers is 9p21-22 (Nawroz *et al.*, 1994), which contains the p16 (CDKN2) gene, a potent inhibitor of cyclin D1/CDK4 complexes. p16 is mutated in only 10-15 percent of head and neck cancers: other, possibly more frequent alterations of p16 include homozygous deletion and hypermethylation leading to inactivation.

Frequent deletions of 3p21 are found in early lesions, as is, although less frequently, loss of 17p: the relatively low rate of p53 mutations suggests that tumour suppressor genes other than p53 may be involved in these alterations. Similarly, loss of 13q is relatively frequent, but rarely with inactivation of Rb, suggesting that another tumour suppressor gene located near to Rb may be involved. A number of other genetic alterations have been observed less frequently in various series of tumours.

A model has been proposed, in which the most frequently reported alterations are suggested to act on different stages of the carcinogenic process (Figure) (Sidransky, 1997).



#### 1.4 p53 mutations

There has been in the last years a great effort to examine various steps of the process of transformation of the upper aero-digestive tract epithelium for genetic and/or phenotypic alterations. Several genomic markers of tumorigenesis at these sites have been identified

(Shin *et al.*, 1994a), tumour suppressor genes (e.g., p53) in the first place. p53 gene mutations are a very common feature of oral cancers and may vary according to the specific aetiological agent involved (Thomas *et al.*, 1994). The present study presents an opportunity to investigate also a selected number of biomarkers and possibly shed light on their interaction with HPV presence.

The p53 tumour suppressor gene is frequently altered by missense mutation in human cancer. Mutations mostly occur within an area encoding a 200-amino acid residues domain of the molecule which is responsible for direct binding of p53 to specific DNA promoter sequences. Thus, by disrupting specific DNA binding, mutations in p53 compromise the capacity of the molecule to act as a specific transcriptional activator of genes that regulate cell-cycle control and apoptosis (reviewed in Hainaut, 1995). The chemical nature of the p53 mutations in any particular cancer is indicative of the biochemical mechanisms responsible for the DNA lesions that cause cancer. Thus, analysing the spectrum of p53 mutation in relation with defined risk of carcinogen exposure may be particularly helpful to identify factors involved in the aetiopathogenesis of specific cancers (Greenblatt *et al.*, 1994).

Mutations in p53 are frequent in oral cancers from Europe and Northern America. Mutations are detectable in a significant proportion of non-invasive lesions, including severe dysplasia and in situ carcinomas (up to 25%), and the incidence increases with tumour progression to about 45% in invasive carcinomas (Thomas *et al.*, 1994; Boyle *et al.*, 1993). In addition, immunohistochemical studies have revealed that p53 expression may be altered in the normal epithelium adjacent to tumours as well as in up to 45% of dysplastic tissues (Shin *et al.*, 1994b). Taken together, these data suggest that alteration of p53 function is a very early event in oral carcinogenesis.

The latest edition of the p53 database, dated August 1995 (Hollstein *et al.*, 1996), contains 134 mutations in well-defined oral cancers. The mutation spectrum reveals that 28% of the mutations occur at CpG dinucleotides. These mutations may correspond to spontaneous deamination of methylated cytosine, which is thought to be an endogenous, spontaneous mutagenic event. On the other hand, mutations at CpG dinucleotides may also be induced by exposure to methylating nitrosamines, a category of agents that may be involved in the aetiopathogenesis of oral cancer. G to T changes at non-CpG sites represent 23% of the mutations, whereas changes at A:T bases pairs are found in 21% of the cases. This mutation spectrum shares some similarities with those of other cancers where tobacco

carcinogens are involved, such as lung cancer and squamous cell carcinoma of the oesophagus.

The involvement of p53 mutations in oral cancers arising in developing countries is much less understood. In high-incidence areas of Southeast Asia, where the most important risk factor is betel quid chewing, the prevalence of p53 mutations appears to be only 10% (Thomas *et al.*, 1994). This suggests that major geographical differences may exist in the incidence of p53 mutation associated to oral cancer. These differences may reflect the involvement of specific risk factors as well as alternative pathways to p53 dysfunction.

Specific antigens encoded by cancer-associated HPV (most notably HPV 16 and 18) may play a major role in alternative pathways to p53 dysfunction. In vitro, the E6 antigen of HPV 16 has been shown to bind the p53 protein and to target it for rapid degradation by the ubiquitin-mediated degradation system. In oral keratinocytes, transfection of the E6 antigen contributes to cell immortalization. Keratinocytes immortalized by E6 can be transformed by further exposure to nitrosating agents. Thus, “high-risk” forms of HPV may cooperate with chemical carcinogens during the oncogenic transformation of oral keratinocytes (Shin *et al.*, 1994c).

At present, little information is available on the interactions between HPV and p53 in oral cancers. In betel-associated oral cancer, HPV 11 and/or 16 sequences have been detected in only 2 of 30 tumours, suggesting that inactivation of p53 by these HPVs does not explain the low frequency of p53 mutations in these tumours (Thomas *et al.*, 1994). Only 14 head-and-neck tumours, mostly laryngeal cancer, for which HPV information is available are described in the p53 mutation database (5 HPV-positive and 9 HPV-negative, Table 2). In the HPV-negative cases, 5 of 9 mutations are localized outside the classical “hot-spot” regions, within structural domains of the p53 protein corresponding to the  $\beta$ -sheet scaffold that support the DNA-binding surface, in particular at codon 157 (4 cases). This particular mutation is not found in HPV-positive cases, where 4 of the 5 mutations are within classical “hot-spot” regions. Although limited, these data suggest that the mutations found in HPV-positive and negative tumours may differ by their structural impact on the p53 protein and by their functional contribution to the neoplastic process.

Obviously, HPV may also interact with other still unknown oncogenes or tumour suppressor genes. Loss of function of one or more still unidentified tumour suppressor genes at 11 q

and 18 q has been, for instance, demonstrated in vitro in an oral cancer cell line which contains integrated, transcriptionally active HPV 16 DNA (Steenbergen *et al.*, 1995).



## 2. Summary of the study design

The study will have a case-control design and will be conducted in five centres in Brazil (Pelotas, Porto Alegre, Goiânia, Rio de Janeiro, São Paulo) and one centre in Argentina (Buenos Aires) and will be coordinated by the Units of Environmental Cancer Epidemiology and of Field and Intervention Studies of IARC. Additional centres from the same or other countries may join the study subsequently. Each centre will recruit two groups of newly diagnosed cases of oral cavity and laryngeal cancer and a comparable group of either community or clinic controls. The group of controls will serve as comparison for both series of cases. Cases and controls will be interviewed with respect to their history of exposure to lifestyle and environmental factors. Exposure to occupational carcinogens will be assessed by teams of local experts. Samples of blood and oral mucosa cells will be obtained from cases and controls, and fresh or paraffin embedded tumour samples will be obtained from cases. Biological samples will be analysed for presence of HPV, genetic polymorphism to metabolic enzymes and genetic alterations.

The areas selected for the study are characterized by moderate to high incidence of laryngeal cancer in both genders and relatively low ratio between lung and laryngeal cancer incidence in men: although population based cancer registries do not cover all study areas, Table 2 presents data on incidence of oral and laryngeal cancers from the closest cancer registries.

### 3. Objectives of the study

- 3.1 To assess the role of known (i.e., occupation, smoking, alcohol drinking, fruit and vegetable intake) or putative (i.e., HPV infection) risk factors for cancer of the oral cavity and the larynx in the study populations.
- 3.2 To investigate the presence and pattern of p53 mutations and to assess whether they differ according exposure to risk factors.
- 3.3 To assess the role of genetic susceptibility mediated through genetic polymorphisms of enzymes potentially implicated in the metabolism of carcinogens.

A secondary objective of the study is to assess the interactions between exposure to risk factors, genetic polymorphisms and p53 mutations. Whether this objective can be reached will depend on the prevalence of exposure, polymorphisms and mutations.

## 4. Methods

### 4.1 Definition of cases

#### 4.1.1 Cancer of the oral cavity, oropharynx, hypopharynx and larynx

Cases for study will consist of cases of invasive cancer with the following topographical characteristics according to the International Classification for Diseases in Oncology (ICD-O, Percy *et al.*, 1990):

- C00 Lip (C00.0, C00.1 and C00.2, external, upper, lower and NOS lip are EXCLUDED)
- C01 Base of tongue
- C02 Other and unspecified parts of tongue
- C03 Gum
- C04 Floor of mouth
- C05 Palate
- C06 Other and unspecified parts of mouth
- C07 Parotid gland
- C08 Other and unspecified major salivary glands
- C09 Tonsil
- C10 Oropharynx
- C12 Pyriiform sinus
- C13 Hypopharynx
- C14 Other sites in lip, oral cavity and pharynx
- C32 Larynx

Subsets of cases will be analysed separately. The two main groups of sites include oral cavity and oropharynx (C00-C10), and hypopharynx and larynx (C12, C13, C32). However, more specific subsets of cases (e.g., glottic cancers, code C32.0) can be identified for specific analyses.

#### 4.1.2 Common aspects

Cases must be newly diagnosed in one of the participating hospitals. Cases might have been diagnosed for the first time outside the participating study hospitals as long as the referral to the participating hospital is for primary therapy, not previously treated (local as

well as systemic). They must not have undergone any previous local or systemic treatment (diagnostic biopsies excluded) for the current tumour.

Cases must be histologically or cytologically confirmed; all histological types will be included; however, information on histological type will be collected and the largest series of types (e.g., squamous cell carcinoma) will be analysed separately.

Cases will be aged between 15 and 79. Inclusion of cases aged 80 or over is optional.

#### 4.2 Definition of controls

At least one control will be chosen for each case included in the study. He/or she does not need to be individually matched to each case but can be group-matched by sex, age (in quinquennia) and centre. Since cases of cancer of the oral cavity and the oropharynx will be analysed separately from cases of cancer of the hypopharynx and the larynx, the number of controls in each sex and age group should be at least as high as the largest number of cases in the two series (oral/oropharynx and hypopharynx/larynx). For example, if among men aged 40-44 there are 15 cases of oral/oropharyngeal cancer and 12 cases of hypopharyngeal/laryngeal cancer, at least 15 controls will be enrolled in this sex/age group.

Control subjects must be subjects admitted as in-patients or out-patients in the same hospitals as the cases or in nearby hospitals which share, with the hospitals where cases have been identified, the same catchment area.

They must not have a history or current suspicion of cancer of the larynx, the oral cavity, the pharynx or the oesophagus. With respect to eligible reasons of hospital admission for control subjects, diseases associated positively or negatively with the known or suspected risk factors for cancers of the oral cavity and the larynx will be excluded. A list of diagnoses to be excluded is reported in Table 3; selected examples of eligible diagnoses are provided in Table 4. An effort should be made to have a similar proportion of controls in each broad diagnostic category. In particular, the inclusion of cancer controls is not encouraged. If included, they should all be approached before any primary treatment and not account for more than 15 percent of the overall control group.

### 4.3 Case and control ascertainment

Cases should be identified from the participating hospitals as soon as possible after the histological/cytological diagnosis is made and before any treatment. In the presence of a strong clinical suspicion, a case should be interviewed and biological samples taken also before biopsies are done or diagnosis is established, pending subsequent confirmation. Early identification is possible only through active search, i.e., by means of periodical visits to the hospital departments where cases are diagnosed or treated (i.e., ENT, oncology, surgery, radiotherapy and pathology). The frequency of the visits (daily, weekly etc.) will depend on the cancer burden of each department. The lapse of time between diagnosis and interview should preferably be less than one week and in any case less than two weeks.

The local co-ordinator should maintain a record of cases identified and indicate the reasons for lack of interview or material collection (e.g., refusal, treatment).

Controls will be identified from in-patients or out-patients of the same hospitals as cases and/or nearby hospitals. In particular, if cases are recruited from cancer hospitals without non-oncological patients, potential controls should be identified from general hospitals with comparable catchment areas. They will not be individually matched to cases but broadly stratified by sex and age (in quinquennia) to the expected distribution of the cases. In order to have an estimate of such a distribution, a revision of cases of oral and laryngeal cancers diagnosed in the previous 1-2 years in the same institution should be performed. Table 5 provides the number of cases and person-years included in relevant cancer registries: these figures can be used as guidelines. In practice, controls will be enrolled at the same time as cases, and adjustments to ensure the minimal required number in each stratum will be introduced after the end of enrolment of cases.

The local co-ordinator should make sure that a good balance between cases and controls is maintained all over the study period. He/she will also establish a routine for the identification of controls in each hospital. Frequency of visits will depend upon the size, the average number of eligible patients and the mean duration of hospital stay in each department. The aim is to avoid that patients who stay in hospital the longest had a much greater chance to be selected. The local co-ordinator should keep a balance in the number of interviews of cases and controls performed in a given period and by each interviewer, if more than one. He/she should also avoid overrepresentation of any broad diagnostic categories.

As for cases, a list of all identified suitable controls should be kept, and reasons for the lack of interview and/or biological material collection should be given.

Cases and controls who are in physical or mental conditions too poor to give reliable answers to the questionnaire should be excluded. Cases of laryngeal cancer can have problems in their ability to talk: they can be interviewed in written form. If these cases are also illiterate then they can be excluded. This should be noted on the logsheet for excluded cases.

#### 4.4 Sample size

With  $\alpha = 0.05$  and power = 0.80 and an estimated prevalence of exposure of interest of 10% among controls, the expected size in each centre (200 cases and 200 controls for each type of cancer) will allow to detect, in each of them, a relative risk (RR) of 2.1. Overall, the study will comprise at least 1000 cases and 1000 controls and will allow the detection of a RR of 1.4 for exposures with the same prevalence, or, alternatively, be compatible with the detection of a RR of 1.8 for a rarer exposure (prevalence 3%). Additional statistical power is especially desirable in order to assess main effects after controlling for confounding and to investigate interactions (Breslow and Day, 1987).

#### 4.5 Interviews

At least two interviewers will be identified in each study centre. They should preferably be identified from one of the following fields: professional nursing, social work, psychology or related disciplines. All interviews will be conducted at the hospital by means of a precoded questionnaire (Annex 1). The questionnaire will include socio-cultural indicators, a detailed occupational history, a residential history, life time history of smoking, alcohol and mate drinking, a detailed cancer family history, history of selected infectious diseases, and recent intake of fruit, vegetables, and a few selected dietary pattern indicators. Summary information on lifetime sexual practices will also be elicited. The hospital setting will improve the comparability of cases and controls and will minimize the danger of recall bias. The study will be presented to the study subjects by the interviewers as a broad health survey not particularly related to cancer. After the interview, the study subjects will be asked to provide the specimens described below.

Information on the basis for the diagnosis and clinical stage will be obtained for each case using a standard form (attached at the end of the questionnaire). If performed, a copy of histological examination should be attached to the questionnaire.

#### 4.6 The occupational questionnaire

All cases and controls will provide a detailed history of their previous occupations. This will start by each subject listing all of their jobs in a chronological order to the relevant page of the lifestyle questionnaire. The interviewer will then consider again each job and complete a general occupational questionnaire (GQ) for each of them and, for a subset of specific occupations, a separate specialized questionnaire (SQ). A copy of the GQ is available in Annex 2. The SQs cover occupations in which probability of exposure to known or suspected carcinogens is high. The following SQs will be used:

- Motor vehicle mechanic (SQ1)
- Wood worker (SQ2)
- Painter (SQ3)
- Welder (SQ4)
- Chemical worker (SQ5)
- Tannery worker (SQ6)
- Toolmaker, machinist (SQ7)
- Insulation worker (SQ8)
- Agricultural worker (SQ9)
- Butcher, slaughterer (SQ10)
- Textile worker (SQ11)

The SQs are provided in Annex 3. One of the first tasks in each centre will be to translate these questionnaires into the local language and provide IARC with a translated copy.

#### 4.7 Training of interviewers and interview procedure

Before starting the interviews, each interviewer must attend a training course organized in each centre. Their training course should be supervised by one member of the expert group

on exposure assessment who will act as instructor for the occupational part of the questionnaire. Another member of the team will act as instructor for the general aspects of the study, e.g. relationship with hospital personnel, choice of proxy responders. This second supervisor may be the principal investigator in each centre.

The enclosed manual (Annex 4) will provide instructions on how to perform the interview.

#### 4.7.1 General information

This includes information on the aim of the study, its organization, the participating countries and the time schedule of the study. Legal aspects for epidemiological studies and the necessity for confidentiality should also be discussed. Each interviewer should sign a document stating that he/she accepts the professional secrecy for all data obtained while working in this study. The interviewers should also be familiar with the methodology for selecting cases and controls.

#### 4.7.2 Guidelines for performing the interview

At the start of the interview the interviewer should present him/herself to the subject and also present the study. When presenting the study it is preferable to talk about “some diseases” and not specifically about “oral or laryngeal cancer”. The interviewer should explain that the interview may last some time and that the participant may stop the interview at any moment. It should also be explained that participation is voluntary and that all of the data will be completely anonymous.

When someone refuses to participate in the interview the interviewer should ask why he/she refuses to participate and record the answer. If feasible the interviewer should propose another time to meet. If the participant does not wish this then the interviewer should try to obtain at least the basic information smoking history (Ever smoker/ ex-smoker/ never smoker) and a basic occupational history (his/her longest job or if possible the list of all the jobs).

When the patient does not seem well enough to go through the whole questionnaire start by recording the most important questions. These will be the drinking history, the smoking history and a basic occupational history. For occupation, list the job history and identify and fill the questionnaire for the longest or the most complicated job (2 years in a foundry are more interesting than 10 years in an office but it's sometimes less evident to make a



choice). If necessary, propose to have a break in the interview or to come back at another time.

If right from the start of the interview the patient does not seem well enough to participate decide whether it is possible to obtain the above basic drinking, smoking and occupational history.

#### 4.7.3 Lifestyle questionnaire

This part of the training course should be undertaken by the study coordinator. The lifestyle questionnaire is structured and so training for the interview will concentrate on maximizing completeness and accuracy. This will be achieved by minimizing the extent of missing data and also by probing of subject responses to ensure that the answers received are clear and correct. The only reason missing data should occur is if a subject refuses to answer a question. If this happens then the interviewer should write “answer refused” by where the answer should be. Interviewers may ask additional probing questions to ensure that an answer is complete. This may include simply repeating the question or confirming the reply, or just pausing and giving the subject an opportunity to provide extra information. Interviewers may also seek clarification from the subject although the tone of the probe should be neutral. These aspects of interviewing will be introduced to the interviewer during sample interviews which are conducted in the feasibility stage of the study.

#### 4.7.4 Occupational part of the questionnaire

If interviewers have no experience of the industrial field, one or two visits to local factories should be necessary, e.g. a big plant which involves different sectors including production, receipt of raw materials and maintenance.

The goal for this occupational questionnaire is to obtain a accurate description of each job which will enable the different tasks and exposures of the job to be identified at a later stage. Interviewers should stimulate the subject to give a good description of place, tasks, machines, products, environment etc. Probing will be necessary if the subject doesn't

understand the meaning of a question or if he/she has some difficulties to describe something.

#### 4.7.5 The job history

The first task of the occupational interview is to obtain a job history from each subject and list this in the job history form which is part of the lifestyle questionnaire. Interviewers have to help subjects to remember and to list all jobs held since they left school. Only jobs held for at least one year have to be listed. This includes seasonal jobs whose cumulative time of employment adds up to at least one year. In order to insure that the interviewee has remembered his/her whole job history without any gaps, each gap in time should be questioned and recorded on the job history.

The interviewer can help the subject to remember these non-working periods by probing. Various suggestions include helping family without any salary (in a farm, a shop), army, war, house keeping, professional training, illness, unemployment, pension, prison (but it's rarely explained).

Among these periods, some should be listed as a job and therefore receive a job number and a job description, even if the interviewee didn't receive any salary or worked in the informal sector: This would be the case for the following; working with family, being in the army (e.g., engine driver, cook), war prisoner when performing a job during this time (e.g., farming), prison when performing a job during this time (e.g., cook), technical school or professional training, as long as the training has involved mainly practical work (e.g., apprenticeship in welding).

Therefore, from the date of leaving school until the date of the interview, there should not be any gaps of more than 12 months in the chronology.

When completing the job history form it is important to start with the first period (first job or first professional training) after leaving school and to probe any gaps in order to obtain a complete chronology (see before).

If there is any significant change in the subject's job title/occupation during a job-period in the same company, the period should be separated into 2 or more periods.

For example, a subject started as a labourer, then he became engine driver, then foreman in the same company. This job period should be split into 3 job periods.

Finally, the last year in each job history should be the year of interview, at the date of interview the subject is either working or pensioned or unemployed.

#### 4.7.6 The general occupational questionnaire: general job description

Two types of occupational questionnaire will be used:

- A general job description (GQ) to be completed for all jobs;
- Some specialized questionnaires (SQs) devoted to jobs (e.g., tool maker, construction worker), or activities (e.g., chemical industry) which are of special interest in this study.

Typically, while completing the job history form for a subject, the interviewer checks whether a job is relevant for a SQ. He then starts from the first job to complete the GQ and, if needed, the relevant SQ; he then turns to the next job. Example:

##### (1) JOB HISTORY

Job 1: 1955-1965 - Labourer in the manufacture of structural metal parts

Job 2: 1965-1975 - Welder in same factory

Job 3: 1975-1985 - Foreman in the manufacture of boilers

Job 4: 1985-1995 - Quality inspector in same company

1995 retired

##### (2) CHECK THE LIST OF SQ

SQ for welder needed for job 2

##### (3) QUESTIONNAIRES TO COMPLETE

Job 1: Fill in the GQ

Job 2: Fill in the GQ

Complete the SQ for welders

Job 3: Fill in the GQ

Job 4: Fill in the GQ

#### 4.8 Coding of data

Each individual in the study will receive a unique study number. This will be made up from a country code, a centre code, and a subject code. The format for coding each participant is contained in the first section of the lifestyle questionnaire. The case/control status of an individual will not be directly apparent from their study number. Instead this information will be stored in a separate file.

As soon as possible after the interview, and preferably before another interview has occurred, the interviewer will read through all of the interview material and confirm that all responses given are clear and legibly recorded, and that all questions have been answered. If there does appear to be any missing data which are not due to patient refusal the interviewer should arrange to return to the subject at the earliest opportunity and obtain the missing information.

All information from the lifestyle questionnaire should be entered onto a database by the interviewer. It is preferable to have the interviewer complete this task as opposed to a separate data-entry clerk to reduce the amount of missing data. The questionnaires should be typed in using a standard data entry package provided by IARC.

Examples of logsheets for keeping track of contacts, interviews, refusals and collection of biological specimens are provided (Annex 5).

#### 4.9 Collection of biological specimens

Table 6 summarizes the biological samples to be collected from the different groups of study subjects. Annex 6 provides an estimate of disposable equipment necessary for approximately 100 study subjects.

##### 4.9.1 Oral mucosa cells

Oral mucosa cells will be collected from cases and controls to investigate the presence of HPV. Oral mucosa cells are expected to provide information on HPV infection in controls from whom no laryngeal tissue or cells will be available. This will be assessed by comparing HPV infection in the oral mucosa and the biopsy of a series of laryngeal cancer cases.

Superficial scrapes of the oral mucosa performed with a tooth brush and a mouthwash of the oral/pharyngeal mucosa have been found to be an effective method to yield several µg of DNA and detect approximately 10<sup>3</sup> copies of HPV DNA per sample (Lawton *et al.*, 1992). We will perform the collection of such scrapes from cases and controls participating in this study. In addition, we will prepare a smear for cytological interpretation, which will be used to analyse cytological changes associated with certain exposures as well as with HPV. Case and control subjects will also be invited to provide 10 ml of blood to be processed locally (see below). Frozen biopsies will be collected from cases to allow for the study of p53 mutations and to further characterize HPV types or the expression of HPV products. In addition, from patients undergoing surgical operations we will obtain surgical specimens for the analysis of local expression of certain carcinogen-metabolizing enzymes.

The exfoliated cells from the mouth will be collected for the detection of infectious agents (i.e., HPV), and therefore it is extremely important always to use disposable equipment and to take all measures possible to prevent contamination of one sample with another. This is particularly important because the detection method to be utilized is PCR, which is very susceptible to contamination.

The PBS solution will be prepared as follows:

1. Dilute 50 ml of PBS (Phosphate buffered saline 10x concentrated) in 450 ml of distilled sterile water to obtain 500 ml of diluted PBS solution. Smaller amounts of PBS solution can be prepared as long as this proportion is maintained. If the PBS solution is not concentrated, no dilution is needed.
2. After dilution, keep the product at +4°C (normal refrigerator). Discard after one week.
3. The solution will be used to rinse the toothbrush after the preparation of the cytological smear.

To collect exfoliated cells from the mouth, the interviewer will first instruct the patient to perform a mouthwash with water and to remove dentures if worn. The brushing of the oral cavity will be performed with a soft toothbrush as follows.

Several (5-10) gentle strokes with the toothbrush will be made on each of the following areas:

Right buccal mucosa (from high to low position)

Left buccal mucosa (from high to low position)

Floor of the mouth on the right of the tongue

Floor of the mouth on the left of the tongue

Right side of the tongue

Dorsal side of the tongue

Left side of the tongue

Inside of upper and lower lips

For oral/oropharyngeal cancer cases only, immediately after the scraping of the oral mucosa, prepare a smear on a slide labelled with the patient's name and study number. The slide must be immediately fixed in 90% alcohol and later stained with the Papanicolaou stain and coverslipped.

After performing the smear, introduce the toothbrush in a conic plastic tube of 50 ml containing about 20 ml of PBS and shake to detach exfoliated cells.

Ask the patient to perform energetic washing of the oral cavity, including the throat by performing gargles, with 10 ml of saline which will then be poured in the same conic tube.

Never introduce the Pasteur pipette directly into the 500 ml container. When processing the samples from more than one subject, do it one at a time and keep samples apart from each other.

Processing of buccal exfoliated cells and cytological slide preparation

1. Centrifugate the tube at 3000 G (see Annex 7 for calculation of RPM to obtain 3000 G depending on the size of the centrifuge available) for 10 minutes. If centrifugation cannot be done immediately, the tube can be kept at +4°C (normal refrigerator) for 1 or 2 days.
2. Discard the diluting PBS by gently pouring off. Leave the pellet in small quantity of PBS (~ 1 ml).
3. Dilute the pellet in the same volume of PBS (~ 1 ml) and shake.
4. Pour the diluted pellet into 2 Nunc vials using a Pasteur pipette.
5. Freeze the cell suspensions at -70°C (if no -70°C is available, freeze it at -30°C).
6. The Nunc vials should be carefully labelled with the initials of the subject and the identification number. The label should be protected with scotch tape.

#### 4.9.2 Blood samples

A sample of 10-15 ml of blood will be collected from each case and control, preferably using a Vacutainer tube. Samples have to be collected in tubes with an anticoagulant, preferably EDTA or citrate.

##### 4.9.2.1 Processing of blood samples

If blood can not be processed within 30 minutes, keep in an ice chest or at 4 centigrades and process as soon as possible, preferably within 2 hours. In any case the tubes can not be kept refrigerated for more than 24 hours. If this happens, do not centrifuge the blood but just shake the tube and prepare and freeze 4-6 Nunc tubes with whole blood.

Centrifugate the blood at 1500 G for 20 minutes. Refer to Annex 7 to determine the number of RPM required to reach 1500G, which depends on the radius of the centrifuge.

Extract the plasma with a Pipetman and distribute it in 2 ml aliquots in three or four Nunc tubes. Put a yellow cap on each Nunc tube with plasma.

Extract the buffy coat (mainly white blood cells) with a Pasteur pipette and put it into two Nunc tubes. These aliquots should contain mainly white blood cells; in some cases, the buffy coat may be contaminated with red blood cells, in particular if the content of white blood cells was small. Put a white cap on each Nunc tube with buffy coat.

Put the remaining content of the blood collection tube (mainly red blood cells) in two Nunc tubes. Put a red cap on each Nunc tube with red blood cells.

Label the tubes carefully with the initials and the identification number of each subject, using one of the pre-printed labels provided by IARC. Protect the label with Scotch tape. Keep the tubes frozen in liquid nitrogen, nitrogen vapour or in a freezer at -70°C. Tubes can be kept in a -20°C freezer for a maximum of one month before being transferred to a -70 freezer.

#### 4.9.3 Fresh tumour biopsies

One frozen biopsy sample should be obtained from each case. The specimens should be obtained before initiation of radiotherapy or chemotherapy and, as far as possible, they should be taken from a non-necrotic, uninfected area of the tumour. This material can be obtained at different times during the routine procedures that are practised at each centre. As a general rule, two different situations can be foreseen.

If the case is operated, the material can be obtained at the time of staging or surgery: If the patient undergoes general anaesthesia for staging or surgery, it is recommended to obtain as much material as possible. The sample could be taken by the surgeon, if the tumour is macroscopically well defined, or by the pathologist when the fresh surgical specimen is taken to the laboratory. In addition, a similar size portion of non-tumoral mucosa may be collected from surgical cases and processed in the same way. Note: the collection of non-tumour tissue is optional. It is not necessary for the immediate study aims although please collect it if you can.

If the case is not to be operated, the surgeon will take, in addition to biopsies obtained for histological diagnosis, one biopsy with standard forceps prior to any form of treatment. A conflict of interest might arise in the case of tumours that are macroscopically small. In these circumstances, the pathologist will decide whether it is possible to take a sample for research purposes or whether the entire specimen has to be processed for standard diagnosis. In the latter situation, no specimen will be available for this project, the patient will be included in the study and the reason for no biopsy will be properly recorded in the log sheet (i.e., small tumour).

Whenever tissue is collected it is essential that the specimen should not be put in formalin or any other preserving medium. The study specimen should be frozen as soon as possible to minimize degradation of the DNA using liquid nitrogen or by placing it in a freezer at -70°C. If it is not possible to freeze the tissue immediately, it will be kept on ice or in a standard refrigerator at +4°C until it can be frozen. A time lapse of maximum eight hours at +4°C between collection and freezing of the sample is acceptable. Each specimen will be kept in a Nunc tube or equivalent, labelled with a pre-printed label provided by IARC and stored at -70°C until shipment to IARC.

Adequate arrangements have to be made at each centre to have rapid access to the freezer and to foresee potential problems, such as of an electrical failure.



In case the collection of a frozen biopsy is not possible, it is still recommended to obtain the paraffin embedded blocks of any biopsy available (see 4.9.5 below).

#### 4.9.4 Laryngeal cells from controls

Samples of laryngeal tissue will not be collected from controls. However, if during hospitalization controls undergo general anaesthetic including intubation, efforts should be made to obtain the tube used for the anaesthesia. If this specimen is available, it should be introduced in a 50 ml plastic tube containing PBS, shaken and brushed to detach cells that may be adhered. The PBS solution will then be centrifuged and the cell pellet isolated, diluted and frozen as described in section 4.9.1 for the oral mucosa samples.

#### 4.9.5 Slides from paraffin embedded blocks

Each pathologist will be asked to provide one slide from the paraffin embedded block from which he/she made the diagnosis. These slides will be reviewed by an expert pathologist. If required, following the revision, the slides will be returned to the laboratory of origin.

For the cases without a sample of fresh biopsy (see 4.9.3), an additional ten 10-15  $\mu$  thick slices from the paraffin embedded block should be obtained, for analysis of genetic alterations. They will be kept in 2-3 Nunc tubes and stored at +4°C or lower temperature. This material will not be returned to the laboratory of origin.

For the cases without a fresh biopsy or a paraffin embedded block, 2-5 normal pathological slides should be obtained.

#### 4.10 Statistical analysis

Data from questionnaires and results of laboratory analyses will be periodically transferred to IARC, where common data quality control procedures will be implemented. After that, each centre will receive a copy of the data set with its own data. The overall (i.e., including data from all centres) data set will be kept at IARC, where the main statistical analysis will be conducted. Each centre will be free to conduct additional or parallel analyses on its own data. Upon decision of the Study Group, the overall data set can be transferred either to one of the centres or to a third party, for additional analyses.

Standard epidemiological methods of analysis for case-control studies will be utilized (Breslow and Day, 1980, 1987), including multivariate logistic regression to control simultaneously for several potential confounders. The statistical analysis will include case-control comparisons (e.g., odds ratio of asbestos exposure given laryngeal cancer) as well as case-case comparisons (e.g., odds ratio of asbestos exposure given p53 mutation). Subgroup analyses to investigate interactions will be performed according to variables such as gender, age, centre, histological type of cancer. Sensitivity analyses will be performed to assess the effect of aspects of study design (e.g., source of controls).

#### 5. Assessment of occupational exposures

In the past, most case-control studies of occupational cancer were based on analyses of job or industry titles reported by the study subjects. Since the true occupational aetiological agent, if there is one, is a chemical or physical exposure, the job title was used as a surrogate measure for these exposures. There can however be substantial variation in exposure profiles among workers who share the same job title. Also, some occupational substances are found in subsets of several job title categories. It would be preferable to obtain information, not only on the job titles that the study subjects had, but also on their history of exposure to specific substances. Since the 1980s a few approaches have been suggested for obtaining such information in the context of community based case-control studies. The approach that is considered to be the most valid, and the one that we will use in this study, was developed by a group in Montreal (Siemiatycki, 1991).

Conducting the interview for the occupational questionnaire will be more complicated than the general questionnaire. In effect, we would like the interviewer to elicit from the subject a detailed description of each job he or she has had. The interviewers will be trained to probe for as much information as the respondent can supply. This will include (i) the company's activities, (ii) the raw materials, (iii) the final product, (iv) the worker's responsibilities for machine maintenance, (v) the type of room or building in which he worked, (vi) the activities of workmates around him, (vii) the presence of gases, fumes or dusts, and (viii) any other information which could furnish a clue as to the possible chemical or physical exposures incurred by the subject. The questionnaire should be sufficiently clear and detailed that when the questionnaire is brought back to a team of experts in occupational exposure assessment they would be able to visualize the job and make reasonable estimates about the exposures in such a job. Thus the occupational section cannot be highly structured, but rather it allows the interviewer to probe about the subject's job. For example, it makes no sense to ask the same questions of a welder and a language teacher. This requires that the

interviewers be intelligent and that they are capable of taking initiatives. It also requires that they be well trained and continuously monitored to elicit in-depth descriptions of the subjects' lifetime work histories. Specialized questionnaires have been developed to suit this purpose.

At some time after the interview, two teams of experts in occupational exposure assessment will translate the information provided into an assessment of the extent of exposure for a group chemicals. The teams will be established in each participating centre. A preliminary list of agents to be included in the assessment exercise is contained in Annex 8. For some agents, such as asbestos, a general category as well as more specific categories are included: whenever is possible, the assessment should be at the more specific level. The coding of these substances should be done on a checklist, to be prepared in each centre. For each job description in the subject's work history, the experts indicate whether each of the substances may have been present in the subject's environment. An occupational exposure is considered to be present when the substance is found to be at a higher level in the workplace than in the general environment. For each substance considered to be present the experts note their degree of confidence that the exposure actually occurred (possible, probable, definite). They also estimate the average level of concentration (low, medium or high), and the frequency of exposure during a normal workweek (less than 5%, 5-30%, or more than 30%). The exposure assessment is conducted using a consensus process whereby one coder initially attributes exposure and the other coder(s) review the decisions and discuss any points of disagreement.

Since much of the estimation involves historical jobs there is a considerable amount of detective work involved in attempting to describe such chemical environments. Active measurement is out of the question in such retrospective assessments. Several sources of information can be used; the interviewed subjects themselves, bibliographical material, consultants, local industrial hygiene data archives, and various epidemiological data banks from previous studies. The chemical coding activity is carried out completely blind with regard to the subject's disease status.

#### 5.1 Selecting and training the coding experts

There is no readily available group of professionals who can do such retrospective, semi-quantitative exposure assessment. Where this approach has been used the coders have come from various professional backgrounds. Most have been either industrial hygienists, chemists or occupational physicians. The task for the expert group is both difficult and

novel. It requires some change in their conventional way of thinking. The qualities that are most important include: experience in some industrial area, an open mind to a new way of working, and an ability to research and be innovative.

## 5.2 Coordination of occupational exposure assessment

IARC will ensure the coordination of the process of assessment of occupational exposures via the involvement of an industrial hygienist with experience in this type of approach. The industrial hygienist will visit the centres to supervise the work of the groups of experts.

A one-week training programme for the experts will be organized, possibly with the assistance of the experts from Montreal.

An additional rehearsal session involving the experts from all centres will take place midway during the process.

## 6. Analysis of biological specimens

Biological samples will be analysed for detection of HPV and possibly other viruses, genetic alterations in the p53 and other genes, and polymorphism to metabolic enzymes. In the following is a description of the analyses currently planned; in addition, material will be available from most cases and controls for possible future additional analyses.

### 6.1 Extraction of DNA and central storage of extracted DNA

[lab to be identified]

### 6.2 HPV infection

The analysis of HPV in exfoliated oral mucosa cells and biopsies will be performed in a central laboratory, still to be identified. Since the analysis of samples from most subjects included in the study of cancers of the oral cavity and the oropharynx will be performed in the Department of Pathology of the Free University Hospital, Amsterdam, the analysis of a subset of 60 samples (5 from each case or control series from each centres) will be replicated in the central laboratory and in Amsterdam.

The following description gives details on the HPV analysis performed in Amsterdam; similar procedures will be adopted in the central laboratory. Two different general/-consensus-primer pairs will be used: GP5+/GP6+, which span a region of 150 bp from the L1 open reading frame (ORF) of a broad spectrum of mucosotropic HPV genotypes (De Roda Husman *et al.*, 1995), and CPI/CPII which direct the amplification of a 188 bp fragment from the E1 ORF of a broad spectrum of cutaneous and mucosotropic HPV genotypes (Smits *et al.*, 1992). This should allow to explore also the existence of putative novel HPV types in the oral cavity and oropharynx. Special care will be taken to control contamination problems, including use of disposable equipment and spatially separated rooms and assessment of HPV-negative samples.

### 6.3 Other viruses

The analysis of other viruses possibly implicated in laryngeal carcinogenesis (HSV, EBV) will be considered.

### 6.4 Analysis of genetic alterations

The analysis of the mutation spectrum of the p53 gene will be carried out at a laboratory to be identified.

Mutations within the central portion of p53 (where about 90% of all p53 mutations occur) will be analysed by PCR amplification of exons 5 to 0 followed by Denaturing-Gradient Gel Electrophoresis (DGGE). The exact localization and the nature of the mutations found by DGGE will be confirmed by direct sequencing of small PCR product encompassing the region suspected to contain the mutation. This strategy has demonstrated its suitability for the rapid, sensitive and accurate detection of p53 mutations (Børresen *et al.*, 1991). The analysis of p53 mutations will be primarily performed on well-defined cancer cases, in particular in biopsies. When applicable, the same DNA samples as those used for detection of HPV will be used for PCR amplification of p53 exons. Limited number of HPV-positive and HPV-negative samples from normal controls will however be screened in order to determine whether p53 mutations may already be present prior to the development of overt lesions.

The analysis of genetic alterations in other genes, such as p16, will be considered.

## 6.5 Metabolic polymorphisms

DNA from blood samples of subsets of cases and controls, defined according to exposure to relevant risk factors, will be analysed for genetic polymorphism of metabolic enzymes possibly involved in the metabolism of oral and laryngeal carcinogens. A preliminary list of such enzymes includes CYP2D6, GSTM1, GSTT1, AIDH, ADH, myeloperoxidase. Other enzymes (e.g., NAT1, NAT2) may be selected if the evidence of a role played by them will accumulate.

The analysis will be carried out at a laboratory to be identified.

## 7. Organization of the study and ethical issues

The Units of Environmental Cancer Epidemiology and of Field and Intervention Studies of IARC will be responsible for the overall coordination of this study. Periodical visits will be paid to the participating centres to assist in the planning and implementation of the study and in particular to ensure adherence to the protocol.

In each centre the principal investigator will be responsible for the supervision of the field activities including identification of suitable cases and controls, supervision of interviewers, checking of the questionnaires to ensure that all questions have been properly answered and coded, supervision of the collection, and storage of specimens.

Each centre retains the ownership of its own data. The ownership of the overall data set remains with the Study Group, which comprises the principal investigator from each centre and from each laboratory and scientists from IARC. The Study Group takes decisions on all aspects of the study, including laboratory and statistical analysis and publications. Although consensus is always sought, the Study Group can decide according to majority.

Each centre will obtain the clearance of the local ethical committee. In order to participate in the study, cases and controls will sign an informed consent form. Copy of the clearance and of the consent form will be provided to IARC.

## 8. Publication of results

The results based on the overall data set will be published by the Study Group; IARC will normally take responsibility for preparing the draft of such papers. The results for each individual centre can be published independently; however, they should not be published before the results based on the overall data set are available, unless the centre-specific papers cover aspects that will not be addressed in the analysis of the combined data set. Academic publications, such as Master and PhD theses based on centre-specific results, can be prepared at any time. Efforts should be made to coordinate centre-specific and overall publications.

## 9. Collaborators

### **IARC**

Paolo Boffetta  
Unit of Environmental Cancer Epidemiology  
International Agency for Research on Cancer  
150, cours Albert Thomas  
F-69372 Lyon cedex 08  
tel. +33-4-72738441  
fax +33-4-72738342  
e-mail boffetta@iarc.fr

Paul Brennan  
Unit of Environmental Cancer Epidemiology  
International Agency for Research on Cancer  
150, cours Albert Thomas  
F-69372 Lyon cedex 08  
tel. +33-4-72738391  
fax +33-4-72738342  
e-mail brennan@iarc.fr

Rolando Herrero  
Unit of Field and Intervention Studies  
International Agency for Research on Cancer  
150, cours Albert Thomas  
F-69372 Lyon cedex 08  
tel. +33-4-72738425  
fax +33-4-72738575  
e-mail herrero@iarc.fr

### **Amsterdam**

Jan M.M. Walboomers  
Section of Molecular Pathology  
Department of Pathology  
Free University Hospital  
PO Box 7057  
NL-1007 MB Amsterdam  
tel. +31-20-4444023  
fax +31-20-4442964  
e-mail pathol@azvu.nl

### **Pelotas**

Ana Menezes  
Departamento de Clinica Medica  
Faculdade de Medicina  
Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)  
Av. Duque de Caixas 250  
96030-002 Pelotas, RS, Brazil  
tel. +55-532-712442  
fax +55-532-712645  
e-mail anamene@nutecnet.com.br



## **Porto Alegre**

Alexander W. Daudt  
Oncology Unit  
Hospital de Clínicas de Porto Alegre  
Rua Ramiro Barcellos 2350  
Cx. Postal 1247  
90210 Porto Alegre, RS, Brazil  
tel. +55-512-316699  
fax +55-512-273803 or 339135  
e-mail [adaudt@pro.via-rs.com.br](mailto:adaudt@pro.via-rs.com.br)

## **Goiânia**

Maria Paula Curado  
Associação de Combate ao Câncer em Goiás  
Rua 239 No. 181, Setor Universitário  
Caixa Postal 871  
74605-070 Goiânia, GO, Brazil  
tel. +55-62-2127333  
fax +55-62-2245513

## **Rio de Janeiro**

Sergio Koifman  
Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)  
Escola Nacional de Saúde Pública  
Av. Leopoldo Bulhões 1480, Sala 827  
21041-210 Rio de Janeiro, RJ, Brazil  
tel. +55-21-2706772  
fax +55-21-2808194  
e-mail [koifman@dcc001.cict.fiocruz.br](mailto:koifman@dcc001.cict.fiocruz.br)

## **São Paulo**

Victor Wünsch Filho  
Departamento de Epidemiologia  
Faculdade de Saúde Pública  
Universidade de São Paulo  
Av. Dr. Arnaldo 715  
01246-904 São Paulo, SP, Brazil  
tel. +55-11-30615233  
fax +55-11-8812108  
e-mail [wunsch@usp.br](mailto:wunsch@usp.br)

Dr Jose Eluf Neto  
Departamento de Medicina Preventiva  
Faculdade de Medicina  
Universidade de São Paulo, Av Dr. Arnaldo 455  
São Paulo, SP, 01246-903, Brazil  
tel. +55-11-852 6822  
fax +55-11-280 7891  
e-mail [jelufnut@usp.br](mailto:jelufnut@usp.br)

## **Buenos Aires**

Elena Matos  
Instituto de Oncología 'Angel H. Roffo'  
Facultad de Medicina  
Universidad de Buenos Aires  
Av. San Martín 5481  
1417 Buenos Aires, Argentina  
tel. +54-1-5022005 ext. 81  
fax +54-1-5034370  
e-mail [matos@invrof.fmed.uba.ar](mailto:matos@invrof.fmed.uba.ar)

## 10. Timetable

Finalization of the protocol, pilot study	Months 1-8
Data collection	Months 9-32
Training of experts	Month 9
Occupational exposure assessment	Months 10-35
HPV analysis	Months 13-36
Metabolic polymorphism analysis	Months 13-36
Genetic alteration analysis	Months 18-36
Statistical analysis	Months 25-40
Preparation of reports	Months 40-42

## 11. References

- Alexandrie, A.K., Sundberg, M.I., Seidegard, J., Tornling, G., Rannug, A., Genetic susceptibility to lung cancer with special emphasis on CYP1A1 and GSTM1: a study on host factors in relation to age at onset, gender and histological cancer types. *Carcinogenesis*, 15, 1785-1790 (1994).
- Anttila, S., Luostarinen, L., Hirvonen, A., Elovaara, E., Karjalainen, A., Nurminen, T., Hayes, J.D., Vainio, H., Ketterer, B., Pulmonary expression of glutathione S-transferase M3 in lung cancer patients: association with GSTM1 polymorphism, smoking and asbestos exposure. *Cancer Res.*, 55, 3305-3309 (1995).
- Austin, D.F., Reynolds, P., Laryngeal cancer. In: Schottenfeld, D., Fraumeni, J.R., Jr, eds, *Cancer epidemiology and prevention*, second edition. Oxford University Press, New York, pp. 619-636 (1996).
- Balaram, P., Nalinakumari, K.R., Abraham, E., Balan, A., Hareendran, N.K., Bernard, H.-U., Chan, S.-Y., Human papillomaviruses in 91 oral cancers from Indian betel quid chewers - high prevalence and multiplicity of infections. *Int. J. Cancer*, 61, 450-454 (1995).
- Begg, C.B., Zhang, Z.-F., Statistical analysis of molecular epidemiology studies employing case-series. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 3, 173-175 (1994).
- Benhamou, S., Bouchardy, C., Paoletti, C., Dayer, P., Effects of CYP2D6 activity and tobacco on larynx cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 5, 683-686 (1996).
- Blot, W.J., Mclaughlin, J.K., Winn, D.M., Austin, D.F., Greenberg, R.S., Preston Martin, S., Bernstein, L., Schoenberg, J.B., Stemhagen, A., Fraumeni, J.F., Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.*, 48, 3282-3287 (1988).
- Blot, W.J., Devesa, S.S., Mclaughlin, J.K., Fraumeni, J.F., Oral and pharyngeal cancers. *Cancer Surveys*, 19/20, Trends in Cancer Incidence and Mortality, 23-42 (1994).
- Bondy, M.L., Spitz, M.R., Halabi, S., Fueger, J.J., Schantz, S.P., Sample, D., Hsu, T.C., Association between family history of cancer and mutagen sensitivity in upper aerodigestive tract cancer patients. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 2, 103-106 (1993).
- Børresen, A.L., Hovig, E., Smith-Sorensen, B., Malkin, D., Lystad, S., Andersen, T.I., Nesland, J.M., Isselbacher, K.H., Friend, S.H., Constant denaturant gradient gel electrophoresis as a rapid screening technique for p53 mutations. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 88, 8405-8409 (1991).

- Bosch, F.X., Muñoz, N., De Sanjosé, S., Navarro, C., Moreo, P., Ascunce, N., Gonzalez, L.C., Tafur, L., Gili, M., Larrañaga, I., Viladiu, P., Daniel, R.W., Alonso de Ruiz, P., Aristizabal, N., Santamaria, M., Guerrero, E., Shah, K.V., Human papillomavirus and cervical intraepithelial neoplasia grade III/carcinoma in situ: a case-control study in Spain and Colombia. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 2, 415-422 (1993).
- Bosch, F.X., Manos, M., Muñoz, N., Sherman, M., Jansen, A.M., Peto, J., Schiffman, M.H., Moreno, V., Kurman, R., Shah, K.V., Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J. Natl Cancer Inst.*, 87, 796-802 (1995).
- Boyle, J.O., Hakim, J., Koch, W., Van der Riet, P., Hruban, R.H., Roa, R.A., Correo, R., Eby, Y.J., Ruppert, J.M., Sidransky, D., The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. *Cancer Res.*, 53, 4477-4480 (1993).
- Breslow, N.E., Day, N.E., *Statistical methods in cancer research. Vol. I, The analysis of case-control studies.* IARC Scientific Publications No. 32, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1980).
- Breslow, N.E., Day, N.E., *Statistical methods in cancer research. Vol. II, The design and analysis of cohort studies.* IARC Scientific Publications No. 82, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1987).
- Cason, J., Kaye, J.N., Best, J.M., Non-sexual acquisition of human genital papillomaviruses. *Papillomavirus Report*, 6, 1-7 (1995).
- Coleman, M., Estève, J., Damiecki, P., Arslan, A., Renard, H., Trends in cancer incidence and mortality. IARC Scientific Publications No. 121. International Agency for Research on Cancer, Lyon (1993).
- Cotran, R.S., Kuman, V., Robbin, S.L., *Pathologic basis of disease.* W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp. 218-824 (1989).
- De Roda Husman, A.M., Walboomers, J.M.M., Van den Brule, A.J.C., Meijer, C.J.L.M., Snijders, P.J.F., The use of general primers GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by polymerase chain reaction. *J. Gen. Virol.*, 76, 1057-1062 (1995).
- De Stefani, E., Correa, P., Oreggia, F., Leiva, J., Rivero, S., Fernandez, G., Deneo-Pellegrini, H., Zavala, D., Fontham, E., Risk factors for laryngeal cancer. *Cancer*, 60, 3087-3091 (1987).
- De Stefani, E., Oreggia, F., Rivero, S., Fierro, L., Hand-rolled cigarette smoking and risk of cancer of the mouth, pharynx, and larynx. *Cancer*, 70, 679-682 (1992).
- De Stefani, E., Oreggia, F., Rivero, S., Ronco, A., Fierro, L., Salted meat consumption and the risk of laryngeal cancer. *Eur. J. Epidemiol.*, 11, 177-180 (1995).
- De Stefani, E., Boffetta, P., Oreggia, F., Ronco, A., Kogevinas, M., Mendilaharsu, M., Occupation and the risk of laryngeal cancer in Uruguay (submitted).

- Eluf-Neto, J., Booth, M., Muñoz, N., Bosch, F.X., Meijer, C.J.L.M., Walboomers, J.M.M., Human papillomavirus and invasive cervical cancer in Brazil. *Br. J. Cancer*, 69, 114-119 (1994).
- Fernandez-Salguero, P., Hoffman, S.M.G., Choleton, S., Mohrenweiser, H., Raunio, H., Pelkonen, O., Huang, J., Evans, W.E., Idle, J.R., Gonzalez, F.J., A genetic polymorphism in coumarin 7-hydroxylation: sequence of the human CYP 2A genes and identification of variant CYP 2A6 alleles. *Am. J. Human Genetics*, 57, 615-660 (1995).
- Foulkes, W.D., Brunet, J.-S., Kowalski, L.P., Narod, S.A., Franco, E.L., Family history of cancer is a risk factor for squamous cell carcinoma of the head and neck in Brazil: a case-control study. *Int. J. Cancer*, 63, 769-773 (1995).
- Franceschi, S., Bidoli, E., Barón, A.E., Barra, S., Talamini, R., Serraino, D., La Vecchia, C., Nutrition and cancer of the oral cavity and pharynx in north-east Italy. *Int. J. Cancer*, 47, 20-25 (1991).
- Franceschi, S., Muñoz, N., Bosch, X.F., Snijders, P.J.F., Walboomers, J.M.M., Human papillomavirus and cancers of the upper aerodigestive tract: a review of epidemiological and experimental evidence. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 5, 567-575 (1996).
- Greenblatt, M.S., Bennett, W.P., Hollstein, M., Harris, C.C., Mutations in the p53 tumour suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res.*, 54, 4855-4878 (1994).
- Hainaut, P., The tumor suppressor gene p53: a receptor to genotoxic stress that controls cell growth and survival. *Current Opinion Oncol.*, 7, 76-82 (1995).
- Harris, C.C., Tobacco smoke and lung disease: who is susceptible? *Ann. Intern. Med.*, 105, 607-609 (1987).
- Hayashi, S., Watanabe, J., Kawajiri, K., High susceptibility to lung cancer analyzed in terms of combined genotypes of P450IA1 and Mu-class glutathione S-transferase genes. *Jpn. J. Cancer Res.*, 83, 866-870 (1992).
- Hirvonen, A., Husgafvel Pursiainen, K., Anttila, S., Vainio, H., The GSTM1 null genotype as a potential risk modifier for squamous cell carcinoma of the lung. *Carcinogenesis*, 14, 1479-1481 (1993).
- Hollstein, M., Shomer, B., Greenblatt, M., Soussi, T., Hovig, R., Montesano, R., Harris, C.C., Somatic mutations in the p53 gene of human tumours and cell lines: updated compilation. *Nucl. Acid. Res.* (in press).

- IARC, Tobacco habits other than smoking: betel-quid and areca-nut chewing; and some related nitrosamines. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 37, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1985).
- IARC, Tobacco smoking. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 38, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1986).
- IARC, Alcohol drinking. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 44. International Agency for Research on Cancer, Lyon (1988).
- IARC, Occupational exposures to mists and vapours from sulfuric acid and other strong inorganic acids. In: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 54, Occupational exposures to mists and vapours from strong inorganic acids; and other industrial chemicals. International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp. 41-119 (1992).
- IARC, Human papillomaviruses. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 64, International Agency for Research on Cancer, Lyon (1995).
- Jahnke, V., Strange, R., Matthias, C., Fryer, A., Glutathione S-transferase and cytochrome P450 genotypes as risk factors for laryngeal carcinoma. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 254, S147-S149 (1997)
- Kato, S., Shields, P.G., Caporaso, N.E., Sugimura, H., Trivers, G.E., Tucker, M.A., Trump, B.F., Weston, A., Harris, C.C., Analysis of cytochrome P450 2E1 genetic polymorphisms in relation to human lung cancer. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 3, 515-518 (1994).
- Kawajiri, K., Nakachi, K., Imai, K., Watanabe, J., Hayashi, G., Germ line polymorphisms of p53 and CYP1A1 genes involved in human lung cancer. *Carcinogenesis*, 14, 1085-1089 (1993).
- Kellokoski, J.K., Syrjanen, S.M., Chang, F., Yliskoski, M., Syrjanen, K.J., Southern blot hybridization and PCR in detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections. *J. Oral Pathol. Med.*, 21, 459-464 (1992).
- Lafuente, A., Pujol, F., Carretero, P., Villa, J.P., Cuchi, A., Human glutathione S-transferase  $\mu$  (GST $\mu$ ) deficiency as a marker for the susceptibility to bladder and larynx cancer among smokers. *Cancer Lett.*, 68, 49-54 (1993).
- La Vecchia, C., Lucchini, F., Negri, E., Boyle, P., Maisonneuve, P., Levi, F., Trends of cancer mortality in Europe, 1955-1989: I. Digestive sites. *Eur. J. Cancer*, 28, 132-235 (1992).

- Lawton, G.M., Thomas, S.J., Schonrock, J., Monsour, F.N., Frazer, I.H., Prevalence of genital human papillomaviruses in normal oral mucosa: a comparison of methods for sample collection. *J. Oral Pathol. Med.*, 21, 265-269 (1992).
- Maden, C., Beckmann, A.M., Thomas, D.B., Mcknight, B., Sherman, K.J., Ashley, R.L., Corey, L., Daling, J.R., Human papillomaviruses, herpes simplex viruses, and the risk of oral cancer in men. *Am. J. Epidemiol.*, 135, 1093-1102 (1992).
- Mclaughlin, J.K., Gridley, G., Block, G., Winn, D.M., Preston-Martin, S., Schoenberg, J.B., Greenberg, R.S., Stemhagen, A., Austin, D.F., Ershow, A.G., Blot, W.J., Fraumeni, J.F., Dietary factors in oral and pharyngeal cancer. *J. Natl Cancer Inst.*, 80, 1237-1243 (1988).
- Moy, R.L., Eliezri, Y.D., Nouvo, G.J., Zitelli, J.A., Bennett, R.G., Silverstein, S., Human papillomavirus type 16 DNA in periungual squamous cell carcinomas. *J. Am. Med. Assoc.*, 261, 2669-2674 (1989).
- Muñoz, N., Bosch, F.X., de Sanjosé, S., Tafur, L., Izarzugaza, I., Gili, M., Viladiu, P., Navarro, C., Martos, C., Ascunce, N., Gonzalez, L.C., Kaldor, J.M., Guerrero, E., Lörincz, A., Santamaria, M., Alonso de Ruiz, P., Aristizabal, N., Shah, K., The causal link between human papillomavirus and invasive cervical cancer: a population-based case-control study in Colombia and Spain. *Int. J. Cancer*, 52, 743-749 (1992).
- Nawroz, H., van der Riet, P., Hruban, R.H., Koch, W., Ruppert, J.M., Sidransky, D., Allelotype of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.*, 54, 1152-1155 (1994).
- Niedobitek, G., Pitteroff, S., Herbst, H., Shepherd, P., Finn, T., Anagnostopoulos, I., Stein, H., Detection of human papillomavirus type 16 DNA in carcinomas of the palatine tonsil. *J. Clin. Pathol.*, 43, 918-921 (1990).
- Ogura, H., Watanabe, S., Fukushima, K., Masuda, Y., Fujiwara, T., Yabe, Y., Human papillomavirus DNA in squamous cell carcinomas of the respiratory and upper digestive tracts. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 23, 221-225 (1993).
- Parkin, D.M., Pisani, P., Ferlay, J., Estimates of the worldwide incidence of eighteen major cancers in 1985. *Int. J. Cancer*, 54, 594-606 (1993).
- Parkin, D.M., Whelan, S.L., Ferlay, J., Raymond, L., Young, J., eds., *Cancer Incidence in Five Continents, Vol. VII. IARC Scientific Publications No. 143. International Agency for Research on Cancer, Lyon (1997).*
- Percy, C., Van Holten, V., Muir, C., *ICD-O: International Classification of Diseases for Oncology, Second Edition. World Health Organization, Geneva (1990).*
- Pintos, J., Franco, E.L., Oliveira, B.V., Kowalski, L.P., Curado, M.P., Dewar, R., Maté, coffee, and tea consumption and risk of cancers of the upper aerodigestive tract in Southern Brazil. *Epidemiology*, 5, 583-590 (1994).



- Pisani, P., Parkin, D.M., Ferlay, J., Estimates of the worldwide mortality from eighteen major cancers in 1985. Implications for prevention and projections of future burden. *Int. J. Cancer*, 55, 891-903 (1993).
- Pou, A.M., Rimell, F.L., Jordan, J.A., Shoemaker, D.L., Johnson, J.T., Barua, P., Post, J.C., Ehrlich, G.D., Adult respiratory papillomatosis: human papillomavirus type and viral coinfections as predictors of prognosis. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 104, 758-762 (1995).
- Rihkanen, H., Peltomaa, J., Syrjanen, S., Prevalence of human papillomavirus (HPV) DNA in vocal cords without laryngeal papillomas. *Acta Otolaryngol. Stockh.*, 114, 348-351 (1994).
- Schwartz, S.M., Mao, E.-J., Beckmann, A.M., Tickman, E., Fitzgibbons, D., Doody, D., Ashley, R.L., Daling, J.R., Sexual history, human papillomavirus and herpes simplex virus infection, and oral cancer risk: preliminary results from a population-based study. Abstract presented at the 14th International Papillomavirus Conference, Quebec, 23-28 July 1995, page 58 (1995).
- Seidegard, J., Pero, R.W., Markowitz, M.M., Roush, G., Miller, D., Beattie, E.J., Isoenzymes(s) of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a follow-up study. *Carcinogenesis*, 11, 33-36, (1990).
- Shin, D.M., Hittelman, W.N., Hong, W.K., Biomarkers in upper aerodigestive tract tumorigenesis: a review. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 3, 697-709 (1994a).
- Shin, D.M., Kim, J., Ro, J.Y., Hittelman, J., Roth, J.A., Hong, W.K., Hittelman, W.N., Activation of p53 gene expression in premalignant lesions during head and neck tumorigenesis. *Cancer Res.*, 54, 321-326 (1994b).
- Shin, K.H., Min, B.M., Cherrick, H.M., Park, N.H., Combined effects of human papillomaviruses 18 and N-methyl-n'-nitro-N-nitrosoguanidine on the transformation of normal human oral keratinocytes. *Molec. Carcinog.*, 9, 76-82 (1994c).
- Sidransky, D., Cancer of the head and neck. In: DeVita, V.T., Jr, Hellman, S., Rosenberg, S.A., eds, *Cancer: principles & practice of oncology*, fifth edition. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, pp. 735-740 (1997).
- Siemiatycki, J., Risk factors for cancer in the workplace. CRC Press, Boca Raton (1991).

- Smits, H.L., Tieben, L.M., Tjong-A-Hung, S.P., et al., Detection and typing of human papillomaviruses present in fixed and stained archival cervical smears by a consensus polymerase chain reaction and direct sequence analysis allow the identification of a broad spectrum of human papillomavirus types. *J. Gen. Virol.*, 73, 3263-3268 (1992).
- Snijders, P.J., Cromme, F.V., van den Brule, A.J., Schrijnemakers, H.F., Snow, G.B., Meijer, C.J., Walboomers, J.M., Prevalence and expression of human papillomavirus in tonsillar carcinomas, indicating a possible viral aetiology. *Int. J. Cancer*, 51, 845-850 (1992).
- Spitz, M.R., Hoque, A., Trizna, Z., Schantz, S.P., Amos, C.I., King, T.M., Bondy, M.L., Hong, W.K., Hsu, T.C., Mutagen sensitivity as a risk factor for second malignant tumors following malignancies of the upper aerodigestive tract. *J. Natl. Cancer Inst.*, 86, 1681-1684 (1994).
- Steenbergen, R.D.M., Hermsen, M.A.J.A., Walboomers, J.M.M., Joenje, H., Arwert, F., Meijer, C.J.L.M., Snijders, P.J.F., Integrated human papillomavirus type 16 and loss of heterozygosity at 11q22 and 18q21 in an oral carcinoma and its derivative cell line. *Cancer Res.*, 55, 5465-5471 (1995).
- Thomas, S., Brennan, J., Martel, G., Frazer, I., Montesano, R., Sidransky, D., Hollstein, M., Mutations in the conserved regions p53 are infrequent in betel-associated oral cancers from Papua New Guinea. *Cancer Res.*, 54, 3588-3593 (1994)
- Trizna, Z., Schantz, S.P., Hereditary and environmental factors associated with risk and progression of head and neck cancer. *Otolaryngol. Clin. North Am.*, 25, 1089-1103 (1992).
- Watts, S.L., Brewer, E.E., Fry, T.L., Human papillomavirus DNA types in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 71, 701-707 (1991).
- WCRF/AICR, Food, nutrition and the prevention of cancer: a global perspective. American Institute for Cancer Research, Washington, DC (1997).
- Zheng, W., Blot, W.J., Shu, X.O., Gao, Y.T., Ji, B.T., Ziegler, R.G., and Fraumeni, J.F., Diet and other risk factors for laryngeal cancer in Shanghai, China. *Am. J. Epidemiol.*, 136, 178-191 (1992).

**ESTUDO INTERNACIONAL MULTICÊNTRICO SOBRE DOENÇAS DA BOCA,  
LARINGE E ESÔFAGO**

**ANEXO I  
QUESTIONÁRIO SOBRE HÁBITOS DE VIDA**

1. Número de identificação      |\_|\_|\_|    |\_|    |\_|\_|\_|\_|  
   País    Centro    N° pessoa

O número de identificação é composto dos valores para país, centro e número da pessoa.  
Os números das pessoas são números consecutivos para cada centro e não devem incluir a identificação, casos ou controles.

2. Regras gerais

- As colunas devem ser preenchidas com justificção pela direita.  
( válido |\_|\_|\_1\_|\_2\_| não válido |\_|\_1\_|\_2\_|\_| )
- Deixe em branco se a questão não foi perguntada ou não se aplica.
- Evite ignorado ou códigos desconhecidos; insista em obter uma resposta mesmo que seja uma estimativa.
- Se você não conseguir uma resposta ou uma estimativa, as colunas devem ser preenchidas com 9.
- Quando estiver escrito “especifique”, anote sua resposta na linha contínua.
- O número de identificação deverá ser usado no questionário e nas amostras biológicas e deverá ser escrito, junto com as iniciais da pessoa, em cada amostra.

3. Códigos locais (CL)

Variam de um lugar para outro. Pergunte ao coordenador local do estudo (ex: entrevistador, hospital, cidade, conteúdo de nicotina e tipo de tabaco para cigarros, etc).

Nome do paciente: .....
Endereço: .....
.....
.....
Telefone: .....

## TABELA DE CONTEÚDOS

### Informações gerais:

- Página 3: estado, hospital, diagnóstico
- Página 4: introdução
- Página 5: termo de consentimento
- Página 6: idade, sexo, residência, escolaridade

### Hábitos do fumo

- Página 7-8: cigarros, cigarrilhas, cachimbo

### Hábitos de dieta

- Página 9: alimentos
- Página 10: gordura, vitaminas

### Hábitos de bebida

- Página 11: álcool
- Página 12: mate

### Hábitos sexuais

- Página 13

### História de doenças

- Página 14

### História de câncer na família

- Páginas 15-16

### Saúde da boca

- Página 17

### História ocupacional

- Página 18-21: história ocupacional

### Qualidade da entrevista

- Página 22

### Exame do entrevistador

- Páginas 23-25: instruções da coleta de células esfoliadas da cavidade oral, medidas antropométricas, exame oral, coleta da amostra.

### CA (somente para casos)

- Páginas 22-24

**ESTUDO INTERNACIONAL MULTICÊNTRICO SOBRE DOENÇAS DA BOCA,  
LARINGE E ESÔFAGO**

Número de identificação: ..... |\_|\_|\_| - |\_|\_| - |\_|\_|\_|\_|\_|  
(para ser usado nos espécimes biológicos) País C N°  
pessoa

País: ..... |\_|\_|

- |                |                    |
|----------------|--------------------|
| País           | Centro (C)         |
| (08) Brasil    | (1) Porto Alegre   |
|                | (2) Rio de Janeiro |
|                | (3) São Paulo      |
|                | (4) Pelotas        |
|                | (5) Goiânia        |
| (15) Argentina | (1) Buenos Aires   |

Número da pessoa = número consecutivo, para cada centro

A1 Estado: (1) Caso (2) Controle ..... |\_|

N° do registro médico ou prontuário: \_\_\_\_\_

A2 Iniciais (sobrenome-nome) ..... |\_|\_|

A3 Hospital (CL) ..... /\_/\_/

A4 Departamento ..... |\_|\_|

- |                    |                  |
|--------------------|------------------|
| (1) Clínica Médica | (8) odontologia  |
| (2) Cirurgia       | (9) Radioterapia |
| (3) Gin/Obst       | (10) Oncologia   |
| (4) Ortopedia      | (11) Ambulatório |
| (5) Otorrinol.     | (12) Outro _____ |
| (6) Dermatologia   | (especificar)    |
| (7) Oftalmologia   |                  |

A5 Diagnóstico principal da baixa hospitalar ..... |\_|\_|\_|\_|-|\_|  
(em caso de pacientes ambulatoriais apenas com suspeita de câncer = 8888) (CID - 10)

A6 Data da admissão hospitalar (ou consulta) ..... |\_|\_|-|\_|\_|-|\_|\_|  
dia mês ano

A7 Entrevistador (CL) ..... /\_/

Bom dia Sr.(a) .....

Meu nome é .....

Nós estamos realizando um estudo para saber se certos hábitos das pessoal estão relacionados com algumas doenças.

Vou lhe fazer algumas perguntas e anotar as respostas deste questionário.

Tudo que for dito será confidencial.

Se o(a) Sr.(a) não entender qualquer uma das questões, peça para eu lhe explicar.

Além desse questionário, vamos passar uma escova de dentes na sua boca para coletar células e retirar uma amostra de sangue (alguém do laboratório fará a coleta do sangue).

Podemos começar?

Será que p(a) Sr.(a) poderia assinar essa folha de consentimento?

## TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu, \_\_\_\_\_,  
concordo em participar do estudo de cavidade oral e laringe. Compreendo que o objetivo do projeto é aprimorar o conhecimento e prevenção de doenças.

Tenho conhecimento de que serei questionado sobre meu passado, educação, ocupação, história familiar, saúde, fumo, álcool, hábitos alimentares e estilo pessoal de vida. Algumas questões serão pessoais. Posso me recusar a responder qualquer questão que me incomode.

Aceito que um pesquisador retire uma pequena quantidade de sangue do meu braço, totalizando 10cc (duas colheres de chá). O pesquisador fará, também, um esfregaço de minha mucosa oral para testes laboratoriais. Alguns dos testes da amostra de sangue e do material da cavidade oral serão de pesquisa. Eu compreendo que procedimentos médicos padronizados serão usados para a obtenção da amostra de sangue e do esfregaço oral. Sei, ainda, que este material será enviado para a Europa e analisado nos laboratórios da IARC.

Poderá haver algum pequeno desconforto devido ao exame oral ou à retirada de sangue. Raramente, pode-se desenvolver um hematoma no local da punção. Embora o risco destes procedimentos seja mínimo, na eventualidade de ocorrerem reações adversas, compreendo que serei tratado. Se qualquer doença for indicada pelos resultados dos exames, serei notificado e encaminhado para os devidos exames adicionais e tratamento, se necessário.

Toda a informação médica e pessoal obtida nesse estudo que permitirá a identificação do indivíduo será mantida em absoluto sigilo e será usada somente para fins de pesquisa. Meu nome e outros dados de identificação não aparecerão em nenhum relato do estudo.

Minha participação é voluntária, e poderei recusar-me a participar de qualquer procedimento do estudo em qualquer momento, sem penalidade ou perda de benefício, incluindo procedimentos diagnósticos e terapêuticos relacionados com meu atual problema de saúde. Sei que, a qualquer momento, poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão, se assim eu desejar.

Fui informado de que o orçamento da pesquisa arcará com os gastos adicionais que forem necessários para que desenvolva-se. Caso tiver novas perguntas sobre esse estudo, posso entrar em contato com o Dr. Alexander Daudt, no telefone 980-61986.

Nº de identificação: \_\_\_\_\_

_____	_____	____/____/____
assinatura do paciente	nome do paciente	data
_____	_____	____/____/____
assinatura do pesquisador	nome do pesquisador	data
_____	_____	____/____/____
assinatura da testemunha	nome da testemunha	data

**INFORMAÇÕES GERAIS**

- B1 Data da entrevista ..... | | | - | | | - | | |  
dia mês ano
- B2 início da entrevista ..... | | | | | |  
hora min
- B3 Sexo: (1) Masculino (2) Feminino ..... | |
- B4 Qual é a sua idade (anos completos) ? ..... | | |
- B5 Data de nascimento ..... | | | - | | | - | | |  
dia mês ano
- B6 Qual a cidade onde o(a) Sr.(a) mora (CL)? ..... / \_ / \_ / \_ / \_ / \_ /
- 
- B7 Há quanto tempo o(a) Sr(a) mora nessa cidade? ..... | | |  
**(se menos de um ano, codifique a cidade como 00)**
- B8 Se o(a) Sr(a) está vivendo há menos de 1 ano nessa cidade, onde o Sr(a)  
morava antes? (CL) ..... / \_ / \_ / \_ / \_ / \_ /  
\_\_\_\_\_
- B9 Em que cidade o(a) Sr(a) nasceu (CL)? ..... / \_ / \_ / \_ / \_ / \_ /  
\_\_\_\_\_
- B10 O(a) Sr.(a) frequentou a escola? (1) sim (2) não ..... | | |  
**(SE "NÃO", VÁ PARA C1)**
- B11 Qual o último ano (série) completo que o(a) Sr.(a) terminou na escola? \_\_ \_\_ ano ..... | | |
- B12 Até que grau o(a) Sr.(a) estudou? (CL) \_\_ grau ..... / \_ /



**HÁBITOS DE FUMO**

C1 O(a) Sr(a) fuma ou já fumou em média 1 cigarro ou charuto ou cachimbo, diariamente, pelo menos por 1 ano?

**SE PAROU NOS ÚLTIMOS 12 MESES, A RESPOSTA É (1) SIM, AINDA FUMA...|\_|**

(1) sim, ainda fuma (2) nunca fumou (3) SOMENTE NO PASSADO

**(SE “NUNCA”, VÁ PARA A C5)**

Por favor, descreva os períodos de sua vida em que o(a) Sr(a) fumou cigarro, charuto ou cachimbo, as quantidades que fumou e outros detalhes sobre o fumo. Por favor, tente lembrar as mudanças mais importantes quanto à quantidade e tipo de cada cigarro. Ignore mudanças que ocorreram por períodos curtos (menos de 1 ano).

Entrevistador: Evite a superposição de anos para o mesmo tipo de cigarro, por exemplo, 30-40, 41-45 ao invés de 30-40, 40-45.

C2 O(a) Sr.(a) fuma ou já fumou “cigarro”? **(SE NÃO, VÁ PARA A C3)**

Cigarro (a)	Idade de início	Idade que parou	Tipo de tabaco (b)	Tipo de cigarro (c)	Marca	Nº dia
_	_	_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_	_	_____/ _	_

- (a) (1) sim (2) não
- (b) Perguntado somente na Argentina
- (c) (1) **manufaturado, com filtro** (2) **manufaturado, sem filtro**  
 (3) **enroladinho de papel** (4) **enroladinho de palha**  
 (9) **não sabe**

C3 O(a) Sr.(a) fuma ou já fumou charuto? **(SE “NÃO”, VÁ PARA C4)**

Charuto (a)	Idade de início	Idade que parou	Marca	Nº dia
_	_	_	_____/ _	_
	_	_	_____/ _	_
	_	_	_____/ _	_

- (a) (1) **sim**  
(2) **não**

C4 O(a) Sr.(a) fuma ou já fumou cachimbo? (SE “NÃO”, VÁ PARA C5)

Cachimbo	Idade de início	Idade que parou	Marca	Nº de vezes que enche cachimbo/dia
(a)			_____ / /	
			_____ / /	
			_____ / /	

(a) (1) sim  
(2) não

C5 O(a) Sr.(a) fuma ou já fumou maconha (marijuana), pelo menos uma vez por semana e pelo menos por 6 meses? (SE “NÃO”, VÁ PARA C6)

Marijuana	Idade de início	Idade que parou	Nº de vezes que semana
(a)			

(a) (1) sim  
(2) não

**AS QUESTÕES C6-C9 SÃO SOMENTE PARA NÃO FUMANTES**

C6 O(a) Sr.(a) esteve casado (ou vivendo junto) com um(a) fumante?  
(1) sim (2) não (SE “NÃO”, VÁ PARA C8)

C7 Descreva o hábito do fumo de seu(sua) esposo(a) na sua presença:

Sua idade quando esposo(a) iniciou	Sua idade quando esposo(a) parou	Nº de horas que seu esposo(a) fuma(va) em sua presença:	
		Durante a semana	Fim de semana

C8 O(a) Sr.(a) trabalhou em lugar fechado onde as pessoas fumassem?  
(1) sim (2) não (SE “NÃO”, VÁ PARA D1)

C9 Descreva os períodos durante os quais o(a) Sr.(a) trabalhou com fumantes?

Sua idade de Início	Sua idade de término	Nº de horas/dia que estava exposto	Nível de fumaça (1) muita (2) pouca (9) não lembra

**HÁBITOS ALIMENTARES**

Antes do(a) Sr(a) ficar doente, qual era a frequência com que o(a) Sr(a) comia os seguintes alimentos e bebidas? Alguns alimentos apenas da época de colheita serão especificados.

Unidade .....	Alimento	Quantas vezes/semana? ( - de 1 vez/sem = 98, não consome = 00)
D1 1 copo (200ml)	Leite	
D2 1 pote (125g)	Iogurte	
D3 1 porção (1 colher pequena – chá (10g))	Manteiga	
D4 1 porção (2 fatias de pão=50g ou 1 cacetinho)	Pão	
D5 1 porção (4 colheres de sopa cheias)	Massa ou arroz	
D6 1 porção (prato fundo cheio = 100g)	1 pedaço de Polenta frita, creme de milho	
D7 1 porção (1 pedaço médio de aipim – 80g)	Aipim	
D8 1 porção (40g ou 4 colheres cheias de farinha de mandioca)	Farinha de mandioca	
D9 1 porção (150g = 1 pedaço médio)	Carne	
D10 1 porção (100g = 1 pedaço médio)	Porco	
D11 1 porção (160g = 1 pedaço médio)	Galinha	
D12 1 porção (80g = 1 pedaço médio)	Outras carnes frescas (ovelha)	
D13 1 porção (150g = 1 pedaço médio)	Peixe	
D14 1 porção (2 pedaços de presunto, 4 pedaços de salame, 2 salsichas)	Presunto, salame ou salsicha	
D15 1 (50g)	Ovo	
D16 1 porção (2 fatias médias = 50g)	Queijo	
D17 1 batata média (80g)	Batata	
D18 1 porção (1 prato pequeno cheio = 50g)	Vegetais verdes não cozidos (saladas)	
D19 1 porção (1 prato pequeno = 50g)	Crucíferas (brócoli, repolho)	
D20 1 cenoura média (80g)	Cenoura	
D21 1 tomate médio (80g)	Tomate (fresco da estação)	
D22 1 porção (4 colheres de sopa cheias)	Grãos (ervilha, feijão, lentilha)	
D23 1 porção 91 prato pequeno = 50g)	Em resumo, quantas vezes o(a) Sr(a) come uma porção de qualquer tipo de vegetal (exceto batata) por semana?	
D24 1 copo (200ml)	Suco de frutas frescas	
D25 1 média (150g)	Maça ou pêra	
D26 1 média (120g)	Fruta cítrica (laranja, limão, lima) na época da colheita)	
D27 1 média (90g)	Banana	
D28 1 média (100g)	Em resumo, quantas vezes você come 1 fruta de qualquer tipo, fresca, por semana?	
D29 1 fatia ou taça (50g)	Bolo ou doces de sobremesa	

Qual o tipo de gordura que o(a) Sr(a) **“mais usa”**:

- |                     |                     |                   |                            |
|---------------------|---------------------|-------------------|----------------------------|
| (1) azeite de oliva | (4) manteiga        | (7) óleo de uva   | (10) óleo de soja          |
| (2) azeite dendê    | (5) margarina       | (8) óleo de milho | (11) outro óleo de semente |
| (3) azeite de côco  | (6) não usa gordura | (9) girassol      | (12) banha de porco        |
|                     |                     |                   | (13) outra gordura _____   |
|                     |                     |                   | (99) não sabe              |

D30 Para temperar os vegetais? ..... | | |

D31 Para cozinhar? ..... | | |

D32 Com que frequência o(a) Sr(a) come carne?

Tipo de carne	Quantas vezes/semana	
	Antes de adoecer	aos 30 anos
Carne salgada-charque		
Carne seca – norte		
Outras carnes		
Churrasco.....		

D33 Nos últimos dois anos, o(a) Sr(a) tem tomado vitaminas (remédios)?

- (1) sim      (2) não      (9) não sabe      | |
- (SE “NÃO”, PULE PARA D36)**

D34 Com que frequência o(a) Sr(a) toma estas vitaminas?

- (1) Diariamente      | |
- (2) Uma vez por semana
- (3) Uma vez por mês
- (4) Ocasionalmente
- (5) Nunca

D35 Quando adulto (>= 18 anos), com que idade o(a) Sr(a) começou a tomar vitaminas?      | | |

\_\_\_\_\_ anos

D36 Qual seu peso há dois anos?      \_\_\_\_\_ kg      | | | |

D37 Qual era seu peso aos 30 anos?      \_\_\_\_\_ kg      | | | |

**HÁBITOS DE BEBIDA**

E1 O(a) Sr.(a) já bebeu bebidas de álcool pelo menos 1 vez por mês? ..... | | |  
**SE PAROU NOS ÚLTIMOS 12 MESES, A RESPOSTA É (1) SIM, AINDA BEBE.**  
 (1) sim, ainda bebe (2) nunca (3) só no passado  
 (SE “NUNCA”, PULE PARA E7)

E2 Quando é que o(a) Sr(a) bebe (bebida)? ..... | | |  
 (1) nas refeições (2) entre as refeições (3) ambos

Descreva os períodos de sua vida durante os quais o(a) Sr.(a) tomou bebidas alcoólicas. Por favor, tente resumir as mudanças mais importantes em sua vida em relação à quantidade e tipo de bebida. Ignore quaisquer mudanças ocorridas durante curtos períodos de tempo (menos de 1 ano), ou bebidas consumidas ocasionalmente.

Entrevistadores: evitem sobrepor os anos de consumo de uma mesma bebida. Por exemplo, escreva 30-40 e 41-45, e não 30-40 e 40-45. Perguntar separadamente sobre cada bebida.

**Unidade (a)**

- (1) Copo pequeno – 50ml
- (2) Copo médio – 100ml
- (3) Copo grande – 250ml
- (4) ½ ou pequena garrafa – 330ml
- (5) Garrafa – 700-750ml
- (6) Garrafa – 1l

**Por (b)**

- (1) Dia
- (2) Semana
- (3) Mês

E3	Cerveja	Idade de início	Idade que parou	Unidade(a)	Quantas unidades consome	Por (b)

E4	Vinho	Idade de início	Idade que parou	Unidade(a)	Quantas unidades consome	Por (b)

E5	Aperitivo (cachaça, uísque, gim, rum, vodka) (>35°)	Idade de início  _ _   _ _   _ _   _ _	Idade que parou  _ _   _ _   _ _   _ _	Unidade(a)  _   _   _   _	Quantas unidades consome  _ _   _ _   _ _   _ _	Por (b)  _   _   _   _
E6	Licores Coquetéis (<35°)	Idade de início  _ _   _ _   _ _   _ _	Idade que parou  _ _   _ _   _ _   _ _	Unidade(a)  _   _   _   _	Quantas unidades consome  _ _   _ _   _ _   _ _	Por (b)  _   _   _   _

**CHIMARRÃO**

E7 O(a) Sr(a) tomava ou toma chimarrão habitualmente? ..... |\_|  
**SE PAROU NOS ÚLTIMOS 12 MESES, A RESPOSTA É (1) SIM, AINDA TOMA.**  
 (1) sim, ainda      (2) nunca      (3) só no passado  
**(SE “NUNCA”, PULE PARA F1)**

Descreva os períodos de sua vida durante os quais o(a) Sr.(a) consumia mate. Por favor, tente resumir as mudanças mais importantes em sua vida em relação à quantidade. Ignore quaisquer mudanças ocorridas durante curtos períodos de tempo (menos de 1 ano).  
 Entrevistadores: evitem sobrepor os anos. Por exemplo, escreva 30-40 e 41-45, e não 30-40 e 40-45. Perguntar separadamente sobre cada bebida.

E8	Idade de Início	Idade que Parou	Quantidade de água por dia (litros, mililitros)	Por (b)
	_ _	_ _	_ _ ,  _ _	_
	_ _	_ _	_ _ ,  _ _	_
	_ _	_ _	_ _ ,  _ _	_
	_ _	_ _	_ _ ,  _ _	_
	_ _	_ _	_ _ ,  _ _	_
	_ _	_ _	_ _ ,  _ _	_

**Por (b): (1) dia    (2) semana    (3) mês**

E9 A que temperatura o(a) Sr(a) costuma ou costumava tomar o mate? ..... |\_|  
 (1) Frio      (2) morno      (3) quente      (4) muito quente

**HÁBITOS SEXUAIS**

- F1 O(a) Sr.(a) já esteve casado(a) ou vivendo junto com alguém? ..... | |  
 (1) sim (2) não  
**(SE “NUNCA”, PULE PARA F7)**
- F2 O(a) Sr.(a) ainda é casado(a) ou vive como se fosse casado? ..... | |  
 (1) sim (2) separado(a) ou divorciado(a) (3) viúva(a)
- F3 Quantas vezes o(a) Sr.(a) já esteve casado(a) ou vivendo como casado? ..... | | | |
- F4 Quantos anos o(a) Sr.(a) tinha pela primeira vez que se casou ou viveu casado? ..... | | | |
- F5 Qual o último ano que a sua última(o) esposa(o) terminou na escola? \_\_\_\_ \_\_\_\_ ano ..... | | | |
- F6 Qual é ou foi o trabalho mais longo da(o) sua(eu) última(o) esposa(o)? ..... | | | |  
 Especificar: \_\_\_\_\_
- F7 No total, quantos filhos o(a) Sr(a) teve? ..... | | | |
- F8 No total, quantos parceiros sexuais o(a) Sr.(a) já teve (regulares e casuais) ..... | | | | | |
- F9 Se difícil de responder ..... | | | |  
 (1) 2-5 (4) 21-50  
 (2) 6-10 (5) 51-100  
 (3) 11-20 (6) mais de 100

**PERGUNTAR F10 E F11 SÓ PARA HOMENS**

- F10 Destas parceiras, quantas eram prostitutas? ..... | | | | | |
- F11 Se difícil de responder ..... | | | |  
 (1) 2-5 (4) 21-50  
 (2) 6-10 (5) 51-100  
 (3) 11-20 (6) mais de 100

**PERGUNTAR PARA TODOS**

- F12 O(a) Sr.(a) já fez sexo colocando sua boca nos genitais do(a) parceiro(a)? ..... | | | |  
 (1) sim(2) não
- F13 Com que frequência? ..... | | | |  
 (1) ocasionalmente (2) frequentemente (3) quase sempre

**HISTÓRICO DE DOENÇAS**

- G1 O(a) Sr.(a) já teve verrugas na pele? ..... |  
 (1) sim (2) não (9) não sei (SE “NÃO”, PULE PARA G6)  
**Se a resposta for “sim”, onde?** (1) sim (2) não
- G2 Mãos ..... |  
 G3 Pés ..... |  
 G4 Cabeça e pescoço ..... |  
 G5 Outros lugares? (especifique) ..... |
- G6 O(a) Sr.(a) já teve sapinho (Monília, Candida Albicans)? ..... |  
 (1) sim (2) não (9) não sei (SE “NÃO”, PULE PARA G10)  
**Se a resposta for “sim”, onde?** (1) sim (2) não
- G7 Genital (nas partes) ..... |  
 G8 Boca ..... |  
 G9 Outros lugares? (especifique) ..... |
- G10 O(a) Sr.(a) já teve lesões de cobreiro (herpes) ? ..... |  
 (1) sim (2) não (9) não sei (SE “NÃO”, PULE PARA G14)  
**Se a resposta for “sim”, onde?** (1) sim (2) não
- G11 Lábio ..... |  
 G12 Genital (nas partes) ..... |  
 G13 Outros lugares? (especifique) ..... |
- G14 O(a) Sr.(a) já teve alguma doença venérea (pegada, sexualmente transmissível)? ..... |  
 (1) sim (2) não (9) não sei (SE “NÃO”, PULE PARA G19)  
**Se a resposta for “sim”, quais?** (1) sim (2) não (9) não sei
- G15 Sífilis-cancro ..... |  
 G16 Gonorréia-corrimento ..... |  
 G17 Condiloma-verrugas ..... |  
 G18 HIV-AIDS ..... |



O(a) Sr.(a) já teve algum problema com a voz (rouquidão, por exemplo) que tenha feito o(a) Sr.(a) procurar o médico?

(1) sim (2) não

**SE SIM, QUAIS?**

**SE NÃO, PULE PARA H1**

G19 Laringite aguda obstrutiva (crupe) .....

G20 Laringite crônica .....

G21 Pólipo de corda vocal ou de laringe .....

G22 Nódulo de corda vocal .....

G23 Edema ou estenose de laringe .....

G24 Abscesso ou granuloma de cordas vocais .....

G25 Abscesso de retrofaringe ou parafaringe .....

G26 Outras: \_\_\_\_\_

#### HISTÓRIA DE CÂNCER NA FAMÍLIA

Eu agora vou perguntar sobre seus familiares em 1º grau e esposo(a) ou companheiro(a).

H1 Quantos irmãos o(a) Sr(a) teve? .....

H2 Quantas irmãs o(a) Sr(a) teve? .....

H3 Quantas filhas o(a) Sr(a) teve? .....

H4 Quantos filhos o(a) Sr(a) teve? .....

H5 Quantas(os) companheiras(os) o(a) Sr(a) teve? .....

Vamos falar sobre sua mãe/pai/irmã/irmão/filha/filho/esposa(o) ou companheiro(a)

#### RESPONDER AS PRÓXIMAS PERGUNTAS NA PRÓXIMA PÁGINA!

H6 Ele (ela) vive?  
Se sim, quantos anos ele(ela) tem? Se não, quantos anos ele(ela) tinha quando faleceu?

H7 Ele(ela) teve algum tumor maligno?  
Se sim, qual? Com que idade ele(ela) estava?

Tipo de familiar: (um familiar por linha)

- (1) mãe      (3) irmã      (5) filha      (7) companheiro(a)  
 (2) pai      (4) irmão      (6) filho      (8) próprio(a) paciente

	Tipo de familiar	Vivo = 1 Morto = 2	Idade morte Idade atual (se vivo)	Tumor	(1) Sim (2) Não (3) IGN	Tipo de Tumor	Idade ao diagn.
0 1				_____		CID/ / / /- /	
0 2				_____		CID/ / / /- /	
0 3				_____		CID/ / / /- /	
0 4				_____		CID/ / / /- /	
0 5				_____		CID/ / / /- /	
0 6				_____		CID/ / / /- /	
0 7				_____		CID/ / / /- /	
0 8				_____		CID/ / / /- /	
0 9				_____		CID/ / / /- /	
1 0				_____		CID/ / / /- /	
1 2				_____		CID/ / / /- /	
1 3				_____		CID/ / / /- /	
1 4				_____		CID/ / / /- /	
1 5				_____		CID/ / / /- /	
1 6				_____		CID/ / / /- /	
1 7				_____		CID/ / / /- /	
1 8				_____		CID/ / / /- /	
1 9				_____		CID/ / / /- /	
2 0				_____		CID/ / / /- /	
2 1				_____		CID/ / / /- /	
2 2				_____		CID/ / / /- /	
2 3				_____		CID/ / / /- /	
2 4				_____		CID/ / / /- /	
2 5				_____		CID/ / / /- /	
2 6				_____		CID/ / / /- /	
2 7				_____		CID/ / / /- /	
2 8				_____		CID/ / / /- /	

**SAÚDE DA BOCA**

- I1 Com que frequência o(a) Sr.(a) escova seus dentes? ..... | |  
 (0) Nunca (5) 2 vezes ao dia  
 (1) < uma vez por semana (6) 3 vezes ao dia  
 (2) 1-2 vezes por semana (7) >3 vezes ao dia  
 (3) um dia sim, outro não (8) não se aplica (ir para I5)  
 (4) uma vez ao dia
- I2 O que o(a) Sr.(a) usa para limpar seus dentes? ..... | |  
 (1) escova dental  
 (2) dedo  
 (3) palito  
 (4) fio dental  
 (5) outros \_\_\_\_\_ (especifique)
- I3 O que o(a) Sr.(a) usa junto com a escova dental? ..... | |  
 (1) nada  
 (2) pasta dental  
 (3) outros \_\_\_\_\_ (especifique)
- I4 Suas gengivas sangram quando o(a) Sr.(a) escova os dentes? ..... | |  
 (1) não (2) às vezes (3) sempre ou quase sempre
- I5 Com que frequência o(a) Sr.(a) faz bochechos com antisépticos? ..... | |  
 (0) nunca (5) 2 vezes ao dia  
 (1) < uma vez por semana (6) 3 vezes ao dia  
 (2) 1-2 vezes por semana (7) > 3 vezes ao dia  
 (3) um dia sim, outro não  
 (4) uma vez ao dia
- I6 O(A) Sr.(a) usa dentadura ou ponte? ..... | |  
 (1) sim (2) não **(SE NÃO, PULE PARA I9)**
- I7 É dentadura total (superior ou inferior)? ..... | |  
 (1) sim (2) não
- I8 Com que idade o(a) Sr.(a) começou a usar dentadura? ..... | |
- I9 Durante os últimos 20 anos, com que frequência o(a) Sr.(a) tem ido ao dentista? ..... | |  
 (1) todo ano (3) > cada 5 anos  
 (2) a cada 2-5 anos (4) nunca
- I10 Antes da doença atual, o(a) Sr.(a) já fez alguma biópsia na sua boca ou laringe? ..... | |  
 (1) sim (2) não **(SE NÃO, PULE PARA J1)**
- I11 De que tipo? ..... | |  
 (1) Boca(oral) (2) Laringe
- I12 Com que idade? ..... | |
- I13 O que mostrou? (1) normal (2) anormal (3) câncer (4) não sabe ..... | |

## HISTÓRIA OCUPACIONAL

Por favor relate todos trabalhos que o(a) Sr(a) já teve. Pense nas principais mudanças no seu trabalho, dentro da mesma companhia, como trabalhos separados. Ignore trabalhos que o(a) Sr(a) teve por menos que 12 meses. Inclua todos os períodos de desemprego se eles duraram pelo menos 12 meses. Inclua trabalhos informais.

**J1** TRABALHO N°1 do:ano 19 | | | | ao: ano 19 | | | |  
 Dos: idade | | | | aos: idade | | | |

Ocupação / Cargo .....| | | | | | | |  
 Companhia / Nome do empregador .....  
 Endereço ou Cidade .....  
 Atividade / Produção .....

**Se há um período sem ocupação antes do trabalho 2, anote a razão:**

.....  
 .....

**J2** TRABALHO N°2 do:ano 19 | | | | ao: ano 19 | | | |  
 Dos: idade | | | | aos: idade | | | |

Ocupação / Cargo .....| | | | | | | |  
 Companhia / Nome do empregador .....  
 Endereço ou Cidade .....  
 Atividade / Produção .....

**Se há um período sem ocupação antes do trabalho 3, anote a razão:**

.....  
 .....

**J3** TRABALHO N°3 do:ano 19 | | | | ao: ano 19 | | | |  
 Dos: idade | | | | aos: idade | | | |

Ocupação / Cargo .....| | | | | | | |  
 Companhia / Nome do empregador .....  
 Endereço ou Cidade .....  
 Atividade / Produção .....

**Se há um período sem ocupação antes do trabalho 4, anote a razão:**

.....  
 .....

**J4** TRABALHO N°4 do:ano 19 | | | | ao: ano 19 | | | |  
Dos: idade | | | | aos: idade | | | |

Ocupação / Cargo .....| | | | | | | |  
Companhia / Nome do empregador .....  
Endereço ou Cidade .....  
Atividade / Produção .....

**Se há um período sem ocupação antes do trabalho 5, anote a razão:**

.....  
.....

**J5** TRABALHO N°5 do:ano 19 | | | | ao: ano 19 | | | |  
Dos: idade | | | | aos: idade | | | |

Ocupação / Cargo .....| | | | | | | |  
Companhia / Nome do empregador .....  
Endereço ou Cidade .....  
Atividade / Produção .....

**Se há um período sem ocupação antes do trabalho 6, anote a razão:**

.....  
.....

**J6** TRABALHO N°6 do:ano 19 | | | | ao: ano 19 | | | |  
Dos: idade | | | | aos: idade | | | |

Ocupação / Cargo .....| | | | | | | |  
Companhia / Nome do empregador .....  
Endereço ou Cidade .....  
Atividade / Produção .....

**Se há um período sem ocupação antes do trabalho 7, anote a razão:**

.....  
.....

**J7** TRABALHO N°7 do:ano 19 | | | | ao: ano 19 | | | |  
 Dos: idade | | | | aos: idade | | | |

Ocupação / Cargo .....| | | | | | | |

Companhia / Nome do empregador .....

Endereço ou Cidade .....

Atividade / Produção .....

**Se há um período sem ocupação antes do trabalho 7, anote a razão:**

.....  
 .....

**J8** TRABALHO N°8 do:ano 19 | | | | ao: ano 19 | | | |  
 Dos: idade | | | | aos: idade | | | |

Ocupação / Cargo .....| | | | | | | |

Companhia / Nome do empregador .....

Endereço ou Cidade .....

Atividade / Produção .....

**Atenção:** Se houver mais que 8 trabalhos use mais folhas.  
 O entrevistador deve checar se algum dos trabalhos acima relatados necessita o questionário especializado.  
 Preencher o questionário ocupacional geral para cada um dos trabalhos listados acima.  
 Preencher o questionário especializado sempre que necessário.

Durante qualquer trabalho que o Sr(a) tenha tido, necessitou parar de trabalhar por um período maior do que 1 ano por motivo de doença?

Sim | | | | Não | | | |

Se *sim*, em qual trabalho?

Trabalho n° | | |

Quando? Do ano 19 | | | | ao ano | | | |

#### **TRABALHOS EXTRAORDINÁRIOS**

Nota para o entrevistador: Após obter a história ocupacional completa, pergunte ao entrevistador se “teve e quando” trabalhos extra ou não oficiais pelos quais recebia

pagamento e que envolviam algumas das seguintes tarefas. Se possível complete o questionário geral para estes trabalhos (mas não o questionário especializado).

	Sim	Não	de 19__	até 19__	h/sem
CONSTRUÇÃO	_	_	_ _	_ _	_ _
O que fazia?	_____				
PINTURA	_	_	_ _	_ _	_ _
O que fazia?	_____				
SOLDAGEM	_	_	_ _	_ _	_ _
O que fazia?	_____				
TRABALHO COM MADEIRA	_	_	_ _	_ _	_ _
O que fazia?	_____				
AGRICULTURA	_	_	_ _	_ _	_ _
O que fazia?	_____				
CRIAÇÃO DE ANIMAIS	_	_	_ _	_ _	_ _
O que fazia?	_____				
COZINHAVA	_	_	_ _	_ _	_ _
O que fazia?	_____				

Obrigado por ter respondido esse questionário.

J4 Término da entrevista

|\_|\_| - |\_|\_|  
hora minuto

J5 Qualidade da entrevista (a ser estabelecida pelo entrevistador) .....|\_|  
(1) insatisfatória  
(2) questionável  
(3) digna de confiança  
(4) alta qualidade

J6 Comentários

.....  
.....  
.....  
.....  
.....



### **INSTRUÇÕES PARA COLETA DE CÉLULAS ESFOLIADAS DA BOCA**

1. Instruir o entrevistado a lavar a boca com água.
2. Remover a dentadura, se for o caso.
3. Realizar o escovado com uma escova suave.

**Nos casos de CA da laringe e em todos controles :** 5 a 10 escovadas suaves feitas em cada um dos seguintes locais:

Mucosa do lado direito da boca (de cima para baixo).

Mucosa do lado esquerdo da boca (de cima para baixo).

Lado direito da língua.

Lado dorsal da língua.

Lado esquerdo da língua.

Lado interno do lábio superior e inferior.

**Nos casos de CA de boca:** após o escovado descrito acima, a lesão visível será escovada com 5 a 10 suaves escovadas tentando evitar as áreas necróticas.

4. Imediatamente após o escovado, preparar um esfregaço em lâmina com o nome do paciente e o número do estudo. Fixar a lâmina imediatamente com 90% de álcool e posteriormente lavar com Papanicolau e cobrir com uma lamínula. Conforme o centro, poderá ser decidido ser feita a lâmina para todos os casos (laringe e boca) e controles.
5. Depois de preparar a lâmina, introduzir a escova em um tubo plástico de 50ml contendo 20ml de PBS (solução tampão de fosfato). Sacudir para que todas as células desprendam-se da escova.
6. Pedir ao paciente para lavar a boca energeticamente, incluindo a garganta, com gargarejos de 10ml de solução salina, que serão despejados no mesmo tubo cônico.
7. Processar a amostra conforme protocolo.

<b>EXAME REALIZADO PELO ENTREVISTADOR</b>
---

**MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS**

K1 Peso (kg) ..... | | | |  
 K2 Altura (cm) ..... | | | |

**EXAME DA BOCA PARA TODOS OS CASOS E CONTROLES (a ser realizado antes da coleta de células)**

K3 Exame: (1) aceito (2) recusado ..... | |  
 K4 Quem realizou o exame? ..... | |  
 (1) entrevistador (2) outro, especifique \_\_\_\_\_  
 K5 Data do exame oral ..... | | | - | | | - | | |  
Dia mês ano  
 K6 Higiene oral em geral (tártaro, sangramento gengival, etc) ..... | |  
 (1) boa (2) média (3) pobre  
 K7 Perda de dentes: ..... | |  
 (1) menos de 5 (2) 6-15 (3) 16 ou mais  
 K8 Há alguma lesão visível ..... | |  
 (1) não (2) sim (3) incerto  
 Se sim, descreva .....  
 .....  
 .....  
 Se suspeitar de lesão tumoral, favor falar para o investigador principal

**COLETA DA AMOSTRA**

- Células esfoliadas da boca são obtidas de acordo com as instruções da página anterior.
- 10ml de sangue serão colocados em tubo heparinizado para processamento posterior, conforme protocolo.

K9 Células esfoliadas obtidas ..... | |  
 (1) sim (2) somente lavado bucal (3) não  
 K10 Amostra sanguínea obtida: ..... | |  
 (1) sim (2) não  
 K11 Data da coleta de célula ..... | | | - | | | - | | |  
 K12 Data da coleta de sangue ..... | | | - | | | - | | |

**ESTUDO MULTICENTRICO SOBRE CÂNCER DE  
CAVIDADE ORAL E LARINGE**

**MANUAL DO QUESTIONÁRIO**

## REGRAS GERAIS

1. Antes da entrevista começar, por favor leia o “termo de consentimento” e obtenha a assinatura do entrevistado, se possível. Em caso de recusa, informe o nome, sobrenome, idade, data, sexo e comentários no devido formulário (folha para casos não-participantes e recusa de controles).
2. Cada questão deve referir-se à data do diagnóstico da doença que levou o paciente a ser internado. Qualquer alteração (ex. mudança de hábito alimentar, fumo ou álcool), que tenha ocorrido após o aparecimento dos primeiros sinais da doença ou da interação hospitalar não deve ser incluída.
3. As questões devem ser perguntadas da forma como estão escritas.
4. Deve-se dar igual atenção ao entrevistar tanto casos como controles.
5. Os questionários devem ser preenchidos a lápis e com bastante clareza.
6. As colunas devem ser preenchidas e codificadas á direita.
7. Evite perdas ou respostas ignoradas. Insista em obter uma resposta mesmo se for apenas uma estimativa.
8. Quando você não conseguir obter uma resposta ou estimativa, as colunas devem ser preenchidas com 9.
9. Quando estiver escrito “especificar”, anote sua resposta na linha continua.
10. Evite influenciar a resposta do entrevistado, apenas leia a questão com calma e confiança. Entretanto, se você perceber inconsistência nas respostas, tente esclarecê-las.
11. Para algumas variáveis (ocupação, CID, etc...) não existe codificação no questionário. Elas serão codificadas pelo entrevistador local, após a entrevista. Os respectivos dígitos estão em itálico.
12. Para que um caso ou controle sejam incluídos no estudo é necessário que se obtenha pelo menos o questionário e uma amostra sanguínea.
13. O coordenador local poderá adicionar algumas questões ao questionário. Neste caso, elas devem ser adicionadas no fim da seção correspondente.
14. O coordenador local poderá adicionar mais valores para alguns itens. Ex. outro grupo étnico ou um código para respostas múltiplas.
15. Todos os códigos locais devem ser descritos na entrega do banco de dados.

## IDENTIFICAÇÃO PESSOAL

Esta seção deve ser preenchida antes da entrevista. O nome, endereço e o telefone devem ser verificados com o paciente. O nome e o telefone não devem ser enviados ao IARC.

Número de identificação:

■ País, Centro, Número da pessoa, como nas etiquetas fornecidas para as amostras biológicas. O Número da pessoa deve ser especificado de uma maneira tal que não revele a condição de caso ou controle entrevistado (p. ex.: designar 001-100 para casos e 101-200 para controles).

O entrevistador receberá do coordenador uma série de etiquetas com um único código a ser utilizado para o questionário e amostras biológicas. Tal código deve ser usado também nas páginas do questionário subsequente.

A1. Estado: especifique se caso = 1, ou controle = 2

Registro médico: escreva o número do registro médico ou prontuário hospitalar. Esta informação é para referência futura e não será codificada.

A2. Iniciais: escreva as iniciais do sobrenome e do nome.

A3. hospital (CL): indique o nome do hospital onde acontece a entrevista (códigos do coordenador local).

A4. Departamento: escolha um da lista ou escreva 12 e especifique se nenhum se aplica.

A5. Diagnóstico principal da baixa hospitalar: para casos, especifique o local anatômico. Para controles, o diagnóstico deve ser a doença, e não a combinação de sinais e sintomas. O diagnóstico da internação hospitalar deve ser empregado para determinar a elegibilidade de um controle (p. ex.: se um paciente é internado devido a uma perna quebrada, ele é elegível, mesmo se mais tarde se descobrir que ele tem, além disso, um dos diagnósticos de exclusão para controles. Uma exceção a isso é um paciente que está fazendo quimioterapia ou radioterapia, porque esse tratamento poderia afetar a qualidade da amostra biológica). Para codificar esta seção nós propomos utilizar a “lista de tabulação especial para morbidade”, simplificada, do CID-10. Como os códigos desta lista são de três dígitos, a quarta coluna de dígitos deve ser deixada em branco.

A6. Data de admissão hospitalar (ou consulta): escreva a data, isto é, dia, mês e ano.

A7. Entrevistador (CL): por favor indique o sobrenome e nome do entrevistador e o correspondente código designado pelo coordenador local.

## INFORMAÇÕES GERAIS

B1. Data da entrevista: dia, mês e ano.

B2. Início da entrevista: indique a hora e os minutos.

B3. Sexo: escreva o código correspondente.

B4. Qual é a sua idade?: indique a idade em anos (idade atingida pelo entrevistador na admissão hospitalar)

B5. Qual a sua data de nascimento?: indique o dia, mês e ano.

B6. Qual a cidade onde o(a) Sr.(a) vive (CL)?: indique a cidade onde o entrevistador reside permanentemente / na maior parte do tempo.

B7. Há quanto tempo o(a) Sr.(a) mora nesta cidade?: indique o número de anos consecutivos de residência na cidade.

B8. Em que cidade ou distrito o(a) Sr.(a) nasceu (CL)?: indique a cidade onde o entrevistado nasceu.

B9. O(A) Sr.(a) frequentou a escola?: codifique com (1) se a resposta for sim, e (2) se a resposta for não.

B10. Até que ano o(a) Sr.(a) estudou?: indique o última série completa e o grau atingido. Lembrar que o curso primário completo equivale à 3ª série do primeiro grau; o último ano do ginásio, equivale à 8ª série do primeiro grau; o último ano do científico, clássico ou normal equivale ao 3º ano do 2º grau; universidade corresponde ao 3º grau; pós-graduação corresponde também ao 3º grau. Ex. alguém formado em medicina e com 3 anos de mestrado, codifique com 9ª série do 3º grau (ou seja, 6 anos de faculdade e 3 anos de mestrado equivale ao nº9 para série).

## HÁBITOS DE FUMO

C1. O(A) Sr.(a) fuma ou já fumou diariamente pelo menos por 1 ano?: Um fumante é alguém que fuma ou tem fumado qualquer tipo de produto a base de tabaco, por pelo menos um ano, diariamente.

C2. O(A) Sr.(a) fuma ou já fumou cigarro?: Esta questão visa discriminar o tipo e a quantidade de cigarro que o entrevistado fumou desde que adquiriu o hábito de fumar. O primeiro dígito para idade, é a idade que ele tinha quando fumou pela primeira vez. Permita que o entrevistado descreva o seu hábito de fumo e mudanças substanciais em quantidade e qualidade de quaisquer produtos fumados à base de tabaco. Ignore mudanças que tenham ocorrido por pequenos períodos (menos de 1 ano). Se o entrevistado tiver parado de fumar durante um determinado período, oculte as idades correspondentes. Se foram usados dois tipos de cigarro ao mesmo tempo, repita o período de idade par acada tipo.

As marcas devem ser codificadas localmente e informações sobre quantidade de nicotina e alcatrão de cada marca fornecida para IARC quando possível.

Mudanças substanciais no hábito de fumar consistem em variações de 30% na quantidade de cigarros por dia, ou em alterações do tipo (marca) de cigarro fumado. Por favor ignore o aumento gradual de cigarros por dia nos primeiros anos enquanto o hábito se estabelecia, mas indique a idade em que o hábito se estabeleceu.

Evite sobrepor os anos para o mesmo produto ou tipo ou quantidade de cigarro, (ex., registrar 30-40, 41-45, é melhor do que 30-40, 40-45).

Tentar registrar não apenas o nome da marca, mas ainda outros detalhes sobre o produto (ex., Marlboro light).

Se o entrevistado usa cigarros feitos à mão (enroladinho), registre a marca do tabaco.

Se a resposta for não, por favor vá para D3.

C3. O(A) Sr.(a) fuma ou já fumou charuto?:

Um fumante habitual de charuto é alguém que fumou ou tem fumado pelo menos um charuto por dia, por no mínimo um ano.

Mudanças substanciais consistem em variações de pelo menos 30% na quantidade ou a mudança da marca.

Se a resposta for não, por favor vá para C4.

C4. O(A) Sr.(a) fuma ou já fumou cachimbo?:

Por favor, avalie o hábito de fumar cachimbo em termos de cachimbos por dia. Um fumante de cachimbo é alguém que fumou ou tem fumado pelo menos um cachimbo por dia, por no mínimo um ano.

Mudanças substanciais consistem em variações de pelo menos 30% na quantidade ou a mudança da marca.

Se a resposta for não, por favor vá para C5.

## HÁBITOS DIETÉTICO

# A frequência de consumo refere-se a porções padrão, como está especificado no questionário. Se um entrevistado ingere 2 ovos uma vez por semana, a frequência é 2. Se um entrevistado ingere 3 ovos ao dia, a frequência é 21. Se possível, os centros devem estimar as suas próprias médias de porções, a partir de estudos prévios ou outras fontes. Isso é feito em alguns estudos nutricionais com ajuda de fotografias ou pratos, mas é apenas uma aproximação simples, somente para classificar casos e controles em diferentes níveis de ingestão. Se as porções locais não são conhecidas, a porção será de acordo com a ideia do paciente.

# Questões específicas a respeito de tamanhos de porções individuais não são perguntadas mas, se um entrevistado mencionar que ingere grandes porções especiais de algum tipo de comida, acrescente esta informação em “vezes/semana”. Os centros devem relatar para IARC os períodos de safra local para cada tipo de alimento, em meses, no fim do estudo.

D1-D23. Antes do(a) Sr.(a) ficar doente, qual era a frequência com que o(a) Sr.(a) consumia os seguintes alimentos e bebidas?: Insira a frequência de ingestão por semana, Se a frequência é de menos de uma vez na semana, mas de mais de uma vez ao mês, insira 98 (= ingestão ocasional). 00 corresponde a não ingestão. Perguntas resumidas aplicam-se a todos os tipos de vegetais (excluindo batata) e frutas. Assim como antes, questões resumidas são baseadas em quantidade e frequência de consumo. Por favor pergunte questões sumárias (D17, D22) para cada entrevistado. A resposta não necessariamente corresponde a adição de quantidades de outras frutas ou vegetais relatadas pelo entrevistado.

D24. Qual tipo de gordura você usa predominantemente para temperar os vegetais da estação?: Indique **somente um** tipo de gordura, de acordo com o código correspondente.

D25. Que tipo de gordura você usa predominantemente para cozinhar?: Indique **somente um** tipo de gordura, de acordo com o código correspondente.

D26. Nos últimos dois anos você tem tomado suplementos de vitaminas?: Indique se o entrevistado tem tomado vitaminas farmacologicamente preparadas. Por favor tente excluir produtos não ativos (ex. herbs, medicina tradicional) e minerais (ex. ferro e cálcio). Complexos multivitamínicos devem ser incluídos.

D27. Com que frequência o(a) Sr.(a) toma estes suplementos de vitamina?: insira o código correspondente.

D28. Quando adulto, com que idade o(a) Sr.(a) começou a tomar vitaminas?: Insira o código. Adulto é considerado como acima de 18 anos de idade.

D29. Caso lembre, qual o seu peso há dois anos?: Insira o peso aproximado há dois anos em Kg. Assim como para outras variáveis, tente ignorar alterações recentes (ex. perda de peso) devido à enfermidade em atividade. Em caso de dúvida, é útil checar o peso relatado em arquivos médicos.



D30. Qual era seu peso aos 30 anos?: Insira o peso aproximado aos 30 anos (fase adulta inicial). Para facilitar a lembrança, por favor convide o entrevistado para comparar o peso atual com o peso no passado (ex. diferença em Kg).

D31. O(a) Sr.(a) Sabe qual sua altura?: Insira a altura em cm. Em caso de dúvida, cheque a altura em arquivos médicos, se existentes.

## HÁBITOS DE ÁLCOOL E MATE

E1. O(a) Sr.(a) já bebeu bebidas de álcool pelo menos 1 vez por mês?: uma pessoa que bebe é alguém que consome ou tem consumido quaisquer derivados de álcool, pelo menos uma vez por mês, por no mínimo um ano.

E2. Quando é que o(a) Sr.(a) bebe?: Insira o código.

E3-E6. Descreva os períodos de sua vida durante os quais o(a) Sr.(a) consumiu bebidas alcoólicas. Por favor, tente resumir as mudanças mais importantes em sua vida em relação à quantidade e tipo de bebida. Ignore quaisquer mudanças ocorridas durante curtos períodos de tempo (menos de 1 ano), ou bebidas consumidas ocasionalmente.: Para cada tipo de bebida, insira idade de início e idade que alterou a quantidade; em seguida insira a idade para cada mudança subsequente na quantidade de ingesta (+/-30%), para cada tipo de bebida. Se o entrevistado continua bebendo um determinado produto, insira a idade atual. Para facilitar o relato permita que o entrevistado expresse um tipo de medida (a) (ex. copo pequeno) e frequência de consumo (b) (ex. por dia). A medida que o entrevistado se expressa, codifique as informações adequadamente. Períodos de consumo de diferentes bebidas alcoólicas podem obviamente, sobrepor-se.

E7-E9

## HISTÓRIA SEXUAL

F1. O(a) Sr.(a) já esteve casado(a) ou vivendo como se fosse?: Insira o código. “vivendo como se fosse” é uma pessoa que tem vivido com a mesma pessoa por pelo menos seis meses. A partir de agora nesta seção, esposas e pessoas que vivem como se o fosse serão equivalentes.

F2. O(a) Sr.(a) ainda é casado(a) ou vive como se fosse?: Insira o código.

F3. Quantas vezes o(a) Sr.(a) já esteve casado(a) ou vivendo como?: Insira o número.

F4. Quantos anos o(a) Sr.(a) tinha pela primeira vez que se casou ou viveu como casado?: Insira a idade.

F5. Por quanto anos sua(eu) última(o) esposa(o) frequentou a escola?: Insira quantidade de anos que frequentou a escola. Ver B10.

F6. Qual é ou foi a ocupação mais longa da(o) sua(eu) última(o) esposa(o)?: Especifique a ocupação mais longa da última esposa. Normas de codificação serão semelhantes à C4 (ocupação do entrevistado).

F7. No total, quantos filhos o(a) Sr(a) teve?: Insira o número de filhos tidos com todas as esposas, incluindo vivos e natimortos.

### HISTÓRIA SEXUAL:

Se um entrevistado está em dificuldade com este tipo de pergunta, por favor lembre o paciente a respeito dos objetivos do estudo (ex. saúde e estilo de vida), ressaltando que os dados são absolutamente confidenciais. Se isso não for suficiente, por favor vá para G1 e preencha com 9 de F8-F13.

F8. No total, quantos parceiros sexuais o(a) Sr.(a) já teve?: Insira o número de parceiros de toda vida do entrevistado, incluindo esposas, parceiras casuais e regulares.

F9. Se difícil de responder.: Se uma resposta apurada para F8 não é possível, por favor forneça uma estimativa neste espaço.

SOMENTE PARA HOMENS. Por favor repare que somente F10 e F11 devem ser questionadas somente ao sexo masculino. F12 e F13 devem ser interrogados a ambos os sexos.

F10. Destas parceiras, quantas eram prostitutas?: Insira o número.

F11. Se difícil de responder.: Assim como em F9, se uma resposta fidedigna não pode ser obtida, por favor forneça um valor estimado.

F12. O(a) Sr.(a) já teve sexo oral?: Insira o código correspondente.

F13. Com que frequência?: Insira o código para frequência.

## HISTÓRIA DE DOENÇAS

G1. O(a) Sr.(a) já teve verrugas na pele?: Insira o código, senão, por favor vá para G6. use termos locais para verrugas na pele, se existirem.

G2-G5. Onde?: Insira sim ou não para cada parte do corpo; se existirem outros locais além de mãos, pés e cabeça e pescoço, especifique-o. Isto será codificado pelo coordenador local.

G6. O(a) Sr.(a) já teve infecção por Candida Albicans (monília)?: Insira o código. Se negativo, por favor vá para G11. Use um termo regional para Cândida, se existir.

G7-G9. Onde?: Insira sim ou não para cada parte do corpo; se existirem outras além de lábios e genitais, por favor especifique a área do corpo afetada. Isto será codificado pelo coordenador local.

G10. O(a) Sr.(a) já teve lesões de herpes (cobreiro) ?: Insira o código. Se não, por favor vá para G14. Use termos locais para lesões de herpes, se existir.

G11-G13. Onde?: Insira sim ou não para cada parte do corpo; se existirem outras áreas além de lábios e genitais, por favor especifique o local do corpo. Isto será codificado pelo coordenador local.

G14. O(a) Sr.(a) já teve alguma doença sexualmente transmissível?: Insira o código. Se não, por favor vá para a página subsequente.

G15-G18. Quais?: Insira sim ou não. Use termos locais, se existirem.

## HISTÓRIA FAMILIAR DE CÂNCER

Estas questões referem-se a parentesco de primeiro grau e esposas(os); relações adotivas estão excluídas.

H1. Quantos irmãos o(a) Sr(a) teve?: Indique o número de irmãos, tanto vivos, quanto mortos, não incluindo meio irmos.

H2. Quantas irmãs o(a) Sr(a) teve?: semelhante a H1.

H3. Quantas filhas o(a) Sr(a) teve?: Indique todas as filhas, independente do relacionamento com as mães.

H4. Quantos filhos o(a) Sr(a) teve?: semelhante a H3.

H5. Quantas(os) companheiras(os) o(a) Sr(a) teve?: Indique o número de esposas ou pessoas com quem o entrevistado viveu como se fosse pelo menos 6 meses.

H6-H7. Ele (ela) ainda vive? Ele(ela) teve algum tumor maligno?: Por favor mencione todos os parentes, tanto vivos, quanto mortos, um por um, e preencha uma linha para cada um deles. Comece dando um código por tipo familiar. Por favor, atente de que se para algumas variáveis faltam informações precisas, deve-se pelo menos obter informações aproximadas (ex. idade da morte, tipo de tumor, etc.). Idade 97 ou acima, corresponde ao código 97.

Uma pergunta adicional será incluída para indicar se o entrevistado pessoalmente teve câncer no passado. Isto será adicionado como um novo tipo de caso na mesma categoria: (8) O paciente. Neste caso, obviamente a seção de idade morte e idade atual, não são aplicáveis.

Tipo de tumor, quando houver, será escrito no espaço fornecido pelo entrevistador e codificado pelo coordenador local, de acordo com uma lista de códigos simplificada do CID-10 fornecida no Anexo 1. Uma vez que os códigos possuem 3 dígitos, a Quarta coluna no questionário deve ser deixada em branco.

## SAÚDE DA CAVIDADE ORAL

Por favor refira-se aos hábitos dos últimos dois anos e exclua mudanças recentes nos hábitos ligados aos sintomas e sinais da doença que levou o paciente ao hospital.

I1. Com que frequência o(a) Sr.(a) escova seus dentes?: Insira o código. Na ausência total de dentes naturais, por favor insira não aplicável (8) e vá para J5.

I2. Que instrumento o(a) Sr.(a) usa para limpar seus dentes?: Insira o código. Se a resposta for “outro”, por favor especifique. Se forem relatados vários instrumentos, o coordenador local deve designar novos códigos para combinações.

I3. Que material o(a) Sr.(a) utiliza junto com a escova dental?: Insira o código. Se “outro”, por favor especifique.

I4. Suas gengivas sangram quando o(a) Sr.(a) escova os dentes?: Insira o código.

I5. Com que frequência o(a) Sr.(a) utiliza antisépticos bucais?: Insira o código. Antisépticos são produtos vendidos especificamente para higiene da cavidade oral. Eles podem incluir flúor, agentes antibacterianos, mas frequentemente, também etanol. Antisépticos com água ou remédios caseiros não serão incluídos. Código (8) não é válido.

I6. O(A) Sr.(a) usa dentadura?: Insira o código. Se a resposta for “não” por favor vá para a pergunta I9.

I7. É uma dentadura completa?: Insira o código.

I8. Com que idade o(a) Sr.(a) começou a usar dentadura?: Insira idade, podendo ser aproximada.

I9. Durante os últimos 20 anos, com que frequência o(a) Sr.(a) tem ido ao dentista?: Insira o código.

I10. Antes de qualquer procedimento relacionado a doença atual, o(a) Sr.(a) já foi submetido a uma biópsia oral?: Insira o código. Por favor tente descrever o procedimento se o entrevistado não compreender o significado da palavra “biópsia”.

I11. Com que idade?: Indique a idade que o paciente tinha na época da primeira biópsia.

I12. O que mostrou?: Especifique os resultados. Frequentemente, o relato do paciente pode ser impreciso. Utiliza os seguintes códigos: (1) normal; (2) anormal, mas não cancerígeno; (3) câncer.

## INSTRUÇÕES PARA COLETA DE CÉLULAS ESFOLIADAS DA CAVIDADE ORAL

- 1 Instruir o entrevistado para lavar a boca com água.
- 2 Remover a dentadura, se for o caso.
- 3 Realizar o escovado com uma escova suave.

**Nos controles**, 5 a 10 escovadas suaves com a escova serão feitas em cada um dos seguintes locais:

Mucosa do lado direito da boca (de cima para baixo).

Mucosa do lado esquerdo da boca (de cima para baixo).

Lado direito da língua.

Lado dorsal da língua.

Lado esquerdo da língua.

Lado interno do lábio superior e inferior.

**Nos casos**, além do escovado semelhante ao dos controles, a lesão será escovada com 5 a 10 suaves escovadas tentando evitar as áreas necróticas.

4. Imediatamente após o escovado, preparar um esfregaço em lâmina com o nome do paciente e o número do estudo. Fixar a lâmina imediatamente com 90% de álcool e posteriormente lavar com Papanicolau e cobrir com uma lamínula.
5. Depois de preparar a lâmina, introduzir a escova em um tubo plástico de 50ml contendo 20ml de PBS (solução tampão de fosfato). Sacudir para que todas as células desprendam-se da escova.
6. Pedir ao paciente para lavar a boca energeticamente, incluindo a garganta, com gargarejos de 10ml de solução de PBS, que serão despejados no mesmo tubo cônico.

Nunca introduza a pipeta de Pasteur diretamente no container de 500ml. Ao processar as amostras de mais de um sujeito faça-as uma de cada vez e conserve-as uma longe da outra.

7. Processar a amostra conforme protocolo.



## EXAME PELO ENTREVISTADOR

MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS (reservada a países onde o conhecimento da população a respeito de peso e altura é limitado, e os entrevistados não podem auto relatar essas variáveis confiavelmente). Esta informação pode ser obtida através de registros médicos.

K1. Peso (kg): Indique peso em Kg.

K2. Altura (cm): Indique a altura em cm.

### EXAME DA CAVIDADE ORAL

K3. Exame: Insira o código.

K4. Quem realizou o exame?: Insira o código.

K5. Data do exame oral (se diferente da entrevista): Insira data, se diferente da data da entrevista.

K6. Higiene oral em geral (tártaro, sangramento gengival, etc): Insira o código. Isto indicará em escore subjetivo, baseado nas condições gerais dos dentes (tártaro, odor) e gengivas (sangramento gengival, etc.).

K7. Avulsão dentária: Insira o código de acordo com o número de dentes ausentes. O número de dentes do ser humano é de 32 (dica: conte os dentes remanescentes e subtraia de 32, para obter o número de dentes ausentes).

K8. Há alguma lesão visível?: Relate a presença de lesão. Em caso de suspeita, refira ao investigador principal.

### COLETA DA AMOSTRA

K9. Células esfoliadas obtidas: Insira o código. Por favor lembre-se que “somente lavado bucal” torna o entrevistado não elegível para o estudo.

K10. Amostra sangüínea obtida: Insira o código.

K11. Data das coletas de células e sangue: Indique a data das coletas das células, se diferente da data da coleta de sangue. Se a coleta das células é feita na mesma data da entrevista, não indique nenhuma data.

## SOMENTE PARA CASOS

Por favor lembre-se: A maioria desta informação deverá ser preenchida após a entrevista, com a ajuda, se possível do médico responsável pelo doente.

L1. Descreva o aspecto macroscópico do tumor(es): Insira o código. Crie novos códigos para combinações.

L2. Topografia, de acordo com CID-10, 1990: A topografia deve ser indicada de acordo com o código de dois dígitos do CID-10 para a topografia pré-codificada. Por favor lembre que lábio é 00. É altamente desejável que se inclua um terceiro dígito da classificação do CID para indicar sublocalização do tumor. Neste caso, os dois ícones presentes não serão suficientes. Ignore os ícones para essas questões. No caso de tumores primários, invadindo outros locais, novos códigos devem ser designados para as combinações mais frequentes. A codificação será feita pelo coordenador local.

L3. Morfologia de acordo com o CID-10, 1990: Morfologia de acordo com o CID-10. Codificação feita pelo coordenador local.

L4. Número de espécies histológicas diagnosticadas (não codificar): Não codifique. É o número da amostra histológica do departamento de patologia local. Assim como o número de registro médico ele pode ser útil para informações adicionais posteriores.

L5. Data da operação cirúrgica, se realizada: Insira a data da operação. Se não foi realizada operação, por favor deixe o espaço em branco.

L6. Se o estadiamento formal não está disponível, qual é a extensão estimada do seu tumor: Indique o estágio aproximado, se o TNM clínico não está disponível.

L7. Estão as biópsias/tecidos disponíveis para este estudo?: Insira o código. Congelações incluem punções biópsia e amostras cirúrgicas.

L8. Estão as lâminas histológicas disponíveis para este estudo?: Insira o código.

L9. Fotocópia do diagnóstico histológico ou citológico: Insira o código.

## **A entrevista ocupacional**

### A. Histórico dos empregos

A primeira tarefa da entrevista ocupacional é obter um histórico de todos os trabalhos de entrevistado e listá-los no questionário geral/história ocupacional (p.18-...). Esta parte do questionário pode ser deixada com o paciente antes da entrevista. Os entrevistadores devem ajudar a lembrar e listar todos os empregos do paciente desde que deixou a escola ou pode iniciar qualquer atividade de trabalho.

Somente trabalhos com a duração maior que um ano devem ser listados. Isto inclui, trabalhos sazonais cujo tempo cumulativo de emprego ultrapasse mais que 12 meses. De modo a assegurar que o entrevistado tenha lembrado sua história ocupacional completa sem falhas, cada lacuna de tempo deve ser questionada e registrada no questionário ocupacional.

1. O entrevistador deve também perguntar sobre quaisquer outros empregos em adição aos principais listados acima. O entrevistador deve auxiliar o paciente a lembrar qualquer lacuna (= período sem menção de trabalho) investigando ativamente. Por exemplo, períodos que ajudou a família sem nenhum salário (no campo, numa loja, ...), atividades domésticas, de treinamento profissional, durante o exército, doença, desemprego, pensão, prisão. Entre estes períodos, alguns devem ser listados como um emprego e então receber um número e uma descrição do trabalho, mesmo que não remunerado.

Exemplos a serem listados como emprego no questionário incluem:

- estar ou ter estado no exército (motorista, cozinheiro)
- escola técnica ou profissionalizante, desde que o treinamento tenha envolvido atividades práticas (ex. aprendiz de fundição)
- trabalhar no campo ou negócio com a família.

Portanto, entre a data de saída da escola e a data da entrevista, não deverá haver nenhuma lacuna de mais que um ano na cronologia.

Se houver qualquer mudança significativa no tipo de trabalho durante um período de emprego na mesma companhia, este período deverá ser separado em 2 ou mais trabalhos. Por exemplo, uma pessoa começa como um trabalhador, torna-se motorista e depois chefe na mesma companhia. Este período de trabalho deve ser separado em 3 empregos.

Finalmente, o último ano de cada histórico ocupacional deve ser o ano da entrevista. Na data da entrevista, a pessoa estará trabalhando, ou desempregada ou pensionista.

No final da história ocupacional, depois de certificar-se que não existem lacunas não-explicadas maiores que um ano, o entrevistador perguntará se houve qualquer doença que tenha motivado parar o trabalho por pelo menos um ano.

### **O questionário ocupacional geral: QOG**

Um QOG deve ser completado para cada trabalho listado na história ocupacional.

Regras específicas

Comece escrevendo o número de identificação do paciente.

Observe o número do trabalho na história ocupacional. Se houver um período entre dois trabalhos regulares (ex. ajudava a família na fazenda), descreva isto em uma nota junto com os anos que ocorreu.

Se o trabalho era em tempo parcial e as horas variavam, estime o número de horas de trabalho em uma semana típica.

#### As primeiras 5 questões

Q1-G5 são questões abertas nas quais a pessoa descreve seu ambiente de trabalho usando suas próprias palavras. Você deve estimulá-lo a dar uma descrição completa do trabalho. Pergunte a informação mesmo se o trabalho for muito comum (ex. permita um padeiro descrever suas tarefas).

Q1/Q1a.

Se a pessoa não entender estas questões dê alguns exemplos de serviços e negócios. Pode ser necessário auxiliar o paciente a descrever vários produtos e processos de produção, e também identificar o setor/ processo/ departamento que ele estava envolvido. Isto será o caso, especialmente, para grandes fábricas.

Q2.

Mais que uma resposta será o usual para esta questão (ex.: interior + laboratório).

Q3.

Não aceite somente um cargo como descrição das tarefas. Se a pessoa não começar descrevendo seu trabalho, peça para descrever um dia típico de trabalho.

Para “outras tarefas” tente ter uma idéia do tempo gasto nestas atividades. Exemplo: principal atividade = fundição. Outras tarefas incluem pintura (10% do tempo) e trabalho de escritório (5%).

Q4.

Explique que você está interessado em qualquer tipo de máquina. Você pode dar exemplos (equipamento de soldar, computador, ferramentas, forno...).

Q5.

Limpeza pode ser feita com agentes químicos, com ar comprimido, raspador, etc. Manutenção pode ser feita com lubrificantes, tintas, soldas, etc.

Q5.

Esta pergunta foca o(s) trabalhador(es) na mesma sala ou local do entrevistado e que realiza tarefas diferentes. Quando a pessoa se move frequentemente dentro da mesma companhia/fábrica, pergunte sobre as tarefas mais frequentes as quais ela foi exposta ou os locais que ela mais frequentemente visitava.

Pare aqui com trabalhadores de escritório com nenhuma possibilidade de exposição. Isto significa as seguintes respostas:

Q2: - trabalhar em escritório (e obviamente em ambiente fechado)

Q3: - somente tarefas de escritório foram realizadas

Q4: - somente máquinas como computador, máquina de escrever foram usadas

Q4a: - Nenhuma manutenção foi realizada

Q5: - Nenhum trabalho diferente foi executado pelos colegas em volta, isto é, exceto trabalho de escritório.

Q6-Q9

Abreviações: NS = Não sei

Informa-se sobre o nome químico (ex.: hipoclorito) e nomes usuais de possíveis exposições.

Q7

Tente investigar quais materiais foram aquecidos.

Q8

Note que “outros óleos” podem ser fluidos hidráulicos ou óleos vegetais.

Q9

Pergunte aos codificadores sobre agentes químicos, nomes comuns e marcas. A pessoa pode não saber quais plásticos/borrachas sintéticas que foi exposta, assim pergunte cada uma das exposições e anote a resposta (Sim, Não, NS).

Q10.

Da mesma maneira que Q9, responda Sim/Não ou NS. Descrição/nome: Isto pode ser nome, nome usual (popular) ou uma descrição como “líquido amarelo”. Se você não entender nomes técnicos ou não souber como escrevê-los, escreva-os foneticamente.

Q12.

Mesmo que você já tenha solicitado à pessoa para separar os trabalhos (na História Ocupacional) peça isto novamente já que mudanças são freqüentemente lembradas quando são escritas.

Q13-Q18

Estas são usadas como questões filtro para identificar se um QE (Questionário Especializado) específico deve ser usados. Observe que os QEs devem ser preenchidos se a pessoa **ou** colegas próximos faziam a tarefa de interesse.

Q16.

Observe que radiação ionizante pode ser para uso profissional médico, raios beta e raios gama.

Q17.

Esta questão é focada no equipamento de proteção individual. Nesta parte a investigação ativa é importante já que um trabalhador pode estar protegido para algumas tarefas mas não para outras (ex.: usar uma mascara durante uma soldagem mas não usar para a pulverização).

Q18.

Pergunte a pessoa informações precisas sobre para quais tarefas existia ou não ventilação.

## **Questionário Específico (QE)**

Como em Q13-Q18, para um determinado trabalho pode ser óbvio que outros QEs sejam apropriados. Se houver dúvida, examine atentamente o(s) QE(s) e verifique se ele(s) pode(m) ser relevante(s).

Preencha estes QEs antes de passar para o próximo trabalho.

Observe que alguns empregos podem incluir mais que um QE, por exemplo, um encanador provavelmente realiza trabalhos com solda, isolamento e pintura. Portanto, neste caso teríamos que completar um QOG (Questionário Ocupacional Geral) e 3 QEs para este emprego.

Alguns exemplos de emprego para cada QE:

**MECÂNICOS DE VEÍCULOS MOTORES:** carros, caminhões, veículos agrícolas, aeromotores...

**TRABALHADORES COM MADEIRA:** serrador, tratadores de madeira, laminadores (condensados, etc), operadores de máquinas relacionadas a madeira, marceneiros, carpinteiros...

**PINTORES:** todo trabalhador que pinte madeira ou metal ou plásticos ou paredes... para construções (alvenaria), carros ou qualquer outra pintura industrial.

**SOLDADORES:** qualquer trabalhador que use soldagem com arco elétrico, gás, chama, ...

**INDÚSTRIA QUÍMICA:** trabalho em qualquer manufatura de compostos químicos (ácidos, tintas, drogas, resinas, fibras sintéticas, pesticidas, ...)

**TRABALHADORES COM COURO, CURTUME:** produção de couro e peles, processamento, etc.

**TRABALHADOR COM ISOLAMENTO TÉRMICO:** todo trabalhador que aplique, remova ou faça qualquer tipo de trabalho com materiais de isolamento térmico (em canos, edifícios, motores elétricos, fornos, condicionadores de ar, caldeiras,...).



TRABALHADOR NA AGRICULTURA: fazendeiros, trabalhador com gado ou aves, operador de máquinas motorizadas.

TRABALHADORES EM MATADOURO, AÇOUGUE: trabalhador no matadouro de animais e/ou preparação de carcaças, cortadores de carne, açougueiros.

TRABALHADOR NA INDÚSTRIA TÊXTIL: envolvido na produção de fibras naturais e artificiais.

Após o término da entrevista, o entrevistador deve completar a folha de fluxo indicando quais questionários foram preenchidos e prover um sumário da entrevista e quaisquer detalhes extra.

## UM RESUMO DO QUE “FAZER” E “NÃO FAZER” QUANDO ESTIVER CONDUZINDO A ENTREVISTA OCUPACIONAL

### FAZER

Faça uma lista completa dos trabalhos no começo da entrevista.

Cheque por lacunas de mais de um ano e anote o que o entrevistado estava fazendo durante este período (estudando, doente, aposentado).

Use um QOG para cada trabalho, exceto quando empregos consecutivos forem idênticos. Exemplo: É válido usar apenas um QOC se o entrevistado foi motorista de táxi de diferentes empresas, mas um soldador de diferentes empresas vai necessitar em QOC separado para cada emprego dado que as exposições provavelmente foram bem diferentes.

Use informações de uma entrevista para empregos futuros similares.

Escreva o endereço de trabalho o mais precisamente possível já que muitas empresas têm várias sedes na mesma cidade.

Para cada trabalho anote o número total de horas de cada tarefa e cheque a consistência.

Anote as informações de forma abreviada.

Investigue se as ferramentas utilizadas eram elétricas ou manuais.

Anote as palavras foneticamente se você não sabe como elas são escritas.

Mencione que as respostas foram duvidosas se você achar que o entrevistado estava com pressa de terminar a entrevista.

Cheque quais questionários especializados são necessários.

Anote o número do emprego em cada QE.

Consulte seus codificadores se necessitar de mais informações sobre o processo ou terminologia.

Tente conseguir os nomes químicos ou comerciais das exposições e não apenas a categoria geral (ex. qual ácido, qual solvente).

Faça uma descrição completa da substância se o entrevistado não sabe o nome químico nem comercial (ex. cor, cheiro).

Pergunte às pessoas que trabalhavam em escritório se seu emprego se localizava dentro ou fora da área de máquinas ou equipamentos da empresa.

Para trabalhos longos (> 10 anos) investigue mudanças de materiais e processos ao longo deste tempo.

Pergunte sobre trabalhos específicos no exército (com comida, como motorista de caminhão, mecânico).

Anote quando um entrevistado não realizava a tarefa ou não trabalhava com o material que você esperava que ele usasse no emprego em questão.

Pergunte sobre trabalhos extras no final da entrevista.

Complete um QOG para trabalhos extras de 12 meses ou mais, de tempo integral se possível.

Complete a folha de fluxo antes de encerrar a entrevista.

### **INSTRUÇÕES PARA COLETA DE CÉLULAS ESFOLIADAS DA BOCA**

1. Instruir o entrevistado a lavar a boca com água.
2. Remover a dentadura, se for o caso.
3. Realizar o escovado com uma escova suave.

**Nos casos de CA da laringe e em todos controles :** 5 a 10 escovadas suaves feitas em cada um dos seguintes locais:

Mucosa do lado direito da boca (de cima para baixo).

Mucosa do lado esquerdo da boca (de cima para baixo).

Lado direito da língua.

Lado dorsal da língua.

Lado esquerdo da língua.

Lado interno do lábio superior e inferior.

**Nos casos de CA de boca:** após o escovado descrito acima, a lesão visível será escovada com 5 a 10 suaves escovadas tentando evitar as áreas necróticas.

4. Imediatamente após o escovado, preparar um esfregaço em lâmina com o nome do paciente e o número do estudo. Fixar a lâmina imediatamente com 90% de álcool e posteriormente lavar com Papanicolau e cobrir com uma lamínula. Conforme o centro, poderá ser decidido ser feita a lâmina para todos os casos (laringe e boca) e controles.
5. Depois de preparar a lâmina, introduzir a escova em um tubo plástico de 50ml contendo 20ml de PBS (solução tampão de fosfato). Sacudir para que todas as células desprendam-se da escova.
6. Pedir ao paciente para lavar a boca energeticamente, incluindo a garganta, com gargarejos de 10ml de solução salina, que serão despejados no mesmo tubo cônico.
7. Processar a amostra conforme protocolo.