



**ERICKA FRANCISLAINE DIAS COSTA**

**POLIMORFISMOS EM GENES RELACIONADOS À APOPTOSE POR VIA  
INTRÍNSECA NA FARMACOGENÉTICA DA CISPLATINA ASSOCIADA À  
RADIOTERAPIA EM PORTADORES DE CARCINOMA DE CÉLULAS  
ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO**

**CAMPINAS**

**2014**





**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

**ERICKA FRANCISLAINE DIAS COSTA**

**POLIMORFISMOS EM GENES RELACIONADOS À APOPTOSE POR VIA  
INTRÍNSECA NA FARMACOGENÉTICA DA CISPLATINA ASSOCIADA À  
RADIOTERAPIA EM PORTADORES DE CARCINOMA DE CÉLULAS  
ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós Graduação da  
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de  
Campinas – UNICAMP para obtenção de título de Mestra em  
Ciências na área de concentração Clínica Médica.

**ORIENTAÇÃO: Profa. Dra. CARMEN SILVIA PASSOS LIMA**

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO  
FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELA ALUNA  
ERICKA FRANCISLAINE DIAS COSTA, E ORIENTADA PELA  
PROFA. DRA. CARMEN SILVIA PASSOS LIMA

---

Assinatura da Orientadora

**CAMPINAS**

**2014**

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas  
Maristella Soares dos Santos – CRB 8/8402

C823p Costa, Ericka Francislaine Dias Costa, 1988-  
Polimorfismos em genes relacionados à apoptose por via intrínseca na farmacogenética da cisplatina associada à radioterapia em portadores de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço / Ericka Francislaine Dias Costa. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Carmen Silvia Passos Lima.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. 2. Farmacogenética. 3. Cisplatina. 4. Radioterapia. 5. Polimorfismo genético. I. Lima, Carmen Silvia Passos, 1957-. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

**Título em outro idioma:** Polymorphisms in genes related intrinsic apoptosis pathway in pharmacogenetics of cisplatin associated to radiotherapy in patients with head and neck squamous cell carcinoma

**Palavras-chaves em inglês:**

Head and neck squamous cell carcinoma

Pharmacogenetics

Cisplatin

Radiotherapy

Polymorphism, Genetic

**Área de concentração:** Clínica Médica

**Titulação:** Mestra em Clínica Médica

**Banca examinadora:**

Carmen Silvia Passos Lima [Orientador]

Luiz Fernando Lopes

Maria de Fátima Sonati

**Data de defesa:** 29-08-2014

**Programa de Pós-Graduação:** Clínica Médica

**BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO**

**ERICKA FRANCISLAINE DIAS COSTA**

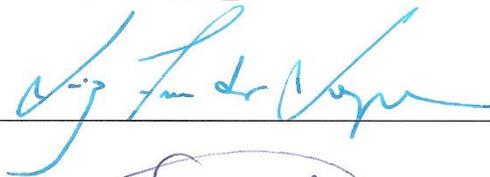
**ORIENTADOR(A): PROF. DR. CARMEN SILVIA PASSOS LIMA**

**MEMBROS:**

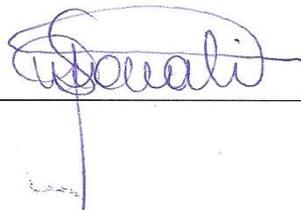
1. PROF. DR. CARMEN SILVIA PASSOS LIMA



2. PROF. DR. LUIZ FERNANDO LOPES



3. PROF. DR. MARIA DE FÁTIMA SONATI



Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da  
Universidade Estadual de Campinas.

**Data: 29 de agosto de 2014**



## **Dedicatória**

*Dedico este trabalho a minha família e amigos pelo amor incondicional e aos pacientes que me permitiram compartilhar de suas histórias, valores que levarei para a minha vida.*



## **Epígrafe**

*“Quem não tem formação em química ou medicina talvez não perceba quão difícil é a questão do tratamento de câncer. É quase – não tanto, mas quase – tão difícil como descobrir um agente capaz de dissolver a orelha esquerda, por exemplo, e deixar a orelha direita intacta. Tão pequena é a diferença entre a célula cancerosa e seu ancestral normal”*

**William Woglom**



## Agradecimentos

---

À minha orientadora Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima, pela paciência e generosidade ao passar seus conhecimentos, pela seriedade, honestidade e profissionalismo me ensinando o caminho correto a ser seguido, pela amizade nos momentos que mais precisei.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de mestrado (nº 2012/12538-2) e auxílio pesquisa (nº 2012/01807-2) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio pesquisa (nº 401262/2013-8), fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos pacientes e acompanhantes, por doarem um pouco de si, em momento tão delicado de suas vidas e sem ao mesmo perceberem ensinaram valores inestimáveis, lições que levarei para minha vida.

Aos colaboradores deste trabalho, Profa. Dra. Patrícia Moriel (Departamento de Patologia Clínica), Prof. Dr. Carlos Takahiro Chone (Departamento de Oftalmologia e Otorrinolaringologia), Prof. Dr. João Maurício Carrasco Altemani e Prof. Dr. Celso Dario Ramos (Departamento de Radiologia), e Profa. Dra. Albina Messias de Almeida Milani Altemani (Departamento de Anatomia Patológica), pela contribuição na realização deste trabalho.

Aos “cisplatinos”, Leisa, Guilherme, Marília, Éder e Tathi, peças chaves para realização deste trabalho, sem vocês não seria possível a concretização desse estudo, agradeço pelo apoio e companheirismo.

À equipe da Oncologia, Roseli, Rosângela, Eliseu, Naiara, Ricardo, Dona Edna, Ana Paula, Maristela, Stella, Júlio, Dr. Vinícius Conceição, Dr. José Augusto Rinck Júnior e demais funcionários, residentes e internos, por ajudar na inclusão e acompanhamento dos pacientes.

À equipe da Quimioterapia, Sheila, Melia, Carlão, Jailde, Dona Maria, Olímpia e demais enfermeiras, pela ajuda na obtenção das amostras dos pacientes.

Às fonoaudiólogas, Luciane Calonga, Daniela Calil, Daniele Jerônimo, Silvia Curi, Renata e Simone, e a recepcionista Márcia, pela dedicação ao atenderem nossos pacientes, mesmo quando não tinham mais espaço nas suas agendas e pela paciência em nos ensinarem uma pequena parte sobre Audiologia.

## Agradecimentos

---

Aos funcionários da Medicina Nuclear, Doni, Kely, Raquel, Cristiane Midinutti, Edna, Carlos, Bárbara, Geraldo e Camila, que gentilmente contribuíram com a realização e análises dos exames realizados em seu serviço.

À equipe da Otorrino, Radiologia e Radioterapia, que contribuíram de forma direta ou indireta na melhoria deste estudo.

À equipe de farmacêuticas, Marília, Bruna, Rafaela, Anna Paula, Cinthia, Grazielle, Isabella, Laís e Luciana, pela atenção e dedicação na análises de toxicidades e pela paciência em dividir seus conhecimentos.

À Dra. Cláudia Malheiros Coutinho Camillo e à Ms. Marina França de Resende (Departamento de Anatomia Patológica do Centro Internacional de Pesquisa do A.C. Camargo Câncer Center) e também à Dra. Fernanda Viviane Mariano (Laboratório de Anatomia Patológica da UNICAMP), pela ajuda na obtenção dos tumores incluídos em parafina, confecção das lâminas, realização das técnicas de imunohistoquímica automatizada e hibridização *in situ* e interpretação dos resultados.

Aos parceiros do Laboratório de Genética do Câncer (LAGECA), Gustavo, Cristiane, Gabriela, Angelo, Camila, Carla e Erikinha, pela ajuda em todos os momentos.

Aos meus amigos Leisa Lopes Aguiar e Guilherme Augusto da Silva Nogueira, pela amizade e companheirismo tanto pessoal quanto profissional, pelo ombro amigo nos momentos mais difíceis e por fazerem parte da minha vida.

À minha amada família, pois sem vocês nada disso seria possível. Meus pais, pelo apoio e amor incondicional, pela minha formação pessoal e profissional, pelos inúmeros conselhos e incentivos para sempre ir mais além. A minha irmã Nathalia pelo carinho, amor e amizade. Ao meu amigo, companheiro, namorado e futuro marido Luciano, pela compreensão das ausências por conta dos estudos, pelo apoio nos momentos difíceis, pelo amor, carinho e cumplicidade.

## Lista de abreviaturas

---

<i>CASP9</i>	Gene iniciador da apoptose pela via intrínseca
<i>CASP3</i>	Gene efetor da apoptose
CCE	Carcinoma de células escamosas
CCECP	Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço
CDDP	Cisplatina
cGy	Centigray
CICSHCP	Sistema <i>online</i> do Hospital de Clínicas
ClCre	Clearance de creatinina estimado
Cr	Creatinina
dB	DeciBELL
DDTC	Dietilditiocarbamato
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dNTP	Desoxirribonucleotídeo trifosfato
DP	Desvio padrão
EDTA- <sup>51</sup> Cr	Ácido etilenodiamino-tetracético marcado com cromo- <sup>51</sup>
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HPV	Papilomavírus humano
HWE	Hardy-Weinberg equilibrium
IC	Intervalo de confiança
IT	Índice de tabagismo
kHz	Quilohertz
KPS	<i>Karnofsky performance status</i>
M	Molar
MBq	Megabequerel
MgCl <sub>2</sub>	Cloreto de magnésio

## Lista de abreviaturas

---

mg	Miligrama
mM	Milimolar
mL	Mililitro
NaOH	Hidróxido de sódio
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
ng	Nanograma
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de amônio
NiCl <sub>2</sub>	Cloreto de níquel
nm	Nanomolar
OR	Razão das chances
pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PI	Padrão interno
pmoles	Picomoles
p16	Proteína 16
<i>P53</i>	Gene supressor da proteína P53
QT	Quimioterapia
RECIST 1.1	<i>Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1</i>
rpm	Rotação por minuto
rs	Número de referência do polimorfismo gênico
RT	Radioterapia
SPECT	Tomografia computadorizada por emissão de fóton único
<i>Taq</i>	Enzima polimerase <i>Termusaquaticus</i>
TC	Tomografia computadorizada
TFG	Taxa de filtração glomerular

## Lista de abreviaturas

---

U	Unidade
$\chi^2$	Qui-quadrado
$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{M}$	Micromolar



## Lista de figuras

---

		Página
<b>Figura 1.</b>	Metabolismo da cisplatina .....	<b>34</b>
<b>Figura 2.</b>	Proteínas de reconhecimento de danos envolvidas com apoptose de células com lesão induzida pela cisplatina pela via intrínseca ....	<b>36</b>
<b>Figura 3.</b>	Audiograma de sons familiares .....	<b>55</b>
<b>Figura 4.</b>	Secções de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço incluídos em parafina para pesquisa de HPV .....	<b>68</b>
<b>Figura 5.</b>	Genótipos do polimorfismo Arg72Pro do gene <i>P53</i> .....	<b>70</b>
<b>Figura 6.</b>	Genótipos do polimorfismo A-1263G do gene <i>CASP9</i> .....	<b>71</b>
<b>Figura 7.</b>	Genótipos do polimorfismo C-712T do gene <i>CASP9</i> .....	<b>72</b>
<b>Figura 8.</b>	Genótipos do polimorfismo A-928G do gene <i>CASP3</i> .....	<b>73</b>
<b>Figura 9.</b>	Cromatograma e dados utilizados para quantificação da cisplatina na urina .....	<b>96</b>
<b>Figura 10.</b>	Apresentação gráfica da curva padrão desenvolvida, da equação da curva e do $r^2$ .....	<b>97</b>
<b>Figura 11.</b>	Cromatograma e dados utilizados para quantificação da cisplatina na urina.....	<b>98</b>
<b>Figura 12.</b>	Paciente com carcinoma de células escamosas de faringe antes e após o tratamento .....	<b>101</b>
<b>Figura 13.</b>	Imagens obtidas antes e após o tratamento de paciente com carcinoma de células escamosas de laringe em cortes axiais e coronais de tomografia computadorizada de pescoço com contraste intravenoso .....	<b>102</b>
<b>Figura 14.</b>	Imagens de tomografia computadorizada de pescoço por emissão de fóton único (SPECT) com sestamibi- <sup>99m</sup> Tc, de tomografia computadorizada (TC) do pescoço sem contraste e da fusão de SPECT com TC obtidas antes e após o tratamento de paciente com carcinoma de células escamosas de cavidade oral .....	<b>105</b>



## Lista de tabelas

---

	Página
<b>Tabela 1.</b> Frequências dos genótipos distintos de polimorfismos gênicos relacionados com a via intrínseca de apoptose em câncer.....	<b>44</b>
<b>Tabela 2.</b> Classificação de indivíduos por hábito de ingerir bebidas alcoólicas .....	<b>46</b>
<b>Tabela 3.</b> Classificação de indivíduos por hábito do tabagismo .....	<b>47</b>
<b>Tabela 4.</b> Condições para genotipagem dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G, C-712T e <i>CASP3</i> A-928G .....	<b>51</b>
<b>Tabela 5.</b> Graus de náuseas e vômitos medidos por critérios do <i>National Cancer Institute</i> * .....	<b>53</b>
<b>Tabela 6.</b> Graus de mielossupressão medidos por critérios do <i>National Cancer Institute</i> * .....	<b>53</b>
<b>Tabela 7.</b> Graus de ototoxicidade segundo critérios do <i>National Cancer Institute</i> .....	<b>56</b>
<b>Tabela 8.</b> Tipos de resposta à terapêutica de acordo com RECIST 1.1* .....	<b>60</b>
<b>Tabela 9.</b> Frequências das distribuições dos 145 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com a situação final e as causas de exclusão do estudo .	<b>63</b>
<b>Tabela 10.</b> Frequências das distribuições dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com a idade, o sexo, a etnia, o índice de massa corpórea, as comorbidades e o padrão de etilismo e tabagismo .....	<b>65</b>
<b>Tabela 11.</b> Frequências das distribuições dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com a localização, o grau de diferenciação, o estágio do tumor e a presença do papilomavírus humano .....	<b>66</b>

## Lista de tabelas

---

	Página
<b>Tabela 12.</b> Frequências das distribuições dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com os genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G, <i>CASP9</i> C-712T e <i>CASP3</i> A-928G .....	74
<b>Tabela 13.</b> Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por graus de náuseas e vômitos e adesão aos antieméticos durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	76
<b>Tabela 14.</b> Frequências das distribuições dos 84 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por graus de mielossupressão durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	77
<b>Tabela 15.</b> Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e graus de náuseas e vômitos durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	78
<b>Tabela 16.</b> Frequências das distribuições dos 84 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e graus de mielossupressão durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	79
<b>Tabela 17.</b> Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por limiares auditivos tonais por via aérea, em orelha direita e orelha esquerda, nas frequências 0,25, 0,50, 1, 2, 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	82

		Página
<b>Tabela 18.</b>	Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por graus de ototoxicidade por via aérea, medidos antes e após a terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	83
<b>Tabela 19.</b>	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e limiares auditivos tonais por via aérea, em orelha direita, nas frequências 0,25, 0,50, 1 e 2 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	84
<b>Tabela 20.</b>	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e limiares auditivos tonais por via aérea, em orelha direita, nas frequências 3, 4, 5 e 6 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia.....	86
<b>Tabela 21.</b>	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e limiares auditivos tonais por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 0,25, 0,50, 1 e 2 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	88
<b>Tabela 22.</b>	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e limiares auditivos tonais por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	90

## Lista de tabelas

---

	Página
<b>Tabela 23.</b> Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e graus de ototoxicidade após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	92
<b>Tabela 24.</b> Distribuições dos 70 e 69 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e valores de clearance de creatinina estimado (CICre) e taxa de filtração glomerular com EDTA- <sup>51</sup> Cr, respectivamente, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	95
<b>Tabela 25.</b> Distribuições dos 57 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e valores de cisplatina urinária medidos durante o tratamento com cisplatina associada à radioterapia .....	99
<b>Tabela 26.</b> Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por tipos de respostas à terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	100
<b>Tabela 27.</b> Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>P53</i> Arg72Pro, <i>CASP9</i> A-1263G e <i>CASP3</i> A-928G e tipos de resposta à terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	103

## Sumário

---

	Página
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xvii</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xix</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xxvii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xxix</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>31</b>
1. Considerações gerais.....	31
2. Fatores predisponentes para o CCECP .....	31
3. Terapêutica para portadores de CCECP .....	32
4. Cisplatina .....	32
5. Polimorfismos em genes que atuam no metabolismo da cisplatina .....	38
5.1. P53, CASP9, CASP3 e apoptose de células lesadas .....	38
6. Polimorfismos gênicos, metabolismo e efeitos da cisplatina .....	39
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>41</b>
<b>CASUÍSTICA E MÉTODOS.....</b>	<b>43</b>
1. Aspectos clínicos e tumor .....	46
2. Terapêutica de pacientes com CCECP .....	48
3. Seguimento de pacientes com CCECP .....	49
4. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos .....	49
5. Toxicidade ao esquema terapêutico .....	52
5.1. Náuseas, vômitos e mielossupressão .....	52
5.2. Ototoxicidade .....	54
5.3. Nefrotoxicidade .....	56
5.3.1. Creatinina sérica e clearance de creatinina estimado .....	56

## Sumário

---

	Página
5.3.2. Taxa de filtração glomerular com EDTA-51Cr.....	56
6. Quantificação da cisplatina urinária .....	57
6.1. Procedimentos pré-analíticos .....	57
6.1.1. Construção da curva padrão .....	57
6.1.2. Preparo da urina dos pacientes e da curva padrão .....	57
6.2. Procedimentos analíticos .....	58
6.2.1. Condições da cromatografia líquida de alta eficiência .....	58
6.2.2. Construção de curva padrão com urina de controle .....	58
6.2.3. Quantificação da cisplatina nas urina dos pacientes .....	58
6.2.4. Correções aplicadas na amostras de urina .....	59
7. Avaliação de taxa de resposta ao tratamento .....	59
7.1. Tomografia computadorizada do pescoço .....	59
7.2. Tomografia computadorizada por emissão de fóton único .....	60
8. Aspectos éticos .....	61
9. Análise estatística .....	61
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>63</b>
1. Casuística .....	63
2. Aspectos clínicos e do tumor .....	63
3. Terapêutica de pacientes com CCECP .....	69
4. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos .....	69
5. Toxicidade ao esquema terapêutico .....	75
5.1. Náuseas, vômitos e mielossupressão .....	75
5.2. Ototoxicidade .....	81
5.3. Nefrotoxicidade .....	93

## Sumário

---

	Página
6. Quantificação da CDDP urinária .....	96
6.1. Padronização da técnica .....	96
6.2. Concentração de CDDP urinária .....	98
7. Avaliação da taxa de resposta após terapêutica .....	100
7.1. Tomografia computadorizada do pescoço .....	100
7.2. Tomografia computadorizada por emissão de fóton único .....	104
<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>107</b>
1. Aspecto clínico e do tumor .....	107
2. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos .....	110
3. Toxicidade ao esquema terapêutico .....	110
3.1. Náuseas e vômitos .....	110
3.2. Mielossupressão .....	113
3.3. Ototoxicidade .....	115
3.4. Nefrotoxicidade .....	117
4. Concentração de CDDP urinária .....	118
5. Avaliação de taxa de resposta após terapêutica .....	119
5.1. Tomografia computadorizada .....	119
5.2. Tomografia computadorizada por emissão de fóton único .....	121
<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>123</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>125</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>149</b>



A cisplatina (CDDP) associada à radioterapia (RT) é utilizada no tratamento de portadores de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço (CCECP). Já é conhecido que tanto a resposta ao tratamento como seus efeitos colaterais variam de indivíduo para indivíduo. Uma possível explicação para o fato pode ser a variabilidade genética no metabolismo da CDDP. O objetivo deste estudo é verificar se as habilidades herdadas para induzir apoptose de células danificadas, mediadas pelas enzimas P53, CASP3 e CASP9, alteram os efeitos colaterais, a concentração de CDDP urinária e a taxa de resposta à terapêutica em pacientes com CCECP. Foram avaliados, de forma prospectiva, 90 pacientes consecutivos com CCECP do Ambulatório de Oncologia Clínica do Hospital de Clínicas da UNICAMP, que receberam CDDP associada à RT como tratamento neoadjuvante, definitivo ou paliativo da doença. Os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T e *CASP3* A-928G foram analisados por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e digestão enzimática em DNA de sangue periférico. Os efeitos colaterais ao tratamento foram graduados por meio de questionário e exames laboratoriais, de acordo com os critérios do *National Cancer Institute*. As toxicidades auditiva e renal foram avaliadas, respectivamente, por meio de audiometria tonal, clearance de creatinina estimado e taxa de filtração glomerular (TFG) com EDTA-<sup>51</sup>Cr, realizados antes e após o tratamento. As dosagens urinárias da CDDP foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência. A resposta ao tratamento foi avaliada por tomografia computadorizada de pescoço, de acordo com os critérios *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors* 1.1 (RECIST 1.1) e por tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT-TC). O significado estatístico das diferenças entre grupos foi calculado pelo teste da probabilidade exata de Fisher ou qui-quadrado. A regressão logística múltipla foi feita para obter a razão das chances, e a ANOVA por transformação em postos foi realizada para medidas repetidas. O genótipo *P53* 72ProPro esteve associado com maior ocorrência de vômitos dos graus 2, 3 e 4 e os genótipos *CASP3* -928 AA e AG estiveram associados com menor perda auditiva unilateral e menor nefrotoxicidade após terapêutica em nossos casos. Concluímos que os polimorfismos *P53* Arg72Pro e *CASP3* A-928G modulam os efeitos colaterais do tratamento de pacientes com CCECP com CDDP e RT, como vômitos, acuidade auditiva e nefrotoxicidade. Acreditamos que estes resultados podem contribuir para definir o tratamento personalizado futuro de pacientes com CCECP.



Cisplatin (CDDP) associated with radiotherapy (RT) is used in treatment of patients with squamous cell head and neck carcinoma (HNSCC). It is well known that both response to treatment and side effects vary among individuals. A possible explanation for this may be genetic variability in CDDP metabolism. The aim of this study was to assess if inherited ability of inducing damaged cells to apoptosis, mediated by P53, CASP3 and CASP9 enzymes, change side effects, urinary concentration of CDDP, and rate of response to therapy in HNSCC patients. We evaluated prospectively, 90 HNSCC patients of Outpatient Oncology Clinic of UNICAMP's Clinical Hospital, who received CDDP associated to RT as neoadjuvant, definitive or palliative treatment. Genotypes of *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T and *CASP3* A-928G, polymorphisms were analyzed by polymerase chain reaction (PCR) and restriction enzyme digestion of peripheral blood DNA. Treatment side effects were ranked by questionnaire and laboratory tests, according to criteria of *National Cancer Institute*. Hearing and renal toxicities were assessed using, respectively, audiometry, estimated creatinine clearance and EDTA-<sup>51</sup>Cr glomerular filtration rate (GFR), measured before and after treatment. CDDP Urinary dosages were measured by high performance liquid chromatography. Treatment response was assessed by computed tomography of neck, according to *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors* 1.1 (RECIST 1.1) and by Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT-CT). Statistical significance of differences between groups was calculated by Fisher's exact probability test or chi-square. Multiple logistic regression was performed to obtain odds ratio, and ANOVA with rank-transform method was performed for repeated measures. *P53* 72ProPro genotype was associated with vomiting of grades 2, 3 and 4 and *CASP3* -928 AA and AG genotypes were associated with lower unilateral hearing loss and lower nephrotoxicity after therapy in our cases. We conclude that *P53* Arg72Pro and *CASP3* A-928G polymorphisms modulate the side effects, such as vomiting, hearing thresholds decrease and nephrotoxicity, in HNSCC treated with CDDP and RT. We believe these results may contribute to definition of future personalized treatment of HNSCC patients.



### 1. Considerações gerais

O termo carcinoma de células escamosas (CCE) de cabeça e pescoço (CP) é usado para descrever tumores do tipo histológico identificados na cavidade oral, faringe, fossa nasal, seios paranasais e laringe (MENDENHALL *et al.*, 2011).

O CCECP representa um grave problema de saúde no mundo e é o sexto tipo de câncer mais comum (MENDENHALL *et al.*, 2011). Cerca de 645.000 novos casos do tumor são identificados a cada ano em todo o mundo e, 75% deles apresentam a doença em estágios avançados (III ou IV). O CCECP determina mais de 350.000 mortes ao ano (KAMANGAR *et al.*, 2006; JEMAL *et al.*, 2007; RAGIN *et al.*, 2007).

No Brasil, estima-se que no ano de 2014 ocorra 11,5 casos CCE de cavidade oral e 7,0 casos de CCE de laringe, por 100.000 homens. Já taxas brutas de 3,9 e 0,7 casos dos respectivos tumores, por 100.000 mulheres foram estimadas para o mesmo período (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014).

A idade média de apresentação da doença é 64 anos e cerca de dois terços dos pacientes são homens (MENDENHALL *et al.*, 2011). Entretanto, foi observado o declínio desta proporção nos últimos anos, possivelmente devido ao fato de que as mulheres adquiriram os hábitos do tabagismo e o do etilismo.

Apesar dos avanços em abordagens diagnósticas e terapêuticas, não houve aumento substancial na sobrevida média dos portadores da doença nas últimas décadas. Cerca de 64% dos pacientes com CCECP sobrevivem por cinco anos; taxas maiores são observados em cânceres orais quando em estágios iniciais (91%) e menores em tumores de hipofaringe (31%) (MENDENHALL *et al.*, 2011).

### 2. Fatores predisponentes para o CCECP

Os principais fatores envolvidos com a origem do CCECP são o tabagismo e o etilismo crônicos (YANG *et al.*, 2009; MENDENHALL *et al.*, 2011). Os indivíduos que consomem álcool e tabaco estão sob risco 20 vezes maior de apresentarem o CCECP do que os indivíduos sem os hábitos (LAZARUS & PARK, 2000).

A exposição de indivíduos às infecções pelo papilomavírus humano (HPV) do tipo 16 foi também relacionada particularmente aos tumores de orofaringe (EL-MOFTY & LU, 2003; SYRJANEN, 2005; RAGIN *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 2010; SIDRANSKY, 2010;

ZHENG *et al.*, 2010; LEEMANS *et al.*, 2011; MENDENHALL *et al.*, 2011). Os subtipos 18, 31 e 33 foram encontrados em menor número de portadores do tumor (SNOW & LAUDADIO, 2010; STELOW *et al.*, 2010). O HPV foi detectado em cerca de 25% de todos os CCECP e parece constituir fator de prognóstico favorável para seus portadores (STELOW *et al.*, 2010; MENDENHALL *et al.*, 2011).

O risco aumentado de CCECP entre parentes de primeiro grau e sua identificação em pacientes jovens sugeriu que possa existir suscetibilidade herdada para o tumor. Diferenças individuais geradas por polimorfismos em genes relacionados ao metabolismo do tabaco e álcool (OUDE OPHUIS *et al.*, 2003; GATTAS *et al.*, 2006; HO *et al.*, 2007), à capacidade inadequada de reparo de danos no DNA (CANEVARI & ROGATTO, 2004) e de genes que atuam no ciclo celular e apoptose (LI *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2005), sugeriram que a constituição genética pode predispor indivíduos ao tumor (CANEVARI & ROGATTO, 2004).

### **3. Terapêutica para portadores de CCECP**

As terapêuticas utilizadas para portadores de CCECP são a ressecção cirúrgica do tumor e suas extensões, a radioterapia (RT) e a quimioterapia (QT). A QT com *cis*-diaminodicloroplatina (II), a cisplatina (CDDP), é em geral utilizada concomitantemente à RT. É administrada para reduzir as dimensões do tumor para posterior ressecção cirúrgica (tratamento neoadjuvante), após a ressecção cirúrgica do tumor em indivíduos com alto risco de recidiva (tratamento adjuvante) e para o controle do tumor em pacientes com doença metastática ou recidiva do tumor sem possibilidade de reabordagem cirúrgica (tratamento paliativo). A QT com CDDP associada à RT pode também ser utilizada como tentativa de preservação de órgão (tratamento definitivo) (MENDENHALL *et al.*, 2011).

### **4. Cisplatina**

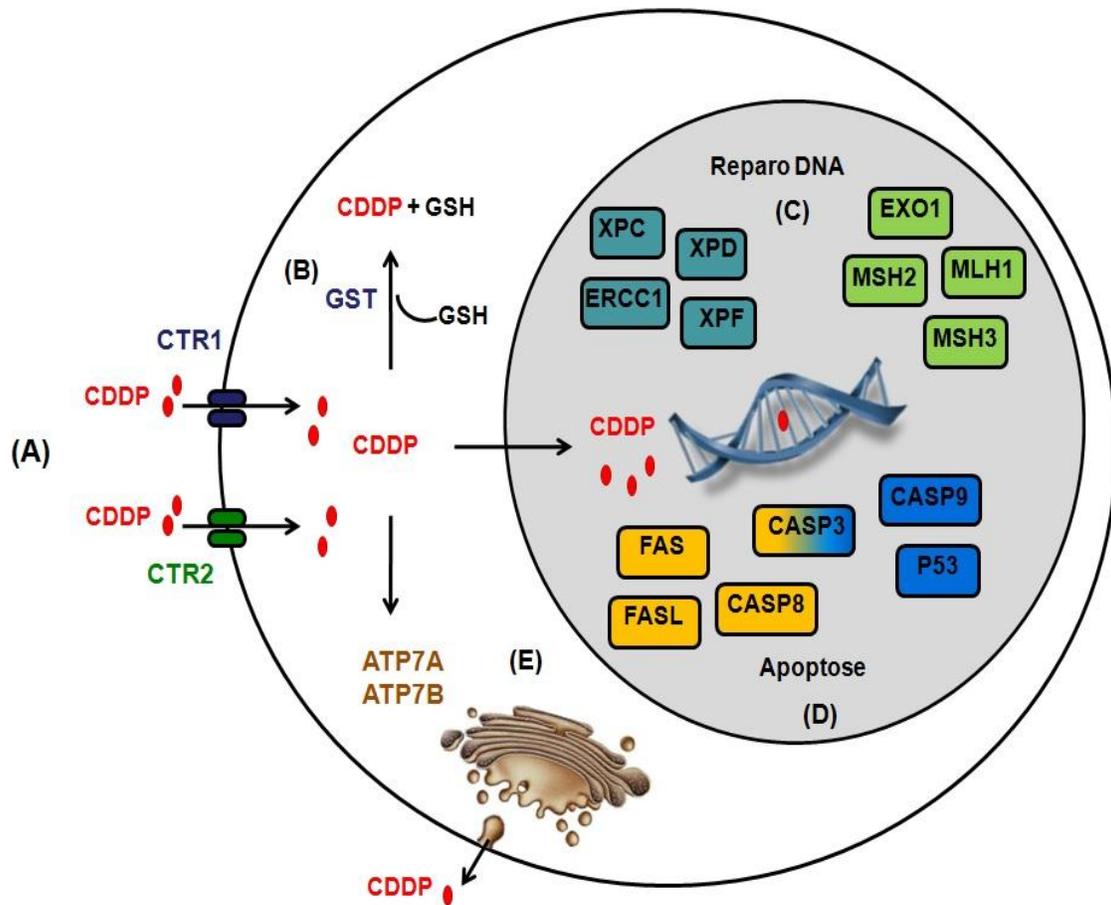
A CDDP é um quimioterápico do grupo dos agentes alquilantes, que é eficaz no tratamento de pacientes com CCECP (REED, 2006; KELLAND, 2007; YANG *et al.*, 2009; MOORE *et al.*, 2010; MENDENHALL *et al.*, 2011; REED, 2011).

A CDDP se une à proteínas plasmáticas (90% da CDDP está ligada à proteínas quatro horas após infusão intravenosa) e, a seguir, difunde para os tecidos (DE CONTI *et al.*, 1973; HIMMELSTEIN *et al.*, 1981). O clareamento do quimioterápico é rápido e bifásico; meias vidas de 10 a 30 minutos e 0,7 a 0,8 horas foram descritas para as fases inicial e terminal, respectivamente. Ainda, sabe-se que 23% a 40% da CDDP é

identificada na urina 24 horas após a infusão do quimioterápico e somente uma pequena porcentagem é excretada pela bile (JOHNSON & O'DWYER, 2005).

A CDDP induz a formação de radicais livres, que lesam o DNA de células tumorais, com conseqüente destruição das mesmas por apoptose (QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006). Entretanto, a atividade antitumoral da CDDP é atribuída principalmente à ligação ao DNA, com a formação de adutos (DNA-platina) inter e intracadeias, que induzem a parada do ciclo celular (GUMINSKI *et al.*, 2002; JOHNSON & O'DWYER, 2005; WANG & LIPPARD, 2005), com conseqüente inibição da transcrição e replicação, induzindo apoptose das células tumorais (JOHNSON & O'DWYER, 2005; KELLAND, 2007; REED, 2011).

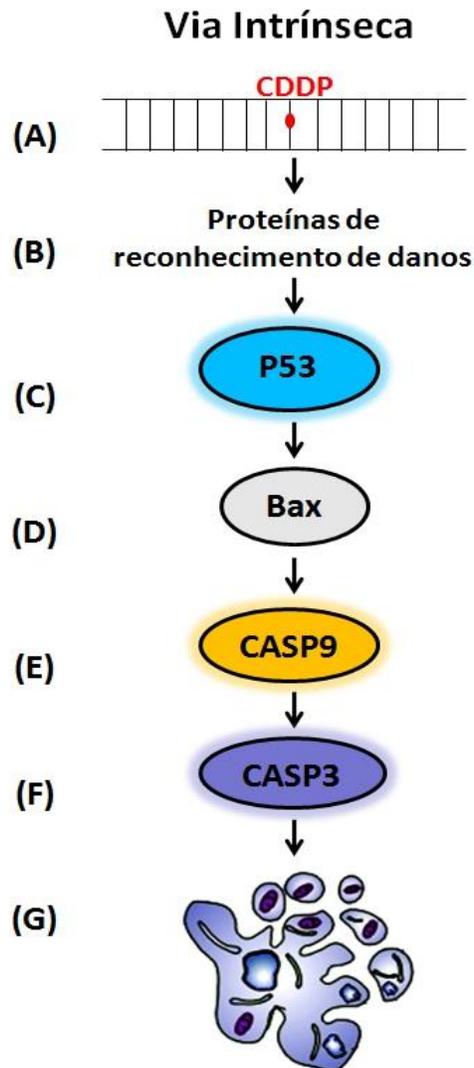
Inúmeras proteínas atuam nos mecanismos de influxo e efluxo da CDPP em células, bem como no reparo de lesões ou indução de apoptose de células por ela lesadas (**Figura 1**).



**Figura 1. Metabolismo da cisplatina (CDDP).**(A) Influxo da CDDP, através dos receptores de influxo de cobre CTR1 e CTR2. (B) As glutathiona S-transferases (GSTs) mu1 (GSTM1), theta1 (GSTT1) e Pi1 (GSTP1) conjugam a CDDP com glutationa (GSH), constituindo um passo importante na detoxificação e eliminação do quimioterápico. A atividade antitumoral da CDDP é atribuída à ligação ao DNA, com a formação de adutos (DNA-platina) inter e intracadeias. (C) As principais proteínas envolvidas sistema de reparo de DNA por excisão de nucleotídeos (NER) são: XPC, XPD, XPF e ERCC1, e por emparelhamento errôneo (MMR) são: MLH1, MSH2, MSH3 e EXO1. (D) Se o reparo não for eficaz, as proteínas P53, CASP3, CASP8, CASP9 e FAS/FASL são fundamentais na apoptose das células lesadas. (E) Efluxo da CDDP, por meio dos transportadores de cobre ATP7A e ATP7B (Adaptado de KUO *et al.*, 2007)

Uma das principais vias envolvidas com a apoptose de células lesadas pela CDDP ocorre por ação das proteínas P53, CASP3 e CASP9 (SIDDIK, 2003) e é conhecida como via intrínseca.

Quando o dano ao DNA excede um limite crítico e, presumivelmente, impossibilita o reparo, ocorre a ativação de várias vias proteicas, favorecendo a apoptose. Uma das proteínas ativadas é a P53, que induz a ativação da proteína BAX, sofrendo translocação do citosol à mitocôndria. Na mitocôndria ocorre uma cascata de eventos envolvendo a liberação de fatores indutores de apoptose, como o citocromo c, que ativam as CASP 9 e 3, resultando em morte celular (WANG *et al.*, 2000; MAKIN *et al.*, 2001) (**Figura 2**).



**Figura 2. Proteínas de reconhecimento de danos envolvidas com apoptose de células com lesão induzida pela cisplatina (CDDP) pela via intrínseca.** (A) A atividade antitumoral da CDDP é atribuída à ligação ao DNA, com a formação de adutos (DNA-platina) inter e intracadeias. (B) Quando o dano ao DNA é irreparável, ocorre ativação de várias proteínas de reconhecimento de danos. (C) Uma das proteínas ativadas é a P53, que induz a (D) ativação da proteína Bax do citosol à mitocôndria, onde ocorre uma cascata de eventos envolvendo a liberação de fatores apoptogênicos (como o citocromo c), os quais (E) ativam as CASP 9 e a (F) CASP 3, resultando em (G) apoptose (Adaptado de SIDDIK, 2003)

Os efeitos colaterais da CDDP são variáveis em indivíduos diversos e doses únicas de 50 mg/m<sup>2</sup> podem gerar efeitos colaterais significantes, como náusea, vômitos, mielossupressão, mucosite (quando a CDDP é associada à RT), ototoxicidade, nefrotoxicidade e neuropatia periférica, com conseqüente morbidade e comprometimento da qualidade de vida em alguns indivíduos, mas doses maiores são necessárias para determinar os mesmos efeitos em outros indivíduos tratados por CDDP (JOHNSON & O'DWYER, 2005; REED, 2011).

A sensibilidade e a resistência tumoral à CDDP são fenômenos complexos que envolvem variações no influxo do quimioterápico em células (SIDDIK, 2003; JOHNSON & O'DWYER, 2005; WANG & LIPPARD, 2005; RABIK & DOLAN, 2007; FARNEBO *et al.*, 2009; REED, 2011), no reparo de lesões do DNA por ele causado (AEBI *et al.*, 1996; MELLO *et al.*, 1996; MANIC *et al.*, 2003; SIDDIK, 2003; JOHNSON & O'DWYER, 2005; WANG & LIPPARD, 2005; QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006; RABIK & DOLAN, 2007; MARTIN *et al.*, 2008; BRADBURY *et al.*, 2009; FARNEBO *et al.*, 2009; ARORA *et al.*, 2010; FAREED *et al.*, 2010; HSU *et al.*, 2010; SHIM *et al.*, 2010; DE CASTRO *et al.*, 2011; JIAO & WEN, 2011; REED, 2011), na apoptose de células lesadas (SIDDIK, 2003; JOHNSON & O'DWYER, 2005; VIKHANSKAYA *et al.*, 2005; WANG & LIPPARD, 2005; HENRIKSSON *et al.*, 2006; RABIK & DOLAN, 2007; KIM *et al.*, 2009; FARNEBO *et al.*, 2009; HAN *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2009; MICHAUD *et al.*, 2009; JANSON *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2010; JIAO & WEN, 2011; REED, 2011) ou no efluxo do quimioterápico de células (SIDDIK, 2003; JOHNSON & O'DWYER, 2005; WANG & LIPPARD, 2005; RABIK & DOLAN, 2007; FARNEBO *et al.*, 2009; REED, 2011).

É possível que as variações nos efeitos colaterais e nas taxas de reposta tumoral apresentadas por pacientes com CCECP durante tratamento com CDDP e RT sejam determinadas por variações em atividades das proteínas envolvidas em seu metabolismo. Inúmeras proteínas que atuam no influxo e efluxo (FUKUSHIMA-UESAKA *et al.*, 2009; XU *et al.*, 2012a; XU *et al.*, 2012b) e na detoxificação da CDDP (OLDENBURG *et al.* 2007; RUWALI *et al.*, 2009; KHRUNIN *et al.*, 2010), no reparo de lesões de DNA induzida por CDDP (CAMPS *et al.*, 2003; QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006; MATAKIDOU *et al.*, 2007; CARONIA *et al.*, 2009; KHRUNIN *et al.*, 2010) e na indução de células por ela lesadas à apoptose (HAN *et al.* 2008; KIM *et al.*, 2009; SHIRAISHI *et al.* 2010) são codificadas por genes polimórficos.

## 5. Polimorfismos em genes que atuam no metabolismo da cisplatina

### 5.1. *P53*, *CASP9*, *CASP3* e apoptose de células lesadas

O polimorfismo *P53* Arg72Pro (rs1042522) é caracterizado pelas bases nitrogenadas guanina (G) no alelo selvagem ou citosina (C) no alelo variante, no códon 72 do éxon 4 do gene, e conseqüentemente com os aminoácidos arginina (Arg) e prolina (Pro) na proteína codificada (MATLASHEWSKI *et al.*, 1987). A proteína codificada pelo aminoácido Arg é mais eficiente, por variação funcional, para induzir apoptose do que a do aminoácido Pro (DUMONT *et al.*, 2003). Os genótipos ArgArg, ArgPro e ProPro foram identificadas em 50-54%, 37-45% e 4-8% dos indivíduos saudáveis de diferentes populações étnicas, respectivamente (SHEN *et al.*, 2003; STEFANAKI *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2007; POVEY *et al.*, 2007).

O gene *CASP9* contém o polimorfismo A-1263G (rs4645978) em sua região promotora (PARK *et al.*, 2006). Apresenta a base nitrogenada adenina (A) no alelo selvagem ou guanina (G) no alelo variante. Portadores do alelo variante apresentam níveis de RNA mensageiro mais elevado do que os portadores do alelo selvagem, sugerindo uma maior atividade transcricional e ação na apoptose (PARK *et al.*, 2006; THEODOROPOULOS *et al.*, 2011). Os genótipos AA, AG e GG foram identificados em 22-35%, 39-50% e 18-27% dos indivíduos saudáveis de populações diversas, respectivamente (PARK *et al.*, 2006; GANGSWAR *et al.*, 2009; THEODOROPOULOS *et al.*, 2010; LIAMARKOPOULOS *et al.*, 2011; THEODOROPOULOS *et al.*, 2011; THEODOROPOULOS *et al.*, 2012). Outro polimorfismo C-712T (rs4645981), na região promotora do gene, apresenta a base nitrogenada citosina (C) no alelo selvagem ou timina (T) no alelo variante (PARK *et al.*, 2006). O alelo variante induz o aumento da atividade transcricional, com possível mais ação na apoptose (PARK *et al.*, 2006). Os genótipos CC, CT e TT foram identificados em 53-75%, 23-40% e 2-6% dos indivíduos saudáveis de populações diversas, respectivamente (PARK *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2010; GUO *et al.*, 2011; THEODOROPOULOS *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2013).

O gene *CASP3* contém o polimorfismo A-928G (rs12108497) em sua região promotora (JANG *et al.*, 2008). Caracteriza-se pela substituição da base nitrogenada adenina (A) no alelo selvagem pela guanina (G) no alelo variante. O alelo variante elimina o sítio de ligação da GATA1 da *CASP3*, que pode alterar a transcrição da proteína e a atividade em apoptose (JANG *et al.*, 2008). Os genótipos AA, AG e GG foram

identificados em 38,0%, 50,0% e 12,0% dos indivíduos saudáveis de uma única população (JANG *et al.*, 2008).

## 6. Polimorfismos gênicos, metabolismo e efeitos da cisplatina

Há poucos e controversos relatos sobre os papéis de polimorfismos em genes relacionados a apoptose com toxicidade, resposta terapêutica ou sobrevida em pacientes com tumores tratados com esquemas de quimioterapia baseados em CDDP.

O genótipo ProPro do polimorfismo *P53* Arg72Pro foi associado à resistência primária à quimioterapia e menor sobrevida livre de progressão em portadores de tumor de pulmão de células não pequenas tratados com esquemas à base de CDDP, no estudo conduzido por HAN *et al.* (2008). Em contraste, SHIRAISHI *et al.* (2010) observaram que pacientes com o mesmo tumor e portadores do alelo Pro apresentaram melhor taxa de resposta e melhor sobrevida livre de progressão da doença do que os pacientes com o genótipo selvagem, quando tratados à base de platina. Pacientes com câncer gástrico avançado e portadores do genótipo *P53* 72ArgPro ou *P53* 72ProPro apresentaram menor taxa de resposta e menor sobrevida livre de progressão do que portadores do genótipo *P53* 72ArgArg, quando tratados à base de CDDP (KIM *et al.*, 2009). O genótipo variante do polimorfismo *P53* Arg72Pro foi associado à menor sobrevida livre de progressão em pacientes com câncer de ovário (SANTOS *et al.*, 2006) e à menor sobrevida livre de progressão e sobrevida global em pacientes com câncer de esôfago (CESCON *et al.*, 2009), que receberam terapêutica à base de CDDP. Ainda, o polimorfismo *P53* Arg72Pro não alterou a taxa de resposta e a sobrevida global e livre de progressão de pacientes com câncer de ovário tratados com CDDP (KHRUNIN, 2010; KHRUNIN, 2012).

Considerando que não foram estabelecidos as influências dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T e *CASP3* A-928G, relacionados à indução da apoptose pela via intrínseca, na toxicidade, cinética da CDDP e resposta terapêutica em pacientes com CCECP tratados com CDDP associada à RT, foram definidos os objetivos deste estudo.



## Objetivos

---

Avaliar, de forma prospectiva, pacientes com CCECP atendidos nos ambulatórios de Oncologia Clínica do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), submetidos a tratamento neoadjuvante, definitivo ou paliativo com CDDP e RT, tendo como objetivos:

- Verificar se os polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T e *CASP3* A-928G alteram a toxicidade do esquema terapêutico de CDDP associada à RT,
- Verificar se os polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T e *CASP3* A-928G alteram a concentração de CDDP urinária e,
- Verificar se os polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T e *CASP3* A-928G alteram a taxa de resposta à terapêutica com CDDP associada à RT.



## Casuística e Métodos

---

Foram acompanhados em nosso estudo, prospectivamente, pacientes consecutivos com CCECP em primeiro atendimento nos ambulatórios de Oncologia Clínica do Hospital de Clínicas da UNICAMP, no período de junho de 2011 até fevereiro de 2014.

Foram inseridos no estudo: 1) pacientes portadores de CCE de faringe, laringe ou cavidade oral; 2) pacientes que receberam terapêutica com CDDP (50-100 mg/m<sup>2</sup>/dose; D1, D22 e D43) associada à RT (70 Gy; 35 sessões) como tratamento neoadjuvante, definitivo ou paliativo da doença (portadores de tumor não submetidos a ressecção cirúrgica); 3) pacientes com função renal (Cl<sub>Cr</sub> > 50 mL/min/1,73m<sup>2</sup>) e condição clínica (*Karnofsky performance status* [KPS] > que 60%) satisfatórias; 4) pacientes que assinaram o termo de consentimento informado.

Foram excluídos do estudo: 1) pacientes com tumor de outro tipo histológico; 2) pacientes portadores de CCE de nasofaringe, pois seu comportamento biológico difere dos demais CCECP; 3) pacientes que foram tratados com outro esquema terapêutico; 4) pacientes que receberam tratamento adjuvante da doença (portadores de tumor submetidos a ressecção cirúrgica); 5) pacientes com função renal (Cl<sub>Cr</sub> < 50 mL/min/1,73m<sup>2</sup>) e/ou condição clínica (KPS < que 60%) insatisfatórias; 6) pacientes com deficiência auditiva manifesta; 7) pacientes que negaram a participação do estudo.

O tamanho amostral do estudo teve como base as frequências dos genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T e *CASP3* A-928G em portadores de câncer de nossa população (ORTEGA *et al.*, 2007) e de outras populações (SUMMERSGILL *et al.*, 2000; NAGPAL *et al.*, 2002; KATIYAR *et al.*, 2003; HSIEH *et al.*, 2005; PARK *et al.*, 2006; CHEN *et al.*, 2007; KUDORA *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2008; JANG *et al.*, 2008; LIN *et al.*, 2008; TU *et al.*, 2008; GANGWAR *et al.*, 2009; YOO *et al.*, 2009; LEE *et al.*, 2010; THEODOROPOULOS *et al.*, 2010; IHSAN *et al.*, 2011; LIAMARKOPOULOS *et al.*, 2011; THEODOROPOULOS *et al.*, 2011; YU *et al.*, 2011; THEODOROPOULOS *et al.*, 2012), e foi calculado conforme descrição prévia (BEIGUELMAN, 1995) (**Tabela 1**).

Identificamos como o tamanho amostral mínimo desejado para o estudo o montante de 100 pacientes.

**Tabela 1.** Frequências dos genótipos distintos de polimorfismos gênicos relacionados com a via intrínseca de apoptose em câncer

Polimorfismo	Pacientes n total	Genótipos			Tamanho amostral	Tipo de câncer	Referência
		Selvagem	Heterozigoto	Variante			
		n (%)	n (%)	n (%)			
		<b>Arg/Arg</b>	<b>Arg/Pro</b>	<b>Pro/Pro</b>			
P53 Arg72Pro rs1042522	814	417 (51,2)	324(39,8)	73(9,0)	105	Cabeça e pescoço	CHEN <i>et al.</i> , 2007
	1083	593 (54,8)	405(37,4)	85(7,8)	118	Cabeça e pescoço	YU <i>et al.</i> , 2011
	116	30 (25,9)	63 (54,3)	23 (19,8)	48	Cabeça e pescoço	IHSAN <i>et al.</i> , 2011
	190	102 (53,6)	70 (36,8)	18 (9,6)	110	Cabeça e pescoço	SUMMERSGILL <i>et al.</i> , 2000
	110	31 (28,1)	58 (52,7)	21 (19,2)	51	Cabeça e pescoço	NAGPAL <i>et al.</i> , 2002
	44	10 (22,7)	24 (54,6)	10 (22,7)	42	Cabeça e pescoço	KATIYAR <i>et al.</i> , 2003
	629	187 (29,7)	328 (52,1)	114 (18,2)	54	Cabeça e pescoço	HSIEH <i>et al.</i> , 2005
	100	41 (41,0)	44 (44,0)	15 (15,0)	72	Cabeça e pescoço	KUDORA <i>et al.</i> , 2007
	106	40 (37,7)	51 (48,1)	15 (14,2)	69	Mieloma múltiplo	ORTEGA <i>et al.</i> , 2007
	189	53 (28,0)	106 (56,1)	30 (15,9)	54	Cabeça e pescoço	TU <i>et al.</i> , 2008
	326	183 (56,1)	121 (37,1)	22 (6,8)	126	Cabeça e pescoço	CHEN <i>et al.</i> , 2008
297	96 (32,3)	155 (52,1)	46 (15,6)	60	Cabeça e pescoço	LIN <i>et al.</i> , 2008	
		<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>			
CASP9 A-1263G rs4645978	432	148 (34,3)	225 (52,0)	59 (13,7)	65	Pulmão	PARK <i>et al.</i> , 2006
	212	81 (38,2)	103 (48,6)	28 (13,2)	71	Bexiga	GANGWAR <i>et al.</i> , 2009
	80	3 (3,7)	31 (57,5)	46 (38,8)	13	Pâncreas	THEODOROPOULOS <i>et al.</i> , 2010
	88	44 (50,0)	34 (38,6)	10 (11,4)	96	Gástrico	LIAMARKOPOULOS <i>et al.</i> , 2011
	402	155 (38,5)	181 (45,0)	66 (16,5)	67	Colorretal	THEODOROPOULOS <i>et al.</i> , 2011
261	41 (15,7)	111 (42,5)	109 (41,8)	25	Mama	THEODOROPOULOS <i>et al.</i> , 2012	

---

		<b>CC</b>	<b>CT</b>	<b>TT</b>			
<i>CASP9</i> C-712T	432	261 (60,4)	149 (34,5)	22 (5,1)	148	Pulmão	PARK <i>et al.</i> , 2006
rs4645981	405	245 (60,5)	142 (35,1)	18 (4,4)	151	Pulmão	YOO <i>et al.</i> , 2009
	720	438 (60,8)	251 (34,9)	31 (4,3)	154	Pulmão	LEE <i>et al.</i> , 2010
	261	137 (52,4)	112 (42,9)	12 (4,7)	121	Mama	THEODOROPOULOS <i>et al.</i> , 2012
<i>CASP3</i> A-928G		<b>AA</b>	<b>AG</b>	<b>GG</b>			
rs12108497	582	255 (43,8)	269 (46,2)	58 (10,0)	86	Pulmão	JANG <i>et al.</i> , 2008

---

## 1. Aspectos clínicos e do tumor

Os dados relativos à identificação, idade, sexo, etnia, índice de massa corpórea, hipertensão arterial, diabetes mellitus, etilismo e tabagismo, foram obtidos dos prontuários dos pacientes.

Foram considerados abstêmios aqueles que nunca ingeriram álcool ou menos que 20 drinques em toda a vida e usuários de bebidas alcoólicas aqueles que ingeriram algum tipo de bebida alcoólica pelo menos uma vez na semana de forma regular. Estes foram classificados em etilista discreto, etilista moderado, etilista acentuado e etilista mais que acentuado de acordo com critérios previamente estabelecidos (**Tabela 2**) (WHITCOMB *et al.*, 2008; YADAV *et al.*, 2010). É importante comentar que um drinque foi definido como uma lata de cerveja (355 mL), uma taça de vinho (148 mL) ou ainda bebida destilada (44 mL), de acordo com padrão estabelecido pelo *U.S. Department of Agriculture* (USDA) e *U.S. Department of Health and Human Services* (USDHHS) (NATIONAL INSTITUTE ON ALCOHOL ABUSE AND ALCOHOLISM-NIAAA, 1995).

**Tabela 2.** Classificação de indivíduos por hábito de ingerir bebidas alcoólicas

Drinques (semanal)	Classificação*
Ausência de álcool ou < 20 em toda a vida	Abstêmio
Ingestão ≤ 3 drinques	Etilista discreto
4 à 7 drinques (mulher)	Etilista moderado
4 à 14 drinques (homem)	
8 à 34 drinques (mulher)	Etilista acentuado
15 à 34 drinques (homem)	
≥ 35 drinques para ambos os sexos	Etilista mais que acentuados

(\*) WHITCOMB *et al.*, 2008; YADAV *et al.*, 2010

A classificação dos pacientes por hábito de fumar foi realizada com o uso do índice de tabagismo (IT) (JINDAL *et al.*, 1982; SINGH *et al.*, 2011; SINGH *et al.*, 2012). O IT é definido de acordo com o número de cigarros fumados por dia multiplicado pelo número de anos de tabagismo. Baseado em valores de IT, os pacientes foram classificados como não tabagista, tabagista discreto, tabagista moderado e tabagista acentuado, de acordo com os critérios apresentados na **Tabela 3**.

**Tabela 3.** Classificação de indivíduos por hábito do tabagismo

<b>Índice de tabagismo</b>	<b>Classificação*</b>
Nunca fumou	Não tabagista
Fumou de 1 à 100 cigarros	Tabagista discreto
Fumou de 101 à 300 cigarros	Tabagista moderado
Fumou mais do que 301 cigarros	Tabagista acentuado

(\*) JINDAL *et al.*, 1982; SINGH *et al.*, 2011; SINGH *et al.*, 2012

O diagnóstico do CCECP foi realizado em cortes histológicos de fragmentos do tumor incluídos em parafina e corados com hematoxilina e eosina, processados e analisados no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UNICAMP, pela equipe da Profa. Dra. Albina Messias de Almeida Milani Altemani. Cada tumor foi classificado de acordo com o grau de diferenciação em bem diferenciado, moderadamente diferenciado, pouco diferenciado ou indiferenciado (MORI *et al.*, 1998).

A associação do HPV ao CCECP foi investigada em fragmentos do tumor incluídos em parafina por meio de imunohistoquímica automatizada, para detecção da expressão da proteína 16 (p16), no Departamento de Anatomia Patológica do Centro Internacional de Pesquisa do A.C. Camargo Cancer Center, pela equipe da Profa. Dra. Cláudia Malheiros Coutinho Camillo. A pesquisa de p16 foi realizada em microscopia de luz convencional e foi considerada expressão positiva sempre que houve coloração citoplasmática e nuclear forte e difusa em 70% ou mais da extensão do tumor (BEGUM *et al.*, 2003). Nos casos de expressão positiva para p16, a presença o DNA do HPV foi investigada por meio de hibridização *in situ* com sonda de largo espectro, no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UNICAMP, pela equipe da Profa. Dra. Albina Messias de Almeida Milani Altemani. A presença de sinais puntiformes nucleares em grupos confluentes de células tumorais (> 20 células) foi considerada indicativa de integração do HPV (SINGHI & WESTRA, 2010).

Os resultados dos exames necessários à localização do tumor foram obtidos das informações médicas e de dados do prontuário de cada paciente. Os pacientes foram classificados como portadores de tumores da cavidade oral (mucosa oral, palato duro, língua e assoalho de boca); faringe (orofaringe e hipofaringe) e laringe (supraglote, glote e subglote).

O estágio do tumor foi identificado por exame clínico, incluindo a nasofibrolaringoscopia direta, tomografia computadorizada (TC) do pescoço, por

tomografia de pescoço computadorizada por emissão de fóton único (SPECT) com sestamibi-<sup>99m</sup>Tc, radiografia do tórax (ou TC do tórax se lesão suspeita) e a ultrassonografia abdominal, de acordo com os critérios convencionais definidos pelo *American Joint Committee on Cancer* (EDGE *et al.*, 2010). Os exames de imagem foram realizados no Serviço de Radiologia e Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas da UNICAMP e os resultados interpretados pela equipe do Prof. Dr. João Maurício Carrasco Altemani e do Prof. Dr. Celso Dario Ramos.

Foram realizadas dosagem de creatinina (Cr) sérica e cálculo de clearance de creatinina estimado (ClCr) para avaliação da função renal pré-tratamento de pacientes com CECCP e sempre que necessário, de acordo com procedimento padrão (MENDENHALL *et al.*, 2011). Os pacientes foram também submetidos à avaliação de função renal por meio da taxa de filtração glomerular (TFG) com ácido etilendiaminotetracético marcado com cromo-<sup>51</sup> (EDTA-<sup>51</sup>Cr), no Serviço de Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas da UNICAMP, pela equipe do Prof. Dr. Celso Dario Ramos.

Audiometria tonal limiar foi realizada para avaliar a acuidade auditiva basal no Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP, pela equipe do Prof. Dr. Carlos Takahiro Chone.

## **2. Terapêutica de pacientes com cisplatina**

Os pacientes receberam terapêutica de suporte padronizada no Serviço de Oncologia. De forma sucinta, os pacientes receberam hidratação (3.000 mL de soro fisiológico 09%, 125 mL de manitol 20%; D1) e antieméticos por via intravenosa antes da infusão da CDDP (32 mg de ondansetrona, 20 mg de dexametasona). Todos os pacientes foram submetidos ao mesmo protocolo de antieméticos por via oral para o domicílio (10 mg 6/6h de metoclopramida e 8 mg 12/12 horas de dexametasona; D2, D3, e D4) e mudanças no protocolo (adição de 8 mg 8/8 horas de ondansetrona) foram necessárias para pacientes com refratariedade à terapia proposta (CUNNINGHAM *et al.*, 1996). Em caso de diarreia, os pacientes receberam loperamida por via oral (ataque de 4 mg e 2 mg 2/2 horas até ceder a diarreia) (LACY *et al.*, 2008). Laxantes do tipo óleo mineral ou lactulose (1-2 colheres de sopa) foram administrados em casos de constipação intestinal (WHITE & BRANDNAM, 2007).

Os pacientes foram tratados com CDDP e RT loco-regional. A CDDP foi administrada por via intravenosa, na dose de 100 mg/m<sup>2</sup>/dose nos dias D1, D22 e D43, à pacientes com condição física ideal (KPS entre 80-100%) e sem comorbidades renal,

nerológica ou cardiológica. Aqueles com KPS entre 60-70% ou 80-100% com comorbidade renal, neurológica ou cardiológica, receberam CDDP intravenosa na dose de 80 mg/m<sup>2</sup>/dose nos dias D1, D22 e D43 (MENDENHALL *et al.*, 2011). Hemograma e dosagens de uréia e Cr foram realizadas antes de cada administração de CDDP. Reduções nas doses (75% ou 50%) ou suspensão da CDDP foram realizadas em pacientes com toxicidades graus 3 e 4. A RT com dose de 7.000 cGy foi fracionada em 35 aplicações diárias (exceto finais de semana e feriados).

### **3. Seguimento de pacientes com CCECP**

Após 30 dias do término do tratamento com CDDP e RT, os pacientes foram submetidos a exame clínico, incluindo a nasofibrolaringoscopia direta, TC do pescoço, do tórax (se metástase pulmonar anterior) e abdominal (se metástase hepática anterior) e SPECT-TC.

Os pacientes com tumor residual foram reavaliados por otorrinolaringologista do grupo de estudo, para verificar a possibilidade de remoção cirúrgica da lesão.

Os pacientes foram também submetidos à dosagem de Cr sérica e cálculo de CIGre, TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr e audiometria tonal limiar para avaliação da toxicidade da CDDP aos rins e auditiva, respectivamente.

Os pacientes foram avaliados do ponto de vista clínico a cada seis meses nos ambulatórios de Oncologia Clínica e de Otorrinolaringologia (retornos alternados) ou sempre que necessário. Foram submetidos a dosagens de T4L e TSH, radiografia do tórax e ultrassonografia abdominal a cada seis meses para investigar hipotireoidismo secundário a RT e metástases do tumor primário.

### **4. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos**

O DNA genômico foi obtido de amostras de sangue periférico dos pacientes com CCECP com a técnica de extração com cloreto de lítio e proteinase K (WOODHEAD *et al.*, 1986) e armazenado a -20°C.

As regiões de interesse dos genes com os polimorfismos *P53* Arg72Pro (CRUZ *et al.*, 2002), *CASP9* A-1263G (PARK *et al.*, 2006), *CASP9* C-712T (PARK *et al.*, 2006) e *CASP3* A-928G (JANG *et al.*, 2008), foram amplificadas por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando misturas de água estéril, tampão com (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10x), MgCl<sub>2</sub> (25 mM), dNTP (40 mM), iniciadores (10 pmoles/μL), enzima *Taq* DNA polimerase (2,5 u) e DNA (a partir de 50 ng).

Os produtos da amplificação foram submetidos a seguir à digestão enzimática, conforme técnicas previamente descritas acima. Os produtos da digestão enzimática foram visualizados em gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Controles positivos e negativos foram utilizados nas reações.

As condições necessárias para realização da PCR, digestão enzimática e obtenção dos genótipos dos polimorfismos acima, estão descritas nas **Tabela 4**.

Controles positivo pertinente (DNA genômico de indivíduos saudáveis, com genótipos já estabelecidos) e negativo (água estéril) foram colocados em todas as reações de genotipagem. As imagens dos fragmentos em gel de agarose 3% corados com brometo de etídio foram analisadas por dois observadores distintos. Amostras com genótipos duvidosos foram submetidas a nova genotipagem. Amostras escolhidas aleatoriamente (10,0%) foram novamente genotipadas como controle de qualidade do método, com 100% de concordância entre determinações (BLADBJERG *et al.*, 2002).

Todas as análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Genética do Câncer da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, coordenado pela Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima.

**Tabela 4.** Condições para genotipagem dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T e *CASP3* A-928G

Polimorfismo	Sequências de iniciadores	Reação	PCR (pb)	Enzima	Produtos	Genótipos
<i>P53</i> Arg72Pro rs1042522	5'CACCCATCTACAGTCCCCCTTGC3' 5'CTCAGGGCAACTGACCGTGCAAG3'	94 °C – 5 min (1x)	318	<i>BstUI</i>	182, 136 pb 318, 182, 136 pb 318 pb	Arg/Arg Arg/Pro Pro/Pro
		94 °C – 1 min (35x)				
		60 °C – 1 min (35x)				
		72 °C – 1 min (35x)				
		72 °C – 5 min (1x)				
<i>CASP9A</i> -1263G rs46455978	5'GGGAATACTTTCCTGGCAGG3' 5'GTCTTCCATTCCCTCTTCCG(C→G)TC3'	95 °C – 5 min (1x)	234	<i>BsmAI</i>	210, 24 pb 234, 210, 24 pb 234 pb	AA AG GG
		95 °C – 30 seg (35x)				
		60 °C – 30 seg (35x)				
		72 °C – 30 seg (35x)				
		72 °C – 10 min (1x)				
<i>CASP9C</i> -712T rs4545981	5'AGTCGCGGAGGTGCCGCCTT3' 5'AGGGCTAGCCTCGTGCCAG(C→G)C3'	95 °C – 5 min (1x)	194	<i>HaeII</i>	176, 18 pb 194, 176, 18 pb 194 pb	CC CT TT
		95 °C – 30 seg (35x)				
		59 °C – 30 seg (35x)				
		72 °C – 30 seg (35x)				
		72 °C – 10 min (1x)				
<i>CASP3A</i> -928G rs12108497	5'GAGATGGGGCAAAGAGATTAACG3' 5'AAAGGAGCCGCGCCACAAGG3'	95 °C – 5 min (1x)	204	<i>StuI</i>	204 pb 204, 130, 74 pb 130, 74 pb	AA AG GG
		95 °C – 30 seg (35x)				
		58 °C – 30 seg (35x)				
		72 °C – 30 seg (35x)				
		72 °C – 10 min (1x)				

## 5. Toxicidade ao esquema terapêutico

### 5.1. Náuseas, vômitos e mielossupressão

Os efeitos adversos à terapêutica foram avaliados no momento da infusão no dia da administração e nos quatro dias subsequentes a cada administração da CDDP. A mielossupressão foi avaliada por hemogramas realizados antes do D1, D22 e D43 e após D43. A adesão aos antieméticos foi avaliada nos quatro dias subsequentes a cada administração do fármaco.

Os efeitos adversos náuseas, vômitos (**Tabela 5**) e mielossupressão (**Tabela 6**) foram classificados segundo os critérios do *National Cancer Institute* (2009). Foram investigados os graus de toxicidade a cada administração de CDDP e o maior grau que o paciente apresentou durante o tratamento completo foi considerado como resultado a ser analisado.

A adesão dos pacientes ao uso de antieméticos foi avaliada com o intuito de verificar se os efeitos colaterais descritos foram influenciados por uso inadequado, posologia incorreta, não utilização, ou utilização de outro medicamento. A avaliação foi feita pelo teste de adesão de Morisky, onde um ponto representa adesão baixa, dois a três pontos adesão média, quatro pontos adesão alta e não adesão, quando o paciente deixou de tomar pelo menos um dos antieméticos do protocolo (MORISKY *et al.*, 1982; MORISKY *et al.*, 1986).

As toxicidades (**Anexos 1 e 2**) e a adesão aos antieméticos (**Anexo 3**) foram avaliadas por aplicação de questionários padronizados, pela aluna de mestrado, a farmacêutica Marília Berlofa Visacri, sob supervisão da Profa. Dra. Patrícia Moriel. Os resultados dos exames laboratoriais foram coletados do prontuário médico ou do sistema *online* do Hospital de Clínicas, o CICSHCP.

**Tabela 5.** Graus de náuseas e vômitos medidos por critérios do *National Cancer Institute*\*

Efeito adverso	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Náusea	Perda do apetite sem alteração dos hábitos alimentares	Decréscimo na ingestão de alimentos, sem perda significativa de peso, desidratação e má nutrição	Inadequada ingestão de fluidos ou alimentos calóricos; alimentação por sonda; hospitalização e nutrição parenteral	NA
Vômito	Um a dois episódios em 24 horas além do verificado no pré tratamento	3 à 5 episódios em 24 horas além do verificado no pré tratamento	≥ 6 episódios em 24 horas além do verificado no pré tratamento; alimentação por sonda; indicadas hospitalização e nutrição parenteral	Risco de morte, indicada intervenção médica urgente

(\*) NATIONAL CANCER INSTITUTE 4.0, 2009; (NA) não se aplica

**Tabela 6.** Graus de mielossupressão medidos por critérios do *National Cancer Institute*\*

Efeito adverso	Valor de referência	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
Hemoglobina	H: 14-18 g/dL M: 12-16 g/dL	< LIN-10 g/dL	8,0 < 10 g/dL	6,5 < 10 g/dL	Risco de morte; Intervenção médica urgente
Leucócitos	10000/mm <sup>3</sup>	< LIN-3000/mm <sup>3</sup>	< 3000-2000/mm <sup>3</sup>	< 2000-1000/mm <sup>3</sup>	< 1000 mm <sup>3</sup>
Neutrófilos	2000-8000/mm <sup>3</sup>	< LIN-1500/mm <sup>3</sup>	< 1500-1000/mm <sup>3</sup>	< 1000-500/mm <sup>3</sup>	< 500 mm <sup>3</sup>
Linfócitos	1000-4000/mm <sup>3</sup>	< LIN-800/mm <sup>3</sup>	< 800-500/mm <sup>3</sup>	< 500-200/mm <sup>3</sup>	< 200 mm <sup>3</sup>
Plaquetas	150000-400000/mm <sup>3</sup>	< LIN-75000/mm <sup>3</sup>	< 75000-50000/mm <sup>3</sup>	< 50000-25000/mm <sup>3</sup>	< 25000 mm <sup>3</sup>

(\*) NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2009; (H) homem; (M) mulher; (LIN) limite inferior

## 5.2. Ototoxicidade

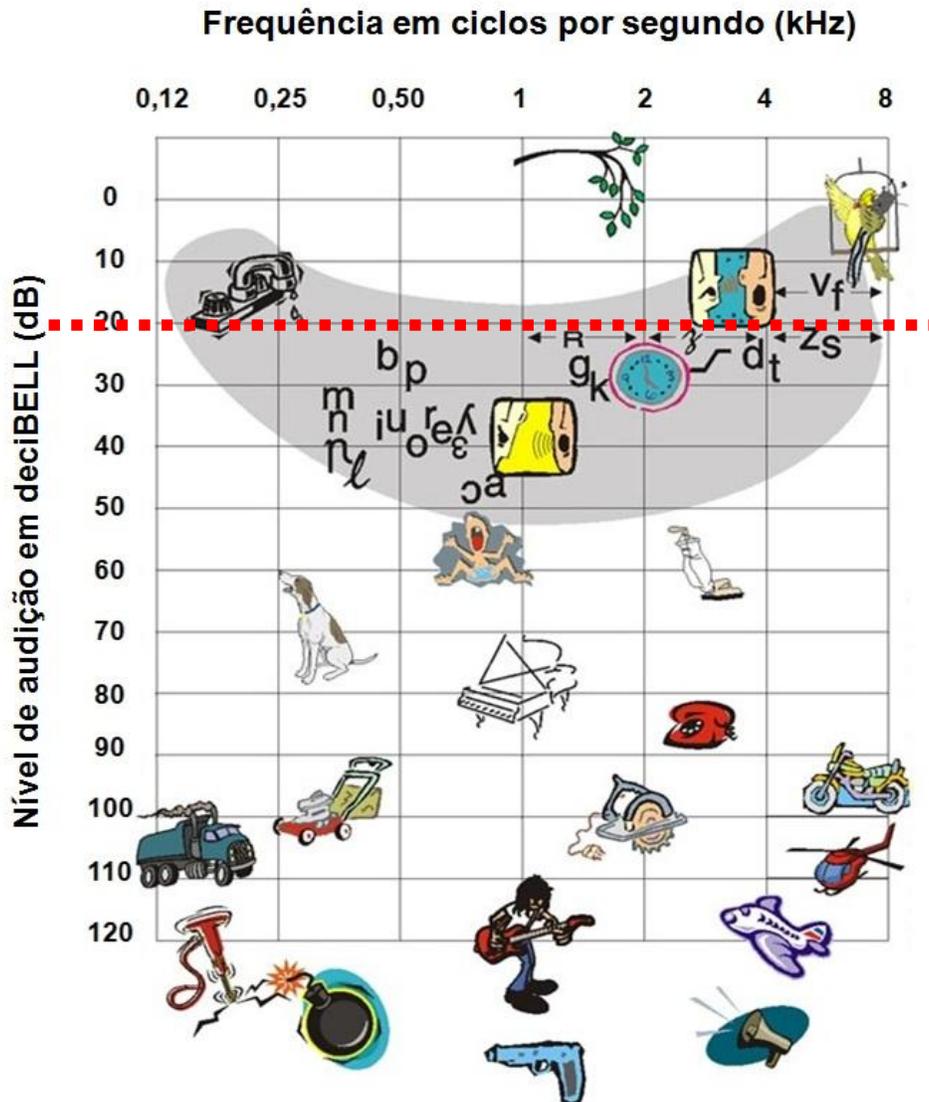
A acuidade auditiva de cada paciente foi medida antes do início do tratamento e 30 dias após o término da terapêutica, com o intuito de avaliar a ototoxicidade atribuída à CDDP associada à RT.

A acuidade auditiva foi avaliada por meio da determinação dos limiares auditivos, em diferentes frequências sonoras, das orelhas direita e esquerda.

Entende-se por limiar auditivo a menor intensidade sonora necessária para provocar a sensação auditiva em cada orelha em determinada frequência sonora. Assim, quanto maior a intensidade sonora necessária para provocar a sensação auditiva, maior é o comprometimento da acuidade auditiva do paciente na referida frequência e na orelha em teste. Os limiares auditivos foram medidos em deciBELL (dB). Limiares auditivos menores do que 25 dB foram indicativos de acuidade auditiva dentro dos limites aceitáveis de normalidade, mas a perda de alguns tipos particulares de sons não pode ser excluída; já os limiares auditivos maiores do que 25 dB foram indicativos de redução da acuidade auditiva (DAVIS & SILVERMAN, 1970) (**Figura 3**).

Os limiares auditivos em nosso estudo foram medidos através da audiometria tonal limiar por via aérea. A audiometria tonal limiar por via aérea foi realizada em cabine acústica, previamente calibrada para que atendesse as especificações de níveis de ruído permitidos em seu interior e com o audiômetro *Interacoustics* modelo AC 30. Neste teste, foram medidos os limiares auditivos tonais nas frequências sonoras 0,25, 0,50, 1, 2, 3, 4, 6 e 8 kHz, com fone fones de ouvido modelo TDH 39 na via aérea, utilizando a técnica descendente-ascendente para apresentação de dos tons puros. Foi considerado em cada teste, o menor estímulo sonoro percebido pelo paciente em pelo menos 50% das apresentações, de acordo com critérios previamente descritos (FROTA, 2003).

A ototoxicidade foi classificada a partir dos valores obtidos antes e após tratamento, em orelhas direita e esquerda, segundo os critérios estabelecidos pelo *National Cancer Institute* (2009) (**Tabela 7**).



**Figura 3. Audiograma de sons familiares.** No Audiograma ilustrado, pode-se observar que do lado esquerdo estão as frequências baixas/graves (0,25 e 0,50 kHz), no meio estão as frequências médias (1, 2 e 3 kHz) e do lado direito as frequências altas/agudas (4, 6 e 8 kHz). Para cada frequência, existe um nível mínimo de audição, que é medido em deciBELL (dB). Para uma audição ser considerada dentro do padrão aceitável da normalidade, é preciso que esteja ouvindo todos em todas as frequências (graves, médios e agudos) o nível mínimo percebido de 25 dB. A área sombreada representa a região que contém a maioria dos espectros dos sons de fala. Quando traçamos a curva audiométrica mediante o resultado da audiometria, todos os sons que estão abaixo da curva, podem ser percebidos pelo indivíduo, porém todos os sons que estiverem acima da curva, não serão percebidos. Essa região acima da curva corresponde à perda auditiva da pessoa e, conseqüentemente, todos os sons que estão aí ilustrados neste audiograma não serão percebidos, podendo assim inferir o impacto da perda auditiva na vida da pessoa (Adaptado de NORTHERN & DOWNS, 1984; DAVIS & SILVERMAN, 1970; RUSSO & BEHLAU, 1993)

**Tabela 7.** Graus de ototoxicidade segundo critérios do *National Cancer Institute*\*

<b>Grau 1</b>	<b>Grau 2</b>	<b>Grau 3</b>	<b>Grau 4</b>
Mudança no limiar de 15 à 25 dB medido a partir de duas frequências contínuas em pelo menos uma orelha	Mudança no limiar de > 25 dB medido a partir de duas frequências contínuas em pelo menos uma orelha	Mudança no limiar de > 25 dB medido a partir de três frequências contínuas em pelo menos uma orelha	Diminuição da audição de perda bilateral profunda (limiar absoluto > 80 dB em 2 kHz e acima)

(\*) NATIONAL CANCER INSTITUTE, 2009; medidos nas frequências de 1, 2, 3, 4, 6 e 8 kHz

### **5.3. Nefrotoxicidade**

#### **5.3.1. Creatinina sérica e clearance de creatinina estimado**

A dosagem sérica de Cr e o cálculo estimado do ClCr foram avaliados antes de cada administração de CDDP, durante a avaliação de resposta (30 dias após o término da terapêutica).

A dosagem de Cr plasmática foi realizada utilizando o sistema automatizado Hitachi-Roche, por meio do método de Jaffé (JUNGE *et al.*, 2004). O ClCr foi estimado de acordo com a equação  $ClCr = [140 - idade (anos)] \times peso (kg) / Cr \text{ plasmática (mg/dL)} \times 72 (\times 0,85 \text{ se mulher})$  (COCKCROFT & GAULT, 1976).

#### **5.3.2. Taxa de filtração glomerular com EDTA-<sup>51</sup>Cr**

A TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr para avaliar nefrotoxicidade foi realizada antes do início do tratamento e no momento de avaliação da resposta (30 dias após o término da terapêutica).

Os pacientes receberam hidratação oral com 300 a 500 mL de água uma hora antes do início do procedimento.

O cálculo da TFG foi realizado através de injeção única de 10 MBq de EDTA-<sup>51</sup>Cr e posteriores coletas de sangue no membro contralateral aos 120, 180 e 240 minutos após a administração do radiofármaco. As amostras de sangue foram centrifugadas e foram pipetados 2 mL de soro em duplicata para a posterior contagem da radioatividade em contador de cintilação (Auto-Gamma Countin Cobra II, Packard

Instrument Company, Meriden). Os resultados foram utilizados em equação matemática para o cálculo final da TFG (BROCHNER-MORTENSEN, 1969).

## **6. Quantificação da cisplatina urinária**

Foram coletadas amostras de urina dos pacientes, em garrafas de polipropileno de 2,5 L, por micção voluntária no período de 0 à 48 horas após cada administração da CDDP. As amostras foram homogeneizadas e 50 mL de cada uma delas foi congelada à -80 °C até os procedimentos de análise (HOLDING *et al.*, 1991; VOUILAMOZ-LORENZ *et al.*, 2001). A concentração final de CDDP urinária foi considerada a partir da soma de todas as quantificações após cada administração do quimioterápico.

As concentrações de CDDP em amostras de urina foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), de acordo com os seguintes procedimentos (LOPES-FLORES *et al.*, 2005):

### **6.1. Procedimentos pré-analíticos**

#### **6.1.1. Construção da curva padrão**

Foi coletada urina de um voluntário sadio (Cr e ClCr em valores da normalidade) e que não fez uso de CDDP, para a construção da curva padrão.

A urina foi separada em oito amostras de 9,0 mL cada em tubos falcon. Foram adicionados a estas amostras volumes de solução estoque de CDDP 1.000 µg/mL (Accord Farmacêutica Ltda, São Paulo, SP, Brasil), para obter concentrações finais de 0,10; 0,25; 0,50; 1,00; 2,50; 5,00; 7,50 e 10,00 µg/mL.

As urinas foram preparadas e determinadas no mesmo dia para que não houvesse degradação da CDDP derivatizada. E, após troca de lotes de reagentes, assim como após troca de coluna do HPLC, novos padrões de concentração final de 10 µg/mL foram preparados e injetados para verificar reprodutibilidade e precisão da técnica analítica.

#### **6.1.2. Preparo da urina dos pacientes e da curva padrão**

Seguiu-se o mesmo procedimento para as amostras de urina dos pacientes e para as amostras de urina do controle com padrões de CDDP. Adicionou-se 90 µL de NiCl<sub>2</sub> (solução de 300 µg/mL), como padrão interno (PI) e 1000 µL de dietilditiocarbamato (DDTC) a 10% (em NaOH 0,1 M), como derivatizante a cada amostra de urina. Cada uma delas foi homogeneizada e incubada a 25 °C por uma hora. Após incubação, foi adicionado 1000 µL de clorofórmio a cada amostra, com o intuito de extrair o PI e a CDDP

derivatizados. As amostras foram então centrifugadas por 10 minutos a 3500 rpm. Após a centrifugação, as amostras foram homogeneizadas para que a emulsão formada com o clorofórmio fosse quebrada e as mesmas foram novamente centrifugadas por 10 minutos a 3500 rpm. Após a centrifugação, as amostras foram homogeneizadas para que a emulsão formada com o clorofórmio fosse quebrada e as mesmas foram novamente centrifugadas a 3500 rpm por 10 minutos. Ao término da centrifugação, os sobrenadantes foram desprezados e as fases clorofórmicas foram transferidas para tubos de HPLC para posterior determinação analítica.

## **6.2. Procedimentos analíticos**

### **6.2.1. Condições da cromatografia líquida de alta eficiência**

Para as análises de CDDP na urina, foram realizadas corridas cromatográficas isocráticas em fase reversa, utilizando-se HPLC da marca Waters, com injeção automática, conectado a um detector ultravioleta-visível, com comprimento de onda de 254 nm e integrador automático.

A separação cromatográfica da CDDP conjugada foi realizada em uma coluna C-18 (150 mm x 4,0 mm) de 4  $\mu$ M de partícula, com fase móvel constituída de uma mistura de água/metanol/acetonitrila (31/40/29, v/v/v) e fluxo contínuo de 1,6 mL/min. O volume de injeção foi de 10  $\mu$ L e o tempo total de corrida foi de 10 min. Após a corrida cromatográfica, as amostras foram analisadas e quantificadas utilizando-se softwares do equipamento.

### **6.2.2. Construção da curva padrão com urina de controle**

Dez microlitros das amostras de urina com concentrações padrão de CDDP, previamente derivatizadas e extraídas em clorofórmio, foram injetados no HPLC e após a corrida cromatográfica, os picos de CDDP e PI foram identificados, integrados e utilizados para a construção da curva padrão. Os pontos da curva padrão foram realizados em triplicata.

### **6.2.3. Quantificação da cisplatina nas urinas dos pacientes**

Dez microlitros de cada amostra de urina de pacientes, previamente derivatizadas e extraídas em clorofórmio, foram injetados no HPLC. Após corrida cromatográfica, os picos de CDDP e PI foram identificados e quantificados utilizando-se a curva padrão já construída. As amostras foram realizadas em duplicata.

#### **6.2.4. Correções aplicadas nas amostras de urina**

Alguns cuidados foram aplicados para garantir a exatidão dos dados obtidos no procedimento. As perdas decorrentes do processo de derivatização e extração da CDDP na urina dos pacientes foram corrigidas com a aplicação de concentrações conhecidas de PI, sendo que após a corrida cromatográfica, as áreas obtidas de CDDP foram divididas pelas áreas do PI.

Possíveis diluições ou concentrações da urina, decorrentes da ingestão de muita ou pouca água pelo paciente e, conseqüente influência na concentração de CDDP, foram corrigidas pela determinação de Cr urinária, ou seja, as áreas de CDDP obtidas no cromatograma foram primeiramente corrigidas pelas áreas do PI e o resultado foi dividido pelas concentrações urinárias de Cr dos respectivos pacientes.

As análises foram realizadas no laboratório de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas da UNICAMP, por Éder de Carvalho Pincinato (aluno de doutorado), sob a supervisão da Profa. Dra. Patrícia Moriel.

### **7. Avaliação de taxa de resposta à terapêutica com cisplatina e radioterapia**

#### **7.1. Tomografia computadorizada do pescoço**

As taxas de resposta à terapêutica com CDDP associada à RT foram avaliadas por meio de exame clínico, incluindo nasofibrolaringoscopia direta quando pertinente, e por critérios do *Response Evaluation Criteria in Solid Tumors* 1.1 (RECIST 1.1) (VAN PERSIJN VAN MEERTEN *et al.*, 2010), tendo como base os achados da tomografia computadorizada do pescoço.

Foram mensuradas até no máximo cinco lesões alvo no seu maior diâmetro e de preferência no plano axial. Foram também consideradas e mensuradas lesões não alvo e lesões não identificadas anteriormente ao diagnóstico. Linfonodo com eixo curto menor que 10 mm foi considerado não patológico, aquele com eixo curto maior ou igual a 10 mm e menor que 15 mm foi considerado como lesão não alvo e aquele com eixo curto maior ou igual a 15 mm foi considerado como lesão alvo.

Foi considerada como resposta completa, a caracterizada pelo desaparecimento total das lesões, alvo e não alvo, na ausência de novas lesões. Foi considerada resposta parcial, aquela caracterizada por redução maior ou igual a 30% da soma das lesões alvo e não alvo, na ausência de novas lesões. Foi considerada doença progressiva, quando houve aumento maior ou igual a 20% da soma das lesões alvo e não alvo. Foi

considerada doença estável, quando não houve resposta completa, parcial ou progressão da doença (**Tabela 8**).

**Tabela 8.** Tipos de resposta à terapêutica de acordo com RECIST 1.1\*

Lesões alvo	Lesões não alvo	Novas lesões	Resposta
Resposta completa	Resposta completa	Não	Resposta completa
Resposta completa	Não resposta completa	Não	Resposta parcial
Resposta completa	Não doença progressiva	Não	Resposta parcial
Resposta completa	Não de todo avaliado	Não	Resposta parcial
Resposta parcial	Não doença progressiva	Não	Resposta parcial
Resposta parcial	Não de todo avaliado	Não	Resposta parcial
Doença estável	Não doença progressiva	Não	Doença estável
Doença estável	Não de todo avaliado	Não	Doença estável
Não avaliadas de todo	Não doença progressiva	Não	Não se aplica
Doença progressiva	Alguma	Sim/Não	Doença progressiva
Alguma	Doença progressiva	Sim/Não	Doença progressiva
Alguma	Alguma	Sim	Doença progressiva

(\*) VAN PERSIJN VAN MEERTEN *et al.*, 2010

## 7.2. Tomografia computadorizada por emissão de fóton único

As imagens de SPECT-TC foram adquiridas cinco minutos após a injeção venosa de 740 MBq (20 mCi) de sestamibi-<sup>99m</sup>Tc.

Foi utilizada matriz de 128x128, zoom 1.0, em aparelho de dois detectores, cada um perfazendo 180° em torno da região cérvico-torácica do paciente, totalizando 64 projeções de 14 segundos cada, em trajetória não circular, para a aquisição de imagens tomográficas.

O equipamento Symbia T2 (Simens, Malvern, Pensilvânia, Estados Unidos) foi utilizado para a aquisição de imagens híbridas, cintilográficas e tomográficas, com o paciente na mesma posição, possibilitando a fusão dessas imagens e definição anatômica dos achados da cintilografia.

As respostas obtidas por pacientes após a terapêutica com CDDP e RT foram classificados em satisfatória (caracterizada pelo desaparecimento ou redução acentuada da captação do radiofármaco pelo tumor), insatisfatória (a caracterizada pela redução parcial ou sem redução da captação do radiofármaco pelo tumor) e inconclusiva (a imprópria devido a presença de artefatos na TC e/ou SPECT).

Devido à baixa resolução espacial do SPECT, só foi possível avaliar a captação do sestamibi-<sup>99m</sup>Tc em tumores dos estágios III e IV. Por esta limitação, as respostas à terapêutica com CDDP e RT medidas por este método não foram utilizadas em análises de associação neste estudo.

## 8. Aspectos éticos

Todos os procedimentos foram realizados após a obtenção do termo de consentimento informado (**Anexo 4**) assinados por pacientes que aceitaram participar do estudo proposto. Todas as imagens foram utilizadas após os pacientes aceitarem e assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido para obtenção, utilização e divulgação (**Anexo 5**). O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médica da UNICAMP (Processo nº 274/2011) (**Anexo 6**).

## 9. Análise estatística

O teste de verificação do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW) foi realizado com o intuito de verificar se ocorreu distribuição preferencial de algum dos genótipos dos polimorfismos avaliados nos pacientes utilizados no estudo.

O significado estatístico das diferenças entre grupos foi calculado pelo teste da probabilidade exata de Fisher ou qui-quadrado ( $\chi^2$ ). A regressão logística múltipla foi feita para obter a razão das chances (ORs), ajustadas por eventuais discrepâncias específicas para cada variável categórica (náuseas, vômitos, anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia, plaquetopenia, ototoxicidade, taxa de resposta e resposta por SPECT-TC), considerando um intervalo de confiança (IC) de 95%. A ANOVA foi realizada para medidas repetidas, ajustadas por eventuais discrepâncias específica para cada variável contínua (CICre, TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr, perda auditiva e concentração de CDDP urinária). Estas variáveis foram transformadas em postos para realização da análise comparativa, uma vez que não apresentaram distribuição normal. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5% ( $P < 0,05$ ). As análises foram realizadas por estatísticos da Câmara de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, com a utilização dos programas estatísticos *Statistical Package for the Social Sciences* versão 15.0 (SPSS Incorporation, Chicago, IL, USA) e *Statistical Analysis System* versão 9.2 (SAS Institute Incorporation, Cary, NC, USA).



### 1. Casuística

As distribuições individualizadas dos 145 pacientes com CCECP consecutivos, convidados inicialmente para o estudo, de acordo com a situação final e causa de exclusão (quando pertinente), estão apresentadas no **Anexo 7**.

As frequências das distribuições dos 145 pacientes com CCECP, de acordo com a situação final e as causas de exclusão (quando pertinente) estão apresentadas na **Tabela 9**.

**Tabela 9.** Frequências das distribuições dos 145 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com a situação final e as causas de exclusão do estudo

Variáveis	Número de pacientes (%)
<b>Permaneceram no estudo</b>	90 (62,1)
<b>Excluídos</b>	55 (37,9)
Disfunção renal	21 (38,2)
KPS reduzido	19 (34,5)
Disfunção auditiva	5 (9,1)
Quimioterapia de indução	5 (9,1)
Abandono do tratamento	5 (9,1)

Observamos que 55 pacientes foram excluídos do estudo entre o primeiro atendimento e o início da terapêutica, devido principalmente a redução de função renal ou do KPS. Os 90 pacientes consecutivos que mantiveram a situação inicial no início da terapêutica foram efetivamente inseridos no estudo.

### 2. Aspectos clínicos e do tumor

As distribuições individualizadas dos 90 pacientes por idade, sexo, etnia, índice de massa corpórea (IMC), presença de hipertensão arterial e diabetes mellitus, padrões de etilismo e de tabagismo, localização, estágio e grau de diferenciação do tumor e presença do HPV estão apresentadas nos **Anexos 8 e 9**.

Já as frequências das distribuições dos 90 pacientes de acordo as características clínicas estão apresentadas na **Tabela 10**. As frequências das distribuições dos mesmos de acordo com as características do tumor estão apresentadas na **Tabela 11**.

**Tabela 10.** Frequências das distribuições dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com a idade, o sexo, a etnia, índice de massa corpórea, as comorbidades e o padrão de etilismo e tabagismo

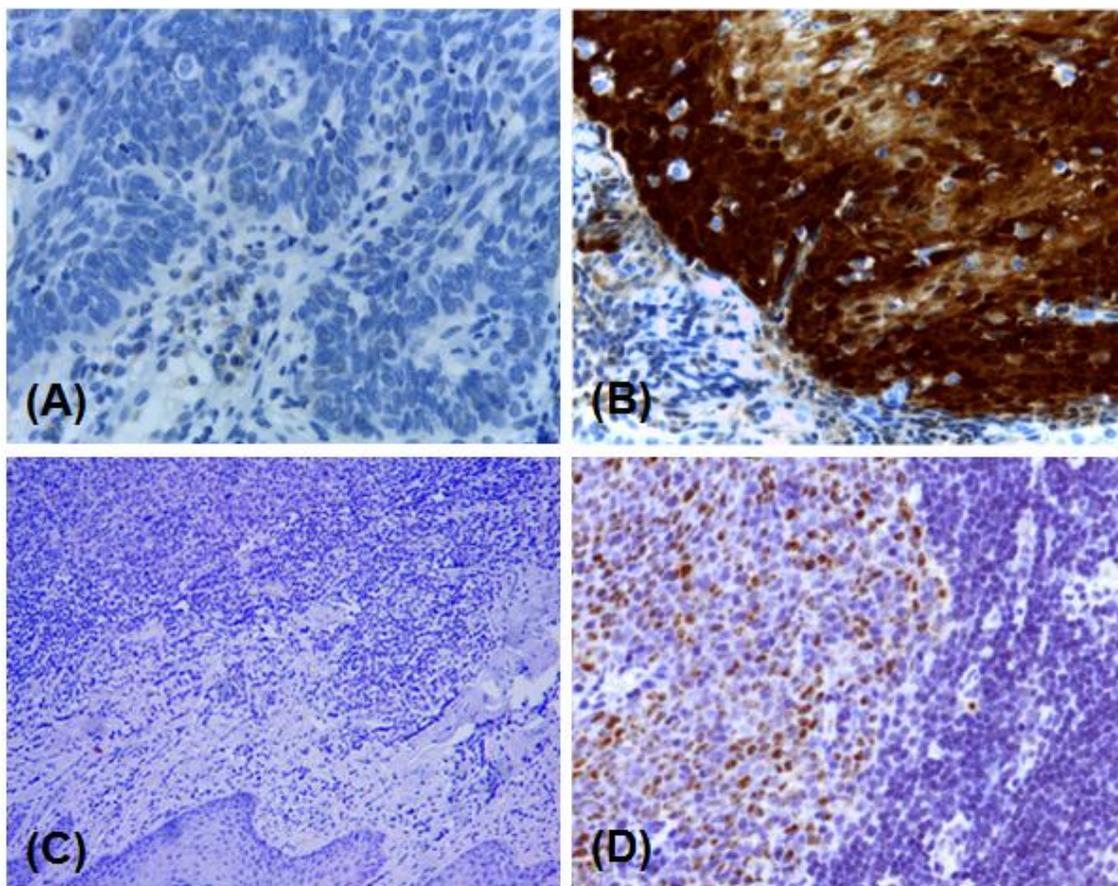
<b>Variáveis</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
<b>Idade mediana (anos)</b>	
< 56	43 (47,8)
≥ 56	47 (52,2)
<b>Sexo</b>	
Masculino	83 (92,2)
Feminino	7 (7,8)
<b>Etnia</b>	
Caucasoide	83 (92,2)
Negroide	7 (7,8)
<b>Índice de massa corpórea</b>	
< 18,5	43 (47,8)
≥ 18,5	47 (52,2)
<b>Hipertensão arterial</b>	
Sim	24 (26,7)
Não	66 (73,3)
<b>Diabetes mellitus</b>	
Sim	10 (11,1)
Não	80 (88,9)
<b>Etilismo</b>	
Abstêmio	7 (7,8)
Discreto	4 (4,4)
Moderado	15 (16,7)
Acentuado	26 (28,9)
Mais que acentuado	38 (42,2)
<b>Tabagismo</b>	
Não tabagista	2 (2,2)
Discreto	1 (1,1)
Moderado	8 (8,9)
Acentuado	79 (87,8)

**Tabela 11.** Frequências das distribuições dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com a localização, o grau de diferenciação e o estágio do tumor e a presença do papilomavírus humano

<b>Variáveis</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
<b>Sítio do tumor</b>	
Cavidade oral	11 (12,2)
Faringe	56 (62,2)
Laringe	23 (25,6)
<b>Região do tumor</b>	
Mucosa oral	3 (3,3)
Palato duro	1 (1,1)
Língua	5 (5,5)
Assoalho de boca	2 (2,2)
Orofaringe	40 (44,5)
Hipofaringe	16 (17,8)
Supraglote	15 (16,7)
Glote	7 (7,8)
Subglote	1 (1,1)
<b>Grau de diferenciação</b>	
Bem diferenciado	2 (2,2)
Moderadamente diferenciado	58 (64,4)
Pouco diferenciado	12 (13,4)
Indiferenciado	1 (1,1)
Não avaliado	17 (18,9)
<b>Estádio do tumor</b>	
I	1 (1,1)
II	5 (5,5)
III	14 (15,6)
IV	70 (77,8)
<b>Imunohistoquímica para p16</b>	
Positiva	4 (4,4)
Negativa	53 (58,9)
Não avaliada	33 (36,7)
<b>Hibridização <i>in situ</i> para HPV</b>	
Positiva	0 (0,0)
Negativa	4 (100,0)

Observamos que cerca de metade da nossa casuística foi constituída por pacientes com idade maior do que 56 anos e com índice reduzido de massa corpórea. Já a maioria deles eram homens, caucasóides, sem comorbidades que pudessem alterar a função renal, etilistas e tabagistas com hábito acentuado.

Observamos que cerca de 60% dos nossos pacientes apresentou tumor na faringe, particularmente na orofaringe. Observamos que maioria dos nossos pacientes que puderam ser avaliados quanto ao grau de diferenciação do tumor apresentou tumor moderadamente diferenciado (79,5%). Observamos que a maioria dos nossos pacientes avaliados por estágio do tumor apresentou tumor de estágio avançado (77,8%). A expressão da p16 foi positiva e negativa em 4,4% e 58,9% dos casos, respectivamente. Já o HPV do tipo 16 não foi identificado em qualquer dos casos por hibridização *in situ* (**Figura 4**). Dessa forma, observamos que o HPV não foi identificado em fragmentos do tumor de nenhum dos casos em que a avaliação foi possível. Informamos que a presença do HPV não foi investigada em 33 casos, devido a dificuldade na obtenção de fragmentos adequados do tumor incluídos em parafina.



**Figura 4.** Secções de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço incluídos em parafina para pesquisa de HPV. **(A)**, **(B)** e **(C)** representam amostras de pacientes com células negativas para p16 (caso 17), com células positivas para p16 (caso 86) e com células ausentes de HPV (caso 60), respectivamente, e **(D)** representa o controle positivo das reações. Reação de imunohistoquímica com o anticorpo anti-P16 evidenciando **(A)** as características atípicas celulares e negatividade para p16 (aumento de 40x) e **(B)** as características atípicas celulares e forte positividade citoplasmática e nuclear nas células carcinomatosas (aumento de 40x). Hibridização *in situ* com sonda de largo espectro para HPV evidenciando **(C)** ausência de sinais puntiformes em células tumorais (aumento de 40x) e **(D)** os sinais puntiformes acastanhados nucleares em grupos confluentes de células tumorais (> 20 células), indicando integração nuclear do vírus (aumento de 40x)

### 3. Terapêutica de pacientes com CCECP

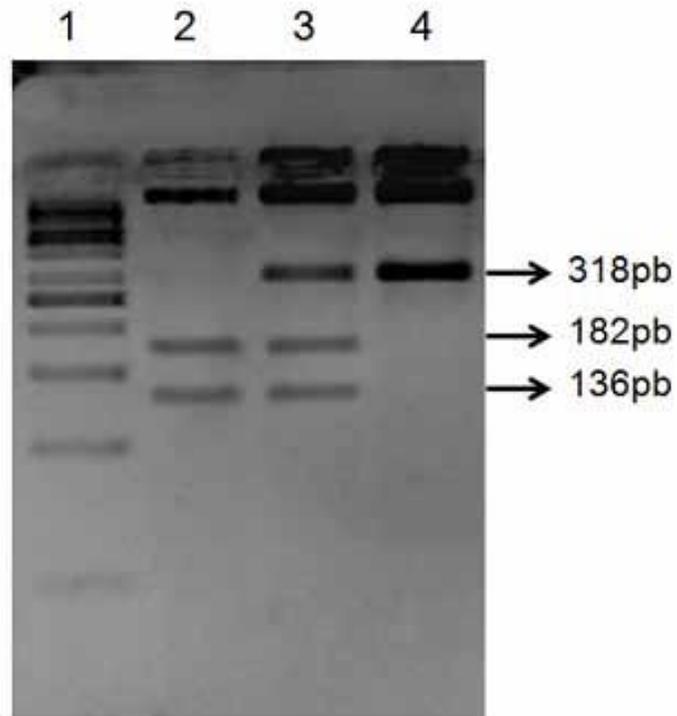
As distribuições individualizadas dos 90 pacientes com CCECP tratados com CDDP associada à RT, de acordo com as doses de CDDP efetivamente recebida em cada aplicação e a dose acumulada durante o tratamento completo, estão apresentadas no **Anexo 10**.

Sessenta e oito pacientes (75,5%) receberam três aplicações de CDDP e 22 pacientes (24,5%) receberam apenas duas aplicações de CDDP, devido a toxicidades renal e hematológica. As doses do quimioterápico variaram de 50 a 100 mg/m<sup>2</sup>, razão pela qual optamos por utilizar a dose acumulada de CDDP durante o tratamento completo para as análises de associação do estudo. Todos os pacientes foram tratados com RT com dose total de 70 Gy.

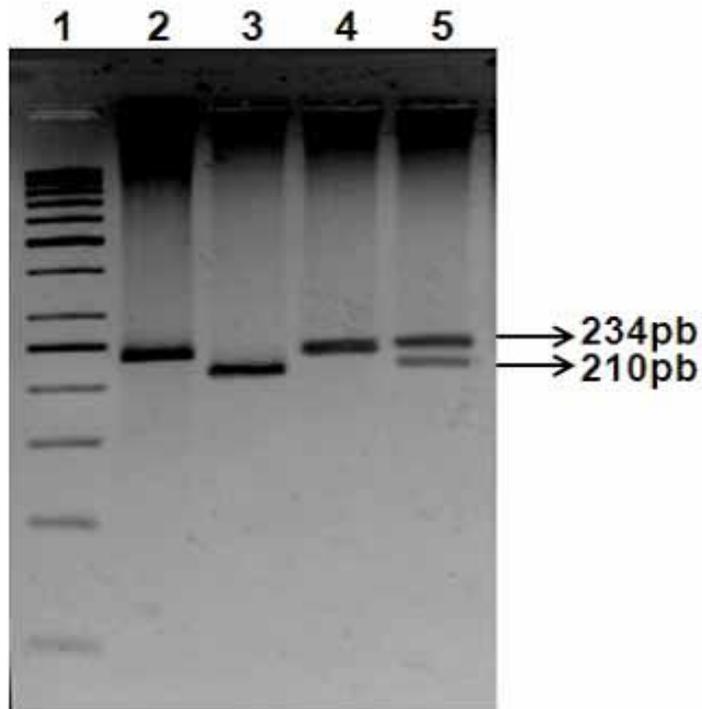
### 4. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos

Os genótipos distintos dos polimorfismos nos genes *P53*, *CASP9* e *CASP3*, estão apresentados nas **Figuras 5, 6, 7 e 8**, respectivamente.

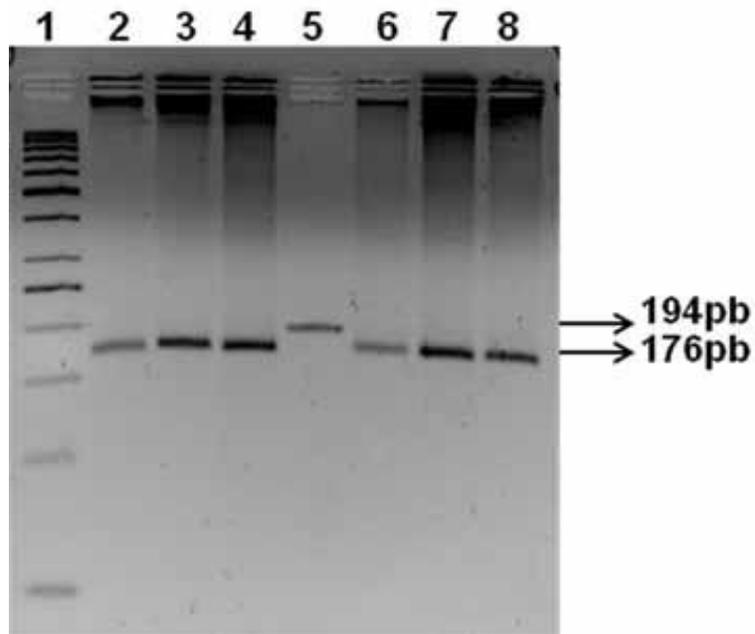
As frequências das distribuições dos 90 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T e *CASP3* A-928G, estão apresentadas na **Tabela 12**.



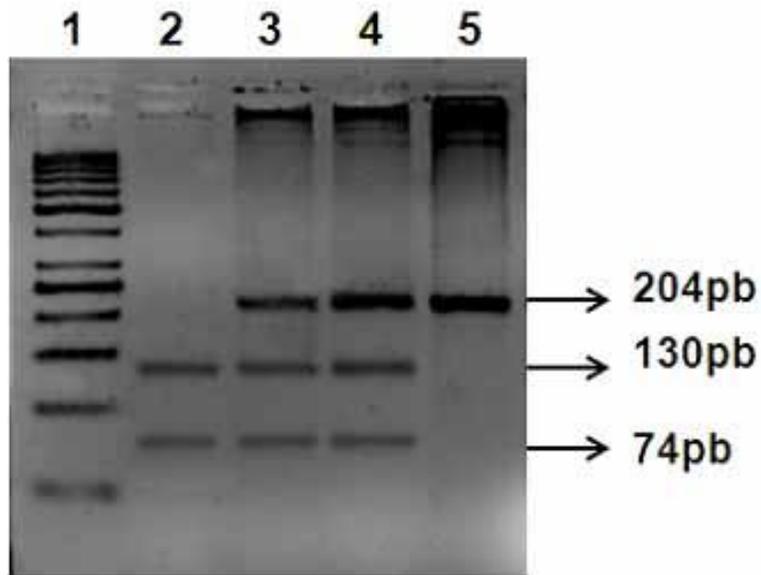
**Figura 5.** Produtos da digestão com a enzima *Bst*UI de fragmentos de interesse do gene *P53* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo Arg72Pro em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Fragmentos de 182 e 136 pares de bases (pb) correspondem ao alelo selvagem Arg. Fragmentos de 318 pb correspondem ao alelo variante Pro. O marcador do tamanho do DNA, ladder de 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduo com o genótipo homocigoto selvagem Arg/Arg está representado na coluna 2. Indivíduo com o genótipo heterocigoto Arg/Pro está representado na coluna 3. Indivíduo com o genótipo homocigoto variante Pro/Pro está representado na coluna 4



**Figura 6.** Produtos da digestão com a enzima *BsmAI* de fragmentos de interesse do gene *CASP9* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo A-1263G em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Fragmentos de 234 pares de bases (pb) correspondem ao alelo variante G. Fragmentos 210 pb e 24 pb (não visualizados) correspondem ao alelo selvagem A. O marcador do tamanho do DNA, ladder de 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo homocigoto variante GG estão representados nas colunas 2 e 4. Indivíduo com o genótipo selvagem AA está representado na coluna 3. Indivíduo com o genótipo heterocigoto AG está representado na coluna 5



**Figura 7.** Produtos da digestão com a enzima *HaeIII* de fragmentos de interesse do gene *CASP9* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo C-712T em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Fragmentos de 194 pares de bases (pb) correspondem ao alelo variante T. Fragmentos 176 e 18 pb (não visualizados) correspondem ao alelo selvagem C. O marcador do tamanho do DNA, ladder de 50 pb, está representado na coluna 1. O produto da reação em cadeia da polimerase (194 pb), usado como controle da reação, está apresentado na coluna 5. Indivíduos com o genótipo selvagem CC estão apresentados nas colunas 2, 3, 4, 6, 7 e 8. Não foram identificados indivíduos com o genótipo heterozigoto CT e homozigoto variante no estudo



**Figura 8.** Produtos da digestão com a enzima *StuI* de fragmentos de interesse do gene *CASP3* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo A-928G em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Fragmentos de 204 pares de bases (pb) correspondem ao alelo selvagem A. Fragmentos de 130 e 74 pb correspondem ao alelo variante G. O marcador do tamanho do DNA, ladder de 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduo com o genótipo homocigoto variante GG está representado na coluna 2. Indivíduos com o genótipo heterocigoto AG estão representados nas colunas 3 e 4. Indivíduo com o genótipo homocigoto selvagem AA está representado na coluna 5

**Tabela 12.** Frequências das distribuições dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G, *CASP9* C-712T e *CASP3* A-928G

<b>Genótipos</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>	
Arg/Arg	44 (48,9)
Arg/Pro	35 (38,9)
Pro/Pro	11 (12,2)
<b><i>CASP9</i> A-1263G</b>	
AA	35 (38,9)
AG	38 (42,2)
GG	17 (18,9)
<b><i>CASP9</i> C-712T</b>	
CC	90 (100,0)
CT	0 (0,0)
TT	0 (0,0)
<b><i>CASP3</i> A-928G</b>	
AA	37 (41,1)
AG	44 (48,9)
GG	9 (10,0)

*P53* Arg72Pro: (Arg/Arg) genótipo homozigoto selvagem, (Arg/Pro) heterozigoto, (Pro/Pro) homozigoto variante; *CASP9* A-1263G: (AA) genótipo homozigoto selvagem, (AG) heterozigoto, (GG) homozigoto variante; *CASP9* C-712T: (CC) genótipo homozigoto selvagem, (CT) heterozigoto, (TT) homozigoto variante; *CASP3* A-928G: (AA) genótipo homozigoto selvagem, (AG) heterozigoto, (GG) homozigoto variante

Observamos que os nossos pacientes apresentaram apenas o genótipo homocigoto selvagem para o polimorfismo *CASP9* C-712T. Dessa forma não nos foi possível avaliar associações desse polimorfismo com as toxicidades, a concentração de CDDP urinária e as taxa de resposta à terapêutica com CDDP associada à RT.

As amostras dos pacientes estiveram em equilíbrio de Hardy-Weinberg para os loci *P53* Arg72Pro ( $\chi^2= 0,92$ ,  $P= 0,33$ ), *CASP9* A-1263G ( $\chi^2= 1,30$ ,  $P= 0,25$ ), *CASP9* C-712T ( $\chi^2=$  não avaliado), *CASP3* A-928G ( $\chi^2= 0,61$ ,  $P= 0,43$ ).

Os genótipos *P53* 72ArgArg, *CASP9* -1263GG e *CASP3* -928AA, descritos como os que preservam a função de apoptose de células com lesão de DNA (DUMONT *et al.*, 2003; PARK *et al.*, 2006; JANG *et al.*, 2008; THEODOROPOULOS *et al.*, 2011), foram considerados como referências na avaliação da influência dos polimorfismos nas toxicidades e concentração de CDDP urinária e nas taxa de resposta á terapêutica com CDDP e RT. Já os genótipos *P53* 72ProPro, *CASP9* -1263AA e *CASP3* -928GG, descritos como associados a apoptose anormal (DUMONT *et al.*, 2003; PARK *et al.*, 2006; JANG *et al.*, 2008; THEODOROPOULOS *et al.*, 2011), foram considerados os objetos de teste no estudo. Os genótipos heterocigotos foram avaliados em associação aos primeiros e aos últimos genótipos para verificar onde teriam impacto para a variável em questão.

## 5. Toxicidade ao esquema terapêutico

### 5.1. Náuseas, vômitos e mielossupressão

As frequências das distribuições dos 88 pacientes de acordo com os graus de náuseas, vômitos e adesão aos antieméticos durante o tratamento estão apresentadas na **Tabela 13**. As frequências das distribuições dos 84 pacientes de acordo com os graus de mielossupressão com o tratamento estão apresentadas na **Tabela 14**.

As frequências das distribuições dos 88 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e os graus de náuseas e vômitos com o tratamento estão apresentadas na **Tabela 15**. As frequências das distribuições dos 84 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e os graus de mielossupressão com o tratamento estão apresentadas na **Tabela 16**.

Informamos que não nos foi possível avaliar o grau de náuseas, vômitos e adesão a antieméticos de dois pacientes (casos 1 e 6), por informações inconsistentes. Ainda,

não foi possível avaliar o grau de mielossupressão de seis pacientes (casos 1, 6, 23, 40, 78 e 115), pois não realizaram exame hematológico em algum período do tratamento.

**Tabela 13.** Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por graus de náuseas e vômitos e adesão aos antieméticos durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

<b>Variáveis</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
<b>Náuseas</b>	
Grau 0	15 (17,0)
Grau 1	22 (25,0)
Grau 2	40 (45,5)
Grau 3	11 (12,5)
<b>Vômitos</b>	
Grau 0	38 (43,1)
Grau 1	21 (23,9)
Grau 2	19 (21,6)
Grau 3	10 (11,4)
Grau 4	0 (0,0)
<b>Adesão ao tratamento</b>	
Alta	64 (72,7)
Média	22 (25,0)
Não	2 (2,3)

O número de pacientes avaliados (n= 88) difere do total inserido no estudo (n= 90) devido a falta de informações consistentes sobre náuseas, vômitos e adesão a antieméticos em dois dos nossos casos

**Tabela 14.** Frequências das distribuições dos 84 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por graus de mielossupressão durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

<b>Variáveis</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
<b>Anemia</b>	
Grau 0	2 (2,4)
Grau 1	35 (41,7)
Grau 2	32 (38,0)
Grau 3	15 (17,9)
Grau 4	0 (0,0)
<b>Leucopenia</b>	
Grau 0	24 (28,6)
Grau 1	23 (27,4)
Grau 2	27 (32,1)
Grau 3	9 (10,7)
Grau 4	1 (1,2)
<b>Neutropenia</b>	
Grau 0	33 (39,3)
Grau 1	16 (19,0)
Grau 2	18 (21,4)
Grau 3	12 (14,3)
Grau 4	5 (6,0)
<b>Linfopenia</b>	
Grau 0	2 (2,4)
Grau 1	3 (3,6)
Grau 2	37 (44,0)
Grau 3	38 (45,2)
Grau 4	4 (4,8)
<b>Plaquetopenia</b>	
Grau 0	54 (64,3)
Grau 1	27 (32,1)
Grau 2	2 (2,4)
Grau 3	0 (0,0)
Grau 4	1 (1,2)

O número de pacientes avaliados (n= 84) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois seis dos nossos casos não realizaram exame hematológico durante a terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

**Tabela 15.** Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e graus de náuseas e vômitos durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	Náuseas		Vômitos	
	G0+G1	G2+G3	G0+G1	G2+G3+G4
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>				
Arg/Arg+Arg/Pro*	33 (42,3)	45 (57,7)	57 (73,1)	21 (26,9)
Pro/Pro	4 (40,0)	6 (60,0)	2 (20,0)	8 (80,0)
Valor de <i>P</i>	0,98		0,005	
OR (IC 95%)	0,98 (0,24 – 4,06)		14,46 (2,27 – 92,24)	
Arg/Arg*	16 (38,1)	26 (61,9)	28 (66,7)	14 (33,3)
Arg/Pro+Pro/Pro	21 (45,7)	25 (54,3)	31 (67,4)	15 (32,6)
Valor de <i>P</i>	0,44		0,87	
OR (IC 95%)	0,70 (0,28 – 1,73)		0,92 (0,36 – 2,38)	
<b><i>Casp9</i> A-1263G</b>				
AA+AG	29 (39,7)	44 (60,3)	48 (65,8)	25 (34,2)
GG*	8 (53,3)	7 (46,7)	11 (73,3)	4 (26,7)
Valor de <i>P</i>	0,81		0,26	
OR (IC 95%)	0,89 (0,34 – 2,30)		0,46 (0,12 – 1,76)	
AA	16 (44,4)	20 (55,6)	26 (72,2)	10 (27,8)
AG+GG*	21 (40,4)	31 (59,6)	33 (63,5)	19 (36,5)
Valor de <i>P</i>	0,13		0,79	
OR (IC 95%)	0,39 (0,11 – 1,31)		1,14 (0,43 – 3,03)	
<b><i>Casp3</i> A-928G</b>				
AA+AG*	33 (41,8)	46 (58,2)	52 (65,8)	27 (34,2)
GG	4 (44,4)	5 (55,6)	7 (77,8)	2 (22,2)
Valor de <i>P</i>	0,92		0,57	
OR (IC 95%)	0,93 (0,21 – 4,04)		1,64 (0,30 – 9,12)	
AA*	14 (40,0)	21 (60,0)	21 (60,0)	14 (40,0)
AG+GG	23 (43,4)	30 (56,6)	38 (71,7)	15 (28,3)
Valor de <i>P</i>	0,83		0,35	
OR (IC 95%)	1,10 (0,43 – 2,83)		1,59 (0,61 – 4,15)	

(N) número de pacientes, (G) grau; (\*) genótipo referência; (OR) razão das chances ajustadas por idade, dose de cisplatina acumulada e adesão ao tratamento; (IC) intervalo de confiança. O número de pacientes avaliados (n= 88) difere do total inserido no estudo (n= 90) devido a falta de informações consistentes sobre náuseas e vômitos em dois dos nossos casos

**Tabela 16.** Frequências das distribuições dos 84 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e graus de mielossupressão durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	Anemia		Leucopenia		Neutropenia		Linfopenia		Plaquetopenia	
	G0+G1	G2+G3+G4	G0+G1	G2+G3+G4	G0+G1	G2+G3+G4	G0+G1+G2	G3+G4	G0	G1+G2+G3+G4
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>										
Arg/Arg+Arg/Pro*	35 (46,7)	40 (53,3)	40 (53,3)	35 (46,7)	41 (54,7)	34 (45,3)	36 (48,0)	39 (52,0)	47 (62,7)	28 (37,3)
Pro/Pro	2 (22,2)	7 (77,8)	7 (77,8)	2 (22,2)	8 (88,9)	1 (11,1)	6 (66,7)	3 (33,3)	7 (77,8)	2 (22,2)
Valor de <i>P</i>	0,25		0,11		0,08		0,24		0,36	
OR (IC 95%)	0,38 (0,07 – 1,98)		3,95 (0,72 – 21,58)		6,55 (0,77 – 5,62)		2,41 (0,55 – 10,63)		2,20 (0,40 – 11,91)	
Arg/Arg*	20 (51,3)	19 (48,7)	21 (53,8)	18 (46,2)	24 (61,5)	15 (38,5)	20 (51,3)	19 (48,7)	22 (56,4)	17 (43,6)
Arg/Pro+Pro/Pro	17 (37,8)	28 (62,2)	26 (57,8)	19 (42,2)	25 (55,6)	20 (44,4)	22 (48,9)	23 (51,1)	32 (71,1)	13 (28,9)
Valor de <i>P</i>	0,23		0,75		0,58		0,84		0,18	
OR (IC 95%)	0,58 (0,24 – 1,40)		1,15 (0,48 – 2,77)		0,78 (0,32 – 1,87)		0,91 (0,39 – 2,16)		1,86 (0,75 – 4,62)	
<b><i>Casp9</i> A-1263G</b>										
AA+AG	33 (47,1)	37 (52,9)	39 (55,7)	31 (44,3)	41 (58,6)	29 (41,4)	37 (52,9)	33 (47,1)	47 (67,1)	23 (32,9)
GG*	4 (28,6)	10 (71,4)	8 (57,1)	6 (42,9)	8 (57,1)	6 (42,9)	5 (35,7)	9 (64,3)	7 (50,0)	7 (50,0)
Valor de <i>P</i>	0,27		0,99		0,91		0,27		0,14	
OR (IC 95%)	2,07 (0,57 – 7,51)		1,00 (0,30 – 3,34)		1,07 (0,33 – 3,51)		1,99 (0,59 – 6,71)		2,51 (0,75 – 8,41)	
AA	19 (54,3)	16 (45,7)	20 (57,1)	15 (42,9)	19 (54,3)	16 (45,7)	20 (57,1)	15 (42,9)	23 (65,7)	12 (34,3)
AG+GG*	18 (36,7)	31 (63,3)	27 (55,1)	22 (44,9)	30 (61,2)	19 (38,8)	22 (44,9)	27 (55,1)	31 (63,3)	18 (36,7)
Valor de <i>P</i>	0,17		0,74		0,52		0,30		0,56	
OR (IC 95%)	1,90 (0,75 – 4,79)		1,17 (0,46 – 2,96)		0,74 (0,30 – 1,85)		1,62 (0,65 – 4,02)		1,33 (0,51 – 3,47)	

**Casp3 A-928G**

AA+AG*	30 (40,0)	45 (60,0)	41 (54,7)	34 (45,3)	43 (57,3)	32 (42,7)	37 (49,3)	38 (50,7)	48 (64,0)	27 (36,0)
GG	7 (77,8)	2 (22,2)	6 (66,7)	3 (33,3)	6 (66,7)	3 (33,3)	5 (55,6)	4 (44,4)	6 (66,7)	3 (33,3)
Valor de <i>P</i>	0,06		0,52		0,57		0,77		0,81	
OR (IC 95%)	4,96 (0,94 – 26,08)		1,62 (0,37 – 7,13)		1,52 (0,35 – 6,61)		1,23 (0,30 – 4,98)		1,20 (0,27 – 5,34)	
AA*	13 (39,4)	20 (60,6)	19 (57,6)	14 (42,4)	17 (51,5)	16 (48,5)	14 (42,4)	19 (57,6)	24 (72,7)	9 (27,3)
AG+GG	24 (47,1)	27 (52,9)	28 (54,9)	23 (45,1)	32 (62,7)	19 (37,3)	28 (54,9)	23 (45,1)	30 (58,8)	21 (41,2)
Valor de <i>P</i>	0,45		0,91		0,32		0,23		0,26	
OR (IC 95%)	1,43 (0,56 – 3,62)		1,05 (0,42 – 2,64)		1,58 (0,63 – 3,94)		1,74 (0,70 – 4,35)		0,57 (0,22 – 1,52)	

(G) grau; (N) número de pacientes; (\*) genótipo referência; (OR) razão das chances ajustadas por idade e dose de cisplatina acumulada; (IC) intervalo de confiança. O número de pacientes avaliados (n= 84) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois seis dos nossos casos não realizaram exame hematológico durante a terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Observamos que a maior parte dos pacientes apresentou náuseas e vômitos dos graus 1 e 2 e alta adesão aos antieméticos. Observamos ainda que a maior parte dos pacientes apresentou anemia, leucopenia e neutropenia dos graus 1 e 2, linfopenia dos graus 2 e 3 e plaquetopenia do grau 1.

Vômitos moderados ou acentuados (G2+G3+G4) foram mais comuns em pacientes com o genótipo *P53 72ProPro* do que em pacientes com o genótipo *P53 72ArgArg* ou o genótipo *P53 72ArgPro* (80,0% versus 26,9%,  $P= 0,005$ ). Portadores do genótipo *P53 72ProPro* tiveram risco 14,46 vezes maior de apresentar vômitos moderados ou acentuados durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo *P53 72ArgArg* ou o genótipo *P53 72ArgPro*.

Frequências similares dos polimorfismos *CASP9 A-1263G* e *CASP3 A-928G* foram observadas em pacientes estratificados por graus de náuseas e vômitos. Frequências similares dos polimorfismos *P53 Arg72Pro*, *CASP9 A-1263G* e *CASP3 A-928G* foram observadas em pacientes estratificados por graus de mielossupressão.

## 5.2. Ototoxicidade

As distribuições dos 70 pacientes de acordo com os valores de limiares auditivos tonais por via aérea, em orelhas direita e esquerda, e com os graus de ototoxicidade obtidos antes e após tratamento estão apresentadas nas **Tabelas 17 e 18**, respectivamente.

Informamos que não nos foi possível avaliar os parâmetros auditivos e, conseqüentemente, os graus de ototoxicidade de 13 pacientes (casos 1, 6, 23, 36, 40, 46, 48, 50, 106, 115, 116, 125 e 130), pois estes evoluíram para o óbito antes de realizarem os exames após o tratamento e 7 pacientes (casos 98, 102, 127, 132, 140, 143 e 145), pois estes não realizaram o exame.

**Tabela 17.** Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por limiares auditivos tonais por via aérea, em orelha direita e orelha esquerda, nas frequências 0,25, 0,50, 1, 2, 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Frequência (kHz)	Orelha direita		Orelha esquerda	
	Antes do tratamento	Após o tratamento	Antes o tratamento	Após o tratamento
	Média ± desvio padrão			
0,25	17,0 ± 15,6	16,7 ± 14,3	14,5 ± 12,6	17,4 ± 15,3
0,50	15,1 ± 16,6	15,9 ± 16,0	14,6 ± 13,6	17,1 ± 16,7
1	14,1 ± 17,0	15,8 ± 16,7	13,9 ± 13,9	16,9 ± 17,7
2	15,6 ± 18,1	23,4 ± 21,2	15,4 ± 13,8	25,6 ± 22,1
3	25,7 ± 23,0	40,6 ± 24,9	24,2 ± 17,2	42,4 ± 24,6
4	35,9 ± 23,9	51,3 ± 24,2	34,4 ± 19,0	53,0 ± 23,7
6	38,6 ± 24,8	60,0 ± 23,8	38,5 ± 21,6	62,7 ± 25,0
8	38,3 ± 26,7	61,6 ± 22,2	36,5 ± 25,8	62,9 ± 22,8

As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em deciBELL (dB). O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois 20 dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia. Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva

**Tabela 18.** Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por graus de ototoxicidade por via aérea, medidos antes e após a terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

<b>Grau de ototoxicidade</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
Grau 0	19 (27,1)
Grau 1	17 (24,3)
Grau 2	12 (17,2)
Grau 3	22 (31,4)
Grau 4	0 (0,0)

O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois 20 dos nossos casos não realizaram audiometria ao término da terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Observamos que a maior parte dos nossos pacientes apresentou redução dos limiares auditivos nas frequências 3, 4, 6 e 8 kHz. Ototoxicidade dos graus 1, 2 e 3 foram identificadas entre nossos pacientes. Cerca de um terço dos nossos pacientes apresentou ototoxicidade de grau 3.

As distribuições dos 70 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G, os valores das médias e desvio padrão dos limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha direita e esquerda, obtidos antes e após tratamento e as frequências de grau de ototoxicidade após tratamento, estão apresentadas nas **Tabelas 19, 20, 21, 22 e 23**.

**Tabela 19.** Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e limiares auditivos tonais por via aérea, em orelha direita, nas frequências 0,25, 0,50, 1 e 2 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	0,25 kHz		0,50 kHz		1 kHz		2 kHz	
		Antes do tratamento	Após o tratamento	Antes do tratamento	Após o tratamento	Antes do tratamento	Após o tratamento	Antes do tratamento	Após o tratamento
		Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>									
Arg/Arg+Arg/Pro*	62	17,1 ± 16,5	17,3 ± 15,0	15,6 ± 17,6	16,8 ± 16,5	14,4 ± 17,8	16,0 ± 17,1	16,5 ± 18,8	23,9 ± 21,7
Pro/Pro	8	<b>16,3 ± 3,5</b>	<b>11,9 ± 4,6</b>	<b>11,9 ± 2,6</b>	<b>9,4 ± 9,4</b>	11,3 ± 8,8	13,8 ± 14,1	9,4 ± 9,4	20,0 ± 18,1
Valor de <i>P</i>		<b>0,05</b>		<b>0,05</b>		0,59		0,54	
Arg/Arg*	32	19,1 ± 20,7	18,0 ± 16,4	18,6 ± 22,1	17,5 ± 18,7	17,8 ± 23,0	18,8 ± 21,4	20,5 ± 23,6	28,1 ± 23,9
Arg/Pro+Pro/Pro	38	15,3 ± 9,3	15,7 ± 12,4	12,2 ± 9,3	14,6 ± 13,5	10,9 ± 8,5	13,3 ± 11,0	11,6 ± 10,4	19,5 ± 18,2
Valor de <i>P</i>		0,37		0,86		0,67		0,83	
<b><i>Casp9</i> A-1263G</b>									
AA+AG	57	18,3 ± 16,6	17,3 ± 14,9	16,2 ± 17,8	16,0 ± 16,4	15,1 ± 18,2	15,5 ± 17,3	16,6 ± 18,7	23,4 ± 21,0
GG*	13	11,2 ± 7,9	14,2 ± 11,5	10,4 ± 9,0	15,8 ± 14,8	<b>9,6 ± 9,2</b>	<b>16,9 ± 14,5</b>	11,5 ± 15,1	23,5 ± 23,2
Valor de <i>P</i>		0,21		0,11		<b>0,05</b>		0,29	
AA	27	16,9 ± 12,5	14,3 ± 7,7	15,9 ± 13,3	13,1 ± 10,1	13,9 ± 14,7	13,1 ± 10,2	15,6 ± 13,3	20,4 ± 16,3
AG+GG*	43	17,1 ± 17,4	18,3 ± 17,1	14,7 ± 18,5	17,7 ± 18,7	14,2 ± 18,4	17,4 ± 19,7	15,7 ± 20,7	25,3 ± 23,8
Valor de <i>P</i>		0,42		0,06		0,42		0,24	

---

**Casp3 A-928G**

AA+AG*	62	16,4 ± 15,4	17,2 ± 15,0	14,6 ± 17,1	15,6 ± 16,6	13,1 ± 17,5	15,0 ± 17,3	14,2 ± 18,3	23,1 ± 21,7
GG	8	21,9 ± 17,1	13,1 ± 6,5	19,4 ± 11,8	18,1 ± 10,3	21,3 ± 10,6	21,9 ± 10,0	<b>26,9 ± 12,5</b>	<b>26,3 ± 17,9</b>
Valor de <i>P</i>		0,13		0,72		0,79		<b>0,01</b>	
AA*	27	16,3 ± 9,2	16,7 ± 8,3	16,9 ± 11,9	16,3 ± 12,5	15,4 ± 13,0	16,9 ± 13,3	14,4 ± 13,2	23,3 ± 19,3
AG+GG	43	17,4 ± 18,6	16,7 ± 17,1	14,1 ± 19,0	15,7 ± 18,0	13,3 ± 19,2	15,1 ± 18,6	16,4 ± 20,7	23,5 ± 22,6
Valor de <i>P</i>		0,61		0,09		0,21		0,79	

---

(N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; (\*) genótipo referência. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em deciBELL (dB). Os valores foram ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada e localização do tumor. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois 20 dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia. Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva

**Tabela 20.** Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e limiares auditivos por via aérea, em orelha direita, nas frequências 3, 4, 5 e 6 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	3 kHz		4 kHz		6 kHz		8 kHz	
		Antes do tratamento	Após o tratamento						
		Média ± DP	Média ± DP						
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>									
Arg/Arg+Arg/Pro*	62	25,6 ± 23,5	40,3 ± 25,5	36,2 ± 24,7	51,5 ± 24,9	38,9 ± 25,6	59,8 ± 25,0	38,8 ± 27,5	61,4 ± 23,3
Pro/Pro	8	26,9 ± 19,8	42,5 ± 20,9	33,8 ± 17,5	50,0 ± 19,3	36,3 ± 19,2	61,3 ± 12,7	34,4 ± 19,5	63,8 ± 11,9
Valor de <i>P</i>		0,87		0,84		0,84		0,53	
Arg/Arg*	32	27,3 ± 28,1	43,1 ± 26,4	36,7 ± 28,2	53,9 ± 23,6	41,4 ± 28,6	63,9 ± 24,4	41,1 ± 27,6	65,3 ± 21,5
Arg/Pro+Pro/Pro	38	24,3 ± 17,9	38,4 ± 23,7	35,3 ± 20,0	49,1 ± 24,7	36,2 ± 21,3	56,7 ± 23,2	35,9 ± 26,0	58,6 ± 22,6
Valor de <i>P</i>		0,39		0,26		0,69		0,74	
<b><i>Casp9</i> A-1263G</b>									
AA+AG	57	26,8 ± 22,3	41,0 ± 22,8	36,1 ± 22,9	51,8 ± 22,2	38,9 ± 24,1	61,3 ± 21,6	38,7 ± 26,2	61,8 ± 20,1
GG*	13	21,2 ± 26,4	38,8 ± 33,7	35,4 ± 29,1	49,2 ± 32,7	36,9 ± 28,9	54,2 ± 32,4	36,5 ± 29,9	60,8 ± 30,9
Valor de <i>P</i>		0,71		0,56		0,40		0,73	
AA	27	25,2 ± 21,2	38,3 ± 21,7	36,9 ± 22,5	50,0 ± 22,4	41,3 ± 23,3	61,1 ± 21,0	42,2 ± 25,0	64,1 ± 20,2
AG+GG*	43	26,0 ± 24,3	42,0 ± 26,9	35,3 ± 25,0	52,1 ± 25,5	36,9 ± 25,9	59,3 ± 25,6	35,8 ± 27,7	60,1 ± 23,5
Valor de <i>P</i>		0,54		0,34		0,29		0,41	

---

**Casp3 A-928G**

AA+AG*	62	23,2 ± 21,4	39,1 ± 24,4	33,4 ± 21,6	49,8 ± 23,3	36,4 ± 24,4	58,6 ± 24,2	36,8 ± 26,1	61,0 ± 22,4
GG	8	45,0 ± 27,1	51,9 ± 27,1	55,6 ± 32,5	63,1 ± 29,5	55,6 ± 22,4	70,6 ± 19,0	50,0 ± 30,1	66,9 ± 20,9
Valor de <i>P</i>		0,08		0,36		0,63		0,55	
AA*	27	24,8 ± 19,4	38,3 ± 21,9	33,9 ± 19,3	50,0 ± 20,8	39,8 ± 23,3	62,2 ± 24,0	42,8 ± 24,6	65,6 ± 21,4
AG+GG	43	26,3 ± 25,2	42,0 ± 26,7	37,2 ± 26,6	52,1 ± 26,3	37,8 ± 26,0	58,6 ± 23,9	35,5 ± 27,8	59,2 ± 22,6
Valor de <i>P</i>		0,94		0,34		0,48		0,68	

---

(N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; (\*) genótipo referência. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em deciBELL (dB). Os valores foram ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada e localização do tumor. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois 20 dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia. Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva

**Tabela 21.** Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e limiares auditivos tonais medidos por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 0,25, 0,50, 1 e 2 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	0,25 kHz		0,50 kHz		1 kHz		2 kHz	
		Antes do tratamento	Após o tratamento						
		Média ± DP	Média ± DP						
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>									
Arg/Arg+Arg/Pro*	62	15,1 ± 13,2	18,1 ± 16,0	15,2 ± 14,3	17,4 ± 17,5	14,5 ± 14,3	17,1 ± 18,4	16,0 ± 14,2	25,0 ± 21,0
Pro/Pro	8	10,0 ± 2,7	11,9 ± 5,9	10,0 ± 4,6	15,0 ± 9,6	9,4 ± 9,8	15,6 ± 12,4	10,0 ± 9,6	30,6 ± 31,1
Valor de <i>P</i>		0,99		0,29		0,07		0,09	
Arg/Arg*	32	15,8 ± 15,3	20,3 ± 18,3	16,6 ± 15,5	19,7 ± 20,9	15,8 ± 16,9	19,5 ± 22,9	18,4 ± 16,3	29,1 ± 25,1
Arg/Pro+Pro/Pro	38	13,4 ± 9,8	15,0 ± 12,0	12,9 ± 11,7	15,0 ± 12,1	12,4 ± 10,8	14,7 ± 11,6	12,8 ± 10,9	22,8 ± 19,2
Valor de <i>P</i>		0,37		0,34		0,33		0,52	
<b><i>Casp9</i> A-1263G</b>									
AA+AG	57	14,6 ± 12,6	17,5 ± 16,1	14,7 ± 13,5	17,4 ± 17,3	14,0 ± 14,3	17,2 ± 18,6	15,6 ± 13,4	26,2 ± 23,0
GG*	13	13,8 ± 12,9	16,9 ± 12,0	13,8 ± 14,3	16,2 ± 14,6	13,5 ± 12,5	15,8 ± 13,5	14,2 ± 16,2	23,1 ± 18,5
Valor de <i>P</i>		0,63		0,54		0,80		0,58	
AA	27	14,6 ± 15,4	18,9 ± 19,6	16,7 ± 17,0	19,4 ± 21,5	14,6 ± 18,1	18,3 ± 24,0	17,4 ± 16,9	25,4 ± 25,7
AG+GG*	43	14,4 ± 10,6	16,5 ± 12,1	13,3 ± 11,0	15,7 ± 12,9	13,5 ± 10,8	16,0 ± 12,6	14,1 ± 11,6	25,8 ± 19,9
Valor de <i>P</i>		0,70		0,94		0,60		0,11	

---

**Casp3 A-928G**

AA+AG*	62	14,4 ± 12,9	16,9 ± 14,0	14,4 ± 14,3	16,6 ± 16,0	13,5 ± 14,5	15,9 ± 16,4	14,2 ± 13,3	24,8 ± 21,3
GG	8	15,6 ± 9,8	21,9 ± 24,2	16,3 ± 6,4	21,3 ± 22,6	16,9 ± 8,4	25,0 ± 25,9	24,4 ± 15,2	31,9 ± 28,7
Valor de <i>P</i>		0,73		0,26		0,89		0,06	
AA*	27	16,3 ± 10,2	18,1 ± 12,5	18,3 ± 13,5	21,5 ± 15,2	14,4 ± 11,3	18,9 ± 15,6	14,4 ± 11,6	28,1 ± 23,0
AG+GG	43	13,4 ± 13,8	17,0 ± 17,0	12,2 ± 13,2	14,4 ± 17,2	13,6 ± 15,5	15,7 ± 19,0	15,9 ± 15,2	24,1 ± 21,7
Valor de <i>P</i>		0,15		0,96		0,66		0,28	

---

(N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; (\*) genótipo referência. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em deciBELL (dB). Os valores foram ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada e localização do tumor. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois 20 dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia. Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva

**Tabela 22.** Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e limiares auditivos tonais por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	3 kHz		4 kHz		6 kHz		8 kHz	
		Antes do tratamento	Após o tratamento						
		Média ± DP	Média ± DP						
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>									
Arg/Arg+Arg/Pro*	62	24,7 ± 17,9	41,3 ± 23,7	34,8 ± 19,4	52,3 ± 23,3	39,0 ± 22,0	61,5 ± 25,1	36,5 ± 26,1	62,4 ± 23,1
Pro/Pro	8	20,6 ± 10,5	50,6 ± 31,4	31,3 ± 16,4	58,1 ± 28,1	34,4 ± 19,4	72,5 ± 23,9	36,3 ± 24,6	66,9 ± 21,5
Valor de <i>P</i>		0,17		0,26		0,10		0,94	
Arg/Arg*	32	25,0 ± 20,2	43,6 ± 27,4	33,6 ± 20,5	52,3 ± 27,0	38,8 ± 21,7	65,0 ± 27,4	38,8 ± 27,1	66,1 ± 23,6
Arg/Pro+Pro/Pro	38	23,6 ± 14,5	41,3 ± 22,4	35,0 ± 17,9	53,6 ± 20,9	38,3 ± 21,8	60,8 ± 23,0	34,6 ± 24,8	60,3 ± 22,0
Valor de <i>P</i>		0,95		0,72		0,76		0,59	
<b><i>Casp9</i> A-1263G</b>									
AA+AG	57	24,8 ± 16,4	44,0 ± 24,1	34,6 ± 18,5	53,9 ± 23,3	38,6 ± 21,6	63,1 ± 23,5	37,1 ± 25,3	63,8 ± 20,6
GG*	13	21,5 ± 21,0	35,0 ± 26,8	33,5 ± 21,7	49,2 ± 26,3	38,1 ± 22,5	61,2 ± 32,0	33,8 ± 28,6	59,2 ± 31,5
Valor de <i>P</i>		0,54		0,63		0,90		0,87	
AA	27	25,7 ± 20,1	43,5 ± 26,2	35,7 ± 22,4	53,1 ± 26,5	41,1 ± 25,2	64,3 ± 24,4	41,3 ± 28,7	65,9 ± 20,7
AG+GG*	43	23,3 ± 15,3	41,6 ± 23,9	33,5 ± 16,7	52,9 ± 22,2	36,9 ± 19,1	61,7 ± 25,6	33,5 ± 23,6	61,0 ± 24,1
Valor de <i>P</i>		0,66		0,40		0,52		0,17	

---

**Casp3 A-928G**

AA+AG*	62	22,9 ± 16,5	41,4 ± 24,5	32,8 ± 18,1	51,9 ± 23,5	36,8 ± 21,1	61,7 ± 25,6	35,0 ± 25,8	62,0 ± 23,4
GG	8	34,4 ± 20,6	50,0 ± 26,3	46,3 ± 23,0	61,3 ± 25,0	51,9 ± 22,2	70,6 ± 19,5	48,1 ± 23,6	70,0 ± 16,9
Valor de <i>P</i>		0,44		0,43		0,47		0,57	
AA*	27	23,3 ± 14,8	46,7 ± 24,5	33,1 ± 17,5	58,0 ± 24,5	40,9 ± 21,3	70,0 ± 27,2	40,6 ± 24,2	68,7 ± 22,0
AG+GG	43	<b>24,8 ± 18,7</b>	<b>39,7 ± 24,6</b>	<b>35,1 ± 20,0</b>	<b>49,9 ± 22,9</b>	37,0 ± 21,9	58,1 ± 22,7	34,0 ± 26,7	59,3 ± 22,7
Valor de <i>P</i>		<b>0,05</b>		<b>0,05</b>		0,08		0,32	

---

(N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; (\*) genótipo referência. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em deciBELL (dB). Os valores foram ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada e localização do tumor. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois 20 dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia. Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva

**Tabela 23.** Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e graus de ototoxicidade após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	Ototoxicidade	
	G0+G1 N (%)	G2+G3+G4 N (%)
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>		
Arg/Arg+Arg/Pro*	34 (54,8)	28 (45,2)
Pro/Pro	2 (25,0)	6 (75,0)
Valor de <i>P</i>	0,21	
OR (IC 95%)	0,32 (0,05 – 1,87)	
Arg/Arg*	15 (46,9)	17 (53,1)
Arg/Pro+Pro/Pro	21 (55,3)	17 (44,7)
Valor de <i>P</i>	0,57	
OR (IC 95%)	1,33 (0,49 – 3,64)	
<b><i>Casp9</i> A1263G</b>		
AA+AG	29 (50,9)	28 (49,1)
GG*	7 (53,8)	6 (46,2)
Valor de <i>P</i>	0,98	
OR (IC 95%)	0,98 (0,27 – 3,56)	
AA	13 (48,1)	14 (51,9)
AG+GG*	23 (53,5)	20 (46,5)
Valor de <i>P</i>	0,95	
OR (IC 95%)	0,97 (0,33 – 2,80)	
<b><i>Casp3</i> A928G</b>		
AA+AG*	33 (53,2)	29 (46,8)
GG	3 (37,5)	5 (62,5)
Valor de <i>P</i>	0,20	
OR (IC 95%)	0,36 (0,07 – 1,71)	
AA*	13 (48,1)	14 (51,9)
AG+GG	23 (53,5)	20 (46,5)
Valor de <i>P</i>	0,38	
OR (IC 95%)	1,62 (0,55 – 4,73)	

(G) grau; (\*) genótipo referência; (OR) razão das chances ajustadas por idade, dose de cisplatina e localização do tumor; (IC) intervalo de confiança. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois parte dos casos não realizaram audiometria ao término da terapêutica

Tendências a aumentos discretos de limiares auditivos após terapêutica foram identificadas em pacientes com o genótipo ProPro do polimorfismo *P53 Arg72Pro* comparados com pacientes com os demais genótipos, em orelha direita, nas frequências 0,25 kHz ( $16,3 \pm 3,5$  para  $11,9 \pm 4,6$  versus  $17,1 \pm 16,5$  para  $17,3 \pm 15,0$ ,  $P= 0,05$ , respectivamente) e 0,50 kHz ( $11,9 \pm 2,6$  para  $9,4 \pm 9,4$  versus  $15,6 \pm 17,6$  para  $16,8 \pm 16,5$ ,  $P= 0,05$ , respectivamente), mas com medidas de limiares auditivos dentro da normalidade (<25 dB).

Tendência a redução discreta de limiares auditivos após terapêutica foi identificada em pacientes com o genótipo AA ou AG do polimorfismo *CASP9 A-1263G* comparados com pacientes com o genótipo GG, em orelha direita, na frequência 1 kHz ( $15,1 \pm 18,2$  para  $15,5 \pm 17,3$  versus  $9,6 \pm 9,2$  para  $16,9 \pm 14,5$ ,  $P= 0,05$ , respectivamente), mas com medidas de limiares auditivos dentro da normalidade (<25 dB).

Aumento discreto de limiares auditivos após terapêutica em pacientes com o genótipo GG do polimorfismo *CASP3 A-928G* comparados com pacientes com os demais genótipos, em orelha direita, na frequência 2 kHz ( $26,9 \pm 12,5$  para  $26,3 \pm 17,9$  versus  $14,2 \pm 18,3$  para  $23,1 \pm 21,7$ ,  $P= 0,01$ , respectivamente), mas com medidas de limiares auditivos próximos aos limites de normalidade (25 dB).

Tendências a menores reduções de limiares auditivos (perdas auditivas) após terapêutica foram observados em pacientes com os genótipos AG ou GG do polimorfismo *CASP3 A-928G* comparados a pacientes com o genótipo AA, em orelha esquerda, nas frequências de 3 kHz ( $24,8 \pm 18,7$  para  $39,7 \pm 24,6$  versus  $23,3 \pm 14,8$  para  $46,7 \pm 24,5$ ,  $P= 0,05$ , respectivamente) e 4 kHz ( $35,1 \pm 20,0$  para  $49,9 \pm 22,9$  versus  $33,1 \pm 17,5$  para  $58,0 \pm 24,5$ ,  $P= 0,05$ , respectivamente).

### **5.3. Nefrotoxicidade**

Observamos redução das médias  $\pm$  DP dos valores de CíCré ( $91,1 \pm 27,9$  versus  $78,7 \pm 24,2$ ) e de TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr ( $83,4 \pm 20,0$  versus  $64,2 \pm 20,9$ ) medidas antes e após o tratamento com CDDP e RT.

Vale ressaltar que não foi possível realizar os exames de CíCré e TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr em 11 pacientes (casos 1, 6, 23, 29, 40, 46, 48, 50, 106, 125 e 130), pois evoluíram para óbito antes que o exame pudesse ser realizado, e CíCré em 9 pacientes (casos 9, 64, 78, 93, 98, 132, 140, 143 e 145) e TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr em 10 pacientes (casos 9, 64, 78, 93, 98, 108, 132, 140, 143 e 145), pois não realizaram o exame.

As distribuições dos 70 e 69 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e valores de C1Cr e TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr, respectivamente, medidos antes e após tratamento com CDDP associada à RT estão apresentadas na **Tabelas 24**.

**Tabela 24.** Distribuições dos 70 e 69 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e valores de clearance de creatinina estimado e filtração glomerular, respectivamente, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	CICre (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )		N	TFG com EDTA- <sup>51</sup> Cr (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	
		Antes do tratamento	Após o tratamento		Antes do tratamento	Após o tratamento
		Média ± DP	Média ± DP		Média ± DP	Média ± DP
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>						
Arg/Arg+Arg/Pro*	63	91,3 ± 28,5	77,7 ± 24,4	62	83,9 ± 20,6	63,9 ± 21,6
Pro/Pro	7	89,1 ± 23,4	88,0 ± 21,9	7	80,0 ± 15,1	67,1 ± 13,9
Valor de <i>P</i>		0,15			0,43	
Arg/Arg*	32	92,7 ± 22,1	78,9 ± 25,7	32	90,6 ± 20,1	69,7 ± 21,6
Arg/Pro+Pro/Pro	38	89,7 ± 32,2	78,6 ± 23,3	37	77,3 ± 18,1	59,4 ± 19,3
Valor de <i>P</i>		0,33			0,81	
<b><i>Casp9</i> A-1263G</b>						
AA+AG	57	91,8 ± 28,4	79,3 ± 24,8	57	83,5 ± 19,5	64,0 ± 19,9
GG*	13	87,9 ± 26,7	76,1 ± 22,1	12	83,5 ± 23,4	65,4 ± 26,2
Valor de <i>P</i>		0,82			0,91	
AA	27	90,8 ± 19,7	79,0 ± 22,7	27	82,4 ± 19,6	65,9 ± 20,1
AG+GG*	43	91,2 ± 32,2	78,6 ± 25,4	42	84,2 ± 20,5	63,1 ± 21,5
Valor de <i>P</i>		0,94			0,17	
<b><i>Casp3</i> A-928G</b>						
AA+AG*	62	89,5 ± 28,8	78,1 ± 24,7	61	83,6 ± 20,6	63,4 ± 21,0
GG	8	102,9 ± 16,2	83,6 ± 21,3	8	82,3 ± 16,0	70,5 ± 20,3
Valor de <i>P</i>		0,33			0,13	
AA*	28	88,3 ± 34,4	76,8 ± 26,8	28	84,2 ± 21,2	61,5 ± 22,4
AG+GG	42	92,9 ± 22,9	80,0 ± 22,6	41	<b>82,4 ± 19,4</b>	<b>66,0 ± 19,9</b>
Valor de <i>P</i>		0,85			<b>0,04</b>	

(N) número de pacientes; (CICre) clearance de creatinina estimado; (TFG) taxa de filtração glomerular; (DP) desvio padrão; (\*) genótipo referência; Valores ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada, índice de massa corpórea, diabetes mellitus e hipertensão arterial. Os números de pacientes avaliados (n= 70, n= 69) diferem do total inserido no estudo (n= 90) pois parte dos nossos não realizou o CICre estimado e/ou a TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr, respectivamente, ao término da terapêutica

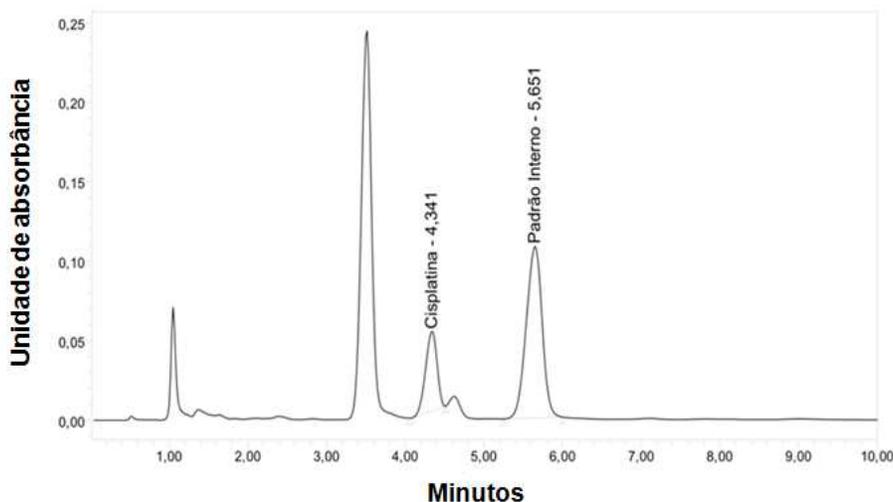
Observamos menor redução da TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr em pacientes com o genótipo *CASP3* -928AG ou *CASP3* -928GG do que em pacientes com o genótipo *CASP3* -928AA ( $82,4 \pm 19,4$  para  $66,0 \pm 19,9$  versus  $84,2 \pm 21,2$  para  $61,5 \pm 22,4$ ;  $P= 0,04$ ).

Valores similares de ClCr e TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr, medidos antes e após o tratamento, foram observados em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro e *CASP9* A-1263G.

## 6. Quantificação da cisplatina urinária

### 6.1. Padronização da técnica

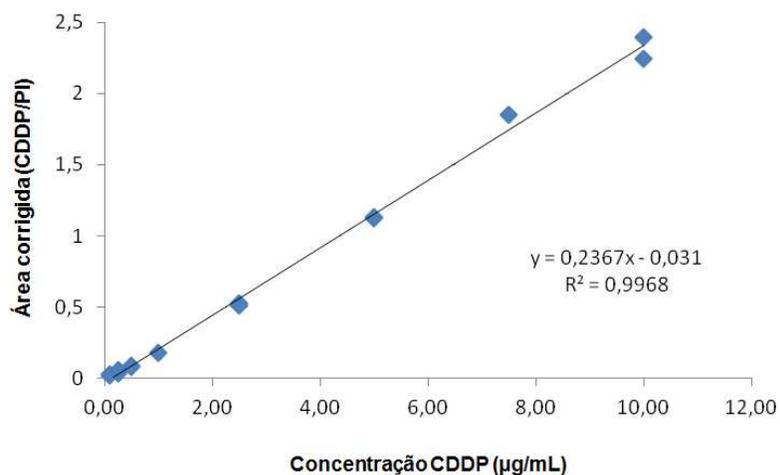
A identificação dos picos de CDDP e PI foi realizada após adição dos respectivos padrões em urinas de voluntários sadios que não fizeram uso de CDDP. Estes picos estão demonstrados na **Figura 9**.



**Figura 9.** Cromatograma de urina adicionada de padrão de cisplatina (CDDP) e padrão interno (PI). O pico de CDDP apresenta tempo de retenção de aproximadamente 4,3 minutos e o pico de PI apresenta tempo de retenção em aproximadamente 5,6 minutos

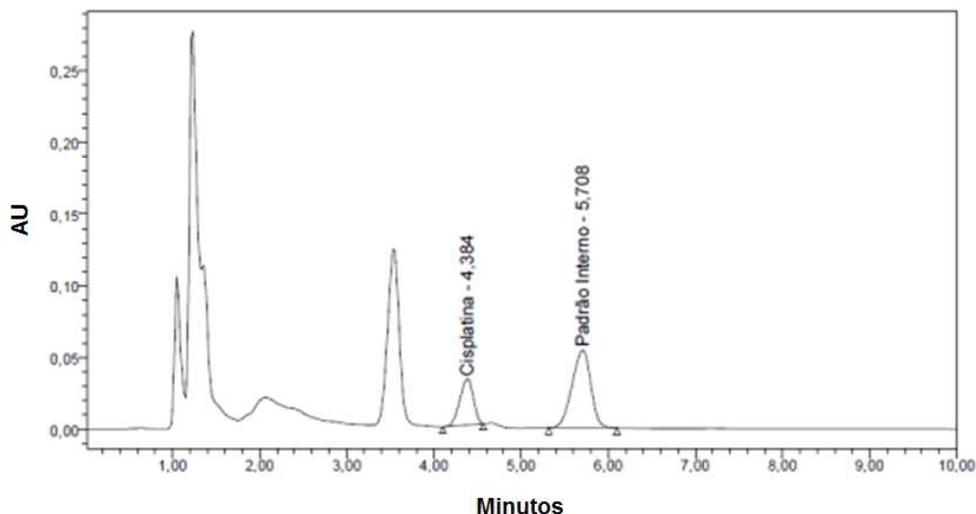
Os picos estão com boa resolução e, portanto, puderam ser utilizados para análise quantitativa de CDDP na urina dos pacientes. Observa-se que o pico que antecede o pico de CDDP é do derivatizante DDTC, e que existe um pico de contaminação subsequente ao pico de CDDP, porém, este pico não está sobreposto e, sendo assim, não interfere na análise da CDDP.

As áreas dos picos de CDDP, corrigidos pelas áreas dos picos de PI, foram utilizadas para a construção da curva padrão. Com os dados obtidos foi possível obter a equação da reta e o  $r^2$ , que foram utilizados para calcular as concentrações de CDDP na urina dos pacientes (**Figura 10**).



**Figura 10.** Apresentação gráfica da curva padrão desenvolvida, da equação da curva e do  $r^2$  (coeficiente de correção)

As amostras dos pacientes foram processadas da mesma forma que a curva padrão. Posteriormente, foram injetadas no cromatógrafo, o cromatograma foi integrado e a concentração da amostra foi calculada, utilizando-se a área dos picos de interesse comparados com as áreas obtidas na curva padrão. Um exemplo de quantificação da urina de um paciente está representado pela **Figura 11**.



	Nome do pico	TR	Área	% Área	Altura	Valor	Unidade
1	CDDP	4,384	346093	30,10	32220	10,746	µg/mL
2	PI	5,708	803883	69,90	54272	47,216	µg/mL

**Figura 11.** Cromatograma e dados utilizados para quantificação da cisplatina (CDDP) na urina

## 6.2. Concentração de CDDP urinária

Os valores das médias  $\pm$  DP da concentração de CDDP urinária em pacientes tratados com CDDP associada à RT, foi de 237,0 µg/mg  $\pm$  116,2.

A quantificação da CDDP urinária não foi possível em 32 dos nossos casos (casos 5, 6, 11, 19, 24, 31, 36, 39, 40, 45, 46, 57, 72, 78, 88, 90, 94, 103, 114, 120, 123, 125, 129, 132, 133, 135, 136, 137, 138, 140, 143 e 145), devido a erros na coleta das amostras.

As distribuições dos 58 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e os valores de CDDP urinária, durante o tratamento estão apresentados na **Tabela 25**.

**Tabela 25.** Distribuições dos 57 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e valores de cisplatina urinária durante o tratamento com cisplatina associada à radioterapia

Genótipo	N	Concentração de cisplatina urinária (µg/mg)
		Média ± desvio padrão
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>		
Arg/Arg+Arg/Pro*	50	235,1 ± 116,3
Pro/Pro	8	249,0 ± 123,1
Valor de <i>P</i>		0,52
Arg/Arg*	25	242,0 ± 119,6
Arg/Pro+Pro/Pro	33	233,2 ± 115,4
Valor de <i>P</i>		0,62
<b><i>Casp9</i> A1263G</b>		
AA+AG	45	234,7 ± 113,5
GG*	13	244,8 ± 129,9
Valor de <i>P</i>		0,64
AA	22	257,6 ± 106,7
AG+GG*	36	224,4 ± 121,5
Valor de <i>P</i>		0,54
<b><i>Casp3</i> A928G</b>		
AA+AG*	53	237,5 ± 116,9
GG	5	232,1 ± 122,0
Valor de <i>P</i>		NA
AA*	24	253,2 ± 135,1
AG+GG	34	225,6 ± 101,5
Valor de <i>P</i>		0,23

(N) número de pacientes; (\*) genótipo referência; (NA) não avaliado devido ao número reduzido de pacientes. Valores ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada, diabetes mellitus e hipertensão arterial. O número de pacientes avaliado (n=58) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois amostras inadequadas de urina foram obtidas em parte dos nossos casos

Médias similares de excreção urinária de CDDP, medidos antes e após o tratamento, foram observados em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G.

## 7. Avaliação da taxa de resposta após a terapêutica

### 7.1. Tomografia computadorizada do pescoço

As frequências das distribuições dos 72 pacientes de acordo com as taxas de respostas ao tratamento estão apresentadas na **Tabela 26**.

Informamos que não nos foi possível avaliar a taxa de resposta de 10 pacientes (casos 1, 6, 23, 40, 46, 48, 50, 106, 125 e 130), pois esses evoluíram para o óbito antes que o exame pudesse ser realizado e 8 pacientes (casos 60, 93, 98, 126, 132, 140, 143 e 145), pois não realizaram o exame.

**Tabela 26.** Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por tipos de resposta obtidas com tratamento com cisplatina associada à radioterapia

Taxa de resposta	Número de pacientes (%)
Resposta completa	15 (20,8)
Resposta parcial	52 (72,2)
Doença estável	5 (7,0)
Doença progressiva	0 (0,0)

O número de pacientes avaliado (n= 72) difere do total inserido no estudo (n= 90) pois parte dos pacientes não realizaram exame de imagem ao término da terapêutica

Observamos que maior parte dos nossos pacientes (cerca de 70%) apresentou resposta parcial ao tratamento com CDDP associada à RT. Resposta completa foi identificada em cerca de 20% dos nossos casos.

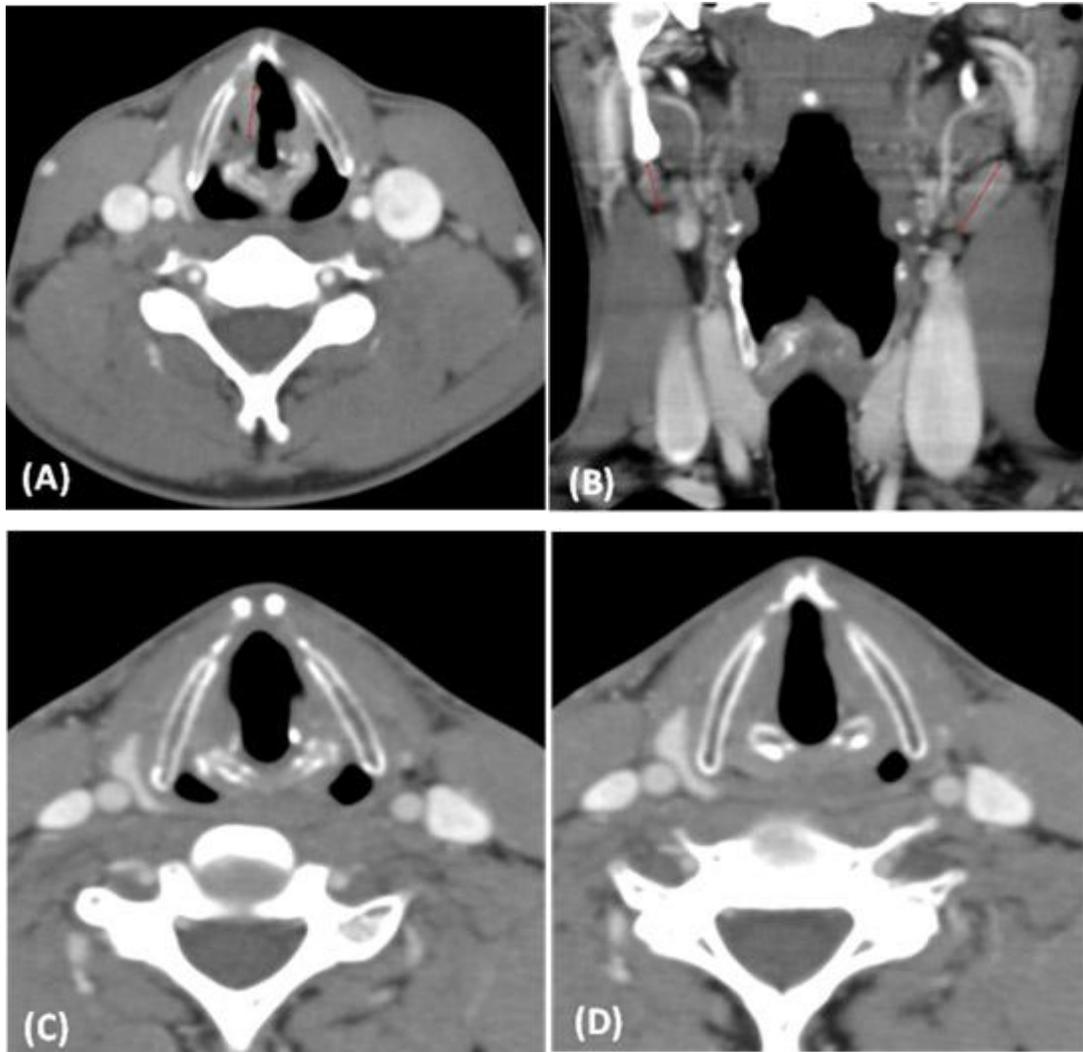
A evidente resposta clínica em região cervical em paciente com CCECP de faringe (caso 89) tratado com CDDP associada à RT está apresentada na **Figura 12**.

A resposta completa identificada por TC do pescoço em paciente com CCECP de laringe (caso 17) tratado com CDDP e RT está apresentada na **Figura 13**.

As frequências das distribuições dos 72 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e os tipos de resposta obtidas com o tratamento estão apresentadas na **Tabela 27**.



**Figura 12.** Paciente com carcinoma de células escamosas de faringe (caso 89). Proeminência cervical infra-auricular direita (conglomerado linfonodal metastático cervical) antes do tratamento pode ser vista nas figuras **(A)** e **(B)**. Regressão total de proeminência cervical, após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia, pode ser vista nas figuras **(C)** e **(D)**



**Figura 13.** Imagens obtidas antes e após o tratamento de paciente com carcinoma de células escamosas de laringe em cortes axiais e coronais de tomografia computadorizada de pescoço com contraste intravenoso (caso 17). Em imagens obtidas antes do tratamento, lesão vegetante levemente hipercaptante (11,24 mm de altura) em corda vocal direita pode ser vista nas figuras (A) e (B) e linfonodomegalia cervical bilateral (14,19 mm e 23,15 mm) na figura (C). Estrutura laríngea preservada, após tratamento com cisplatina associada à radioterapia, pode ser vista na figura (D)

**Tabela 27.** Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G e tipos de respostas à terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Genótipo	Taxa de resposta	
	Resposta Completa N (%)	Resposta parcial + doença estável N (%)
<b><i>P53</i> Arg72Pro</b>		
Arg/Arg+Arg/Pro*	14 (21,9)	50 (78,1)
Pro/Pro	1 (12,5)	7 (87,5)
Valor de <i>P</i>		0,76
OR (IC 95%)		1,49 (0,12 – 18,24)
Arg/Arg*	6 (18,7)	26 (81,3)
Arg/Pro+Pro/Pro	9 (22,5)	31 (77,5)
Valor de <i>P</i>		0,42
OR (IC 95%)		0,55 (0,13 – 2,33)
<b><i>Casp9</i> A1263G</b>		
AA+AG	14 (24,1)	44 (75,9)
GG*	1 (7,1)	13 (92,9)
Valor de <i>P</i>		0,19
OR (IC 95%)		0,21 (0,02 – 2,18)
AA	6 (20,7)	23 (79,3)
AG+GG*	9 (20,9)	34 (79,1)
Valor de <i>P</i>		0,87
OR (IC 95%)		1,16 (0,20 – 6,58)
<b><i>Casp3</i> A928G</b>		
AA+AG*	14 (21,9)	50 (78,1)
GG	1 (12,5)	7 (87,5)
Valor de <i>P</i>		0,72
OR (IC 95%)		1,57 (0,13 – 18,35)
AA*	6 (20,7)	23 (79,3)
AG+GG	9 (20,9)	34 (79,1)
Valor de <i>P</i>		0,96
OR (IC 95%)		0,96 (0,24 – 3,91)

(N) número de pacientes; (\*) genótipo referência; (OR) razão das chances ajustadas por idade, dose de cisplatina acumulada, índice de massa corpórea, local e diferenciação do tumor; (IC) intervalo de confiança. O número de pacientes avaliado no estudo (n= 72) difere do total (n=90) pois alguns pacientes não realizaram exame de imagem ao término da terapêutica

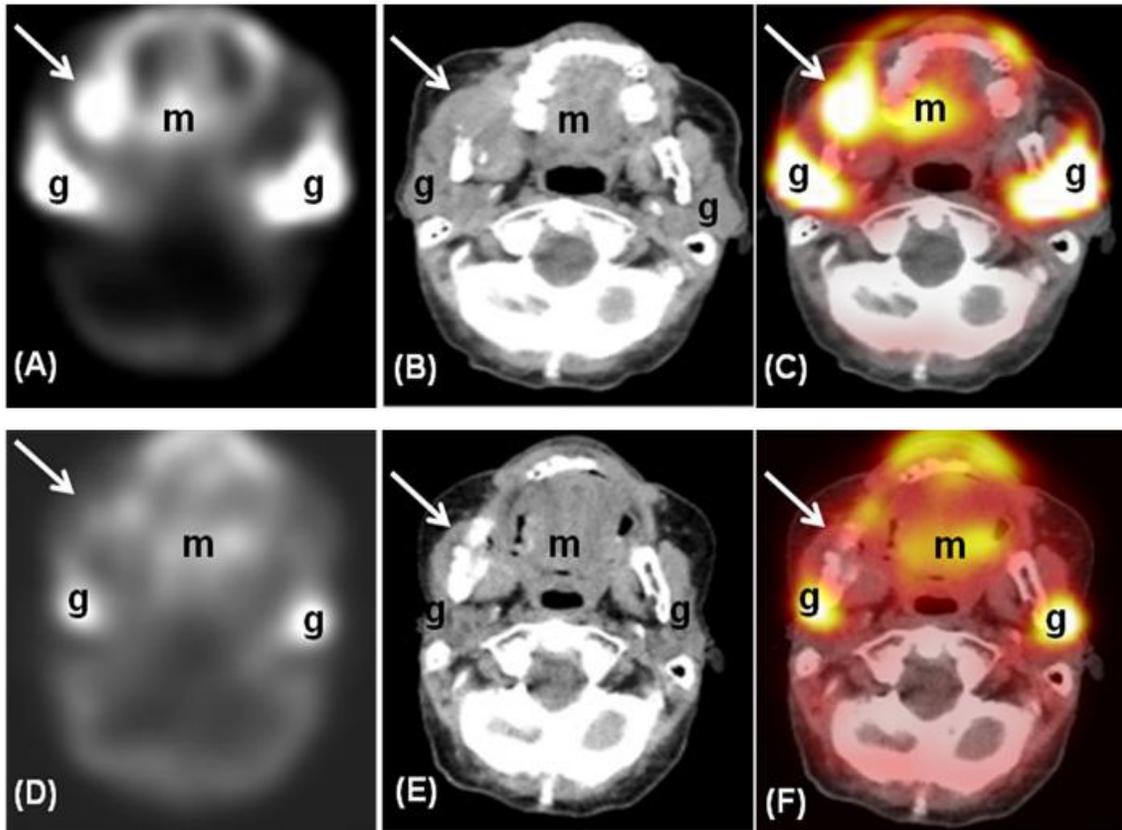
Frequências similares dos polimorfismos *P53 Arg72Pro*, *CASP9 A-1263G* e *CASP3 A-928G* foram observados em pacientes estratificados por taxas de respostas ao tratamento.

## **7.2. Tomografia computadorizada por emissão de fóton único do pescoço**

Observamos que todos os pacientes apresentaram resposta satisfatória de acordo com a captação tecidual do radiofármaco. Vale ressaltar que não foi possível avaliar a captação do radiofármaco por SPECT-TC de 42 pacientes (casos 1, 6, 8, 9, 16, 17, 20, 21, 23, 24, 26, 29, 31, 32, 33, 40, 46, 48, 50, 60, 62, 64, 69, 71, 78, 87, 89, 90, 93, 98, 99, 105, 106, 108, 111, 116, 125, 130, 132, 140, 143 e 145), pois esses evoluíram para o óbito antes de realizar os exames após o tratamento, ou perdeu seguimento, ou por apresentarem tumores em estágios I e II.

Uma vez que o SPECT-TC demonstrou não ser eficiente para avaliar taxa de resposta neste presente estudo, não foram realizadas as análises com os polimorfismos gênicos.

A resposta satisfatória identificada por SPECT-TC do pescoço em paciente com CCECP de cavidade oral (caso 5) tratado com CDDP associada à RT está apresentada na **Figura 14**.



**Figura 14.** Cortes transaxiais de (A) e (D) tomografia computadorizada do pescoço (TC) por emissão de fóton único (SPECT) com sestamibi-<sup>99m</sup>Tc, (B) e (E) TC do pescoço sem contraste e (C) e (F) fusão de SPECT com TC (SPECT-TC) do pescoço de paciente de carcinoma de células escamosas de cavidade oral (caso 5). Em imagens antes do tratamento (A), (B) e (C), evidencia-se acentuada hipercaptação do radiofármaco pelo tumor (→) e estruturas com captação fisiológica, como glândulas salivares (g) e musculatura ativa (m). O desaparecimento da captação do radiofármaco pelo tumor (→) indica resposta satisfatória após o tratamento com cisplatina e radioterapia (D) e (F)



Avaliamos neste estudo os papéis dos polimorfismos *P53 Arg72Pro*, *CASP9 A-1263G*, *CASP9 C-712T* e *CASP3 A-928G*, relacionados à indução de células à apoptose pela via intrínseca, na toxicidade, concentração urinária de CDDP e taxa de resposta ao tratamento de pacientes com CCECP com CDDP e RT.

Avaliamos inicialmente as características clínicas dos pacientes e biológicas do tumor a fim de verificar se a amostra era representativa da doença em nosso meio para, a seguir, verificar os papéis dos polimorfismos gênicos na toxicidade, excreção urinária de CDDP e resposta ao esquema terapêutico nesses pacientes.

### 1. Aspectos clínicos e do tumor

A distribuição dos nossos pacientes por idade mostrou que cerca de metade da nossa casuística foi constituída por pacientes com 56 anos ou mais velhos. A distribuição dos nossos pacientes por sexo e etnia mostrou que a maioria deles era do sexo masculino e caucasóides, conforme descrições prévias (ADELSTEIN *et al.*, 2003; CARLES *et al.*, 2006; QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006; DE CASTRO *et al.*, 2007; HITCHCOCK *et al.*, 2009; DE CASTRO *et al.*, 2011; LOURENÇO *et al.*, 2011; RADES *et al.*, 2011; WONG *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2013; OSMAN *et al.*, 2013).

Observamos que a maioria dos nossos pacientes era tabagista e etilista, à semelhança de dados da literatura (CARLES *et al.*, 2006; QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006; LOURENÇO *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2013). Já é bem conhecido que o tabagismo e a exposição ao álcool atuam de forma sinérgica no risco de desenvolvimento ao CCECP (LAMBERT *et al.*, 2011). O benzo(a)pireno do tabaco (HECHT *et al.*, 2003) e o acetaldeído de bebidas alcoólicas (HAYES *et al.*, 1991), são agentes químicos importantes relacionados com a origem do CCECP. O tabagismo e o etilismo podem também explicar a maior ocorrência do tumor em homens, tendo em vista que são hábitos mais comuns entre homens do que entre mulheres (MENDENHALL *et al.*, 2011).

A distribuição da localização, do grau de diferenciação e do estágio do tumor, mostrou predominância em tumor de faringe, particularmente em orofaringe, de tumor moderadamente diferenciado e de tumor de estágio IV. De acordo com estudos prévios, os CCECP mais prevalentes são os moderadamente diferenciados e extensos (estádio IV) (ADELSTEIN *et al.*, 2003; CARLES *et al.*, 2006; DE CASTRO *et al.*, 2007; HITCHCOCK *et al.*, 2009; DE CASTRO *et al.*, 2011; RADES *et al.*, 2011; WONG *et al.*,

2011; MARTINS *et al.*, 2013; OSMAN *et al.*, 2013). Em contrapartida, a maior prevalência entre os CCECP é de cavidade oral (DÖBROSSY, 2005; ALVARENGA *et al.*, 2008; CASATI *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012; INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014). Mesmo em estágios avançados, os tumores de cavidade oral tem a ressecção cirúrgica como conduta terapêutica de primeira linha, seguida da RT isolada e da combinação de quimioterapia e radioterapia. A terapêutica baseada em CDDP em associação à RT é indicada particularmente para pacientes com tumores irresssecáveis ou para pacientes cuja ressecção do tumor possa determinar importantes alterações funcionais e/ou estéticas; entre eles, os tumores de faringe são comuns (MENDENHALL *et al.*, 2008). Foram incluídos neste estudos, pacientes consecutivos que receberam tratamento com CDDP associada à RT em um serviço de Oncologia Clínica, e assim, a maior frequência de tumores de faringe já era esperada.

Observamos que o HPV não foi identificado em qualquer dos nossos pacientes. Infecções por HPV de alto risco, principalmente do tipo 16, foram associadas com o desenvolvimento de CCECP, particularmente em orofaringe. Estima-se que cerca de 26,0% e 35,6% dos pacientes com CCECP e de orofaringe apresentam o vírus em seus tumores, respectivamente (KREIMER *et al.*, 2005). Frequências variáveis da presença do HPV do tipo 16 em CCECP foram identificadas em estudos anteriores conduzidos em outras partes do mundo. O HPV do tipo 16 foi identificado em 50,0% dos casos de CCECP nos Estados Unidos (WILCZYNSKI *et al.*, 1998), 32,6% na Austrália (LI *et al.*, 2003), 47,1% na Alemanha (WITTEKINDT *et al.*, 2005) 40,7% na Holanda (HAFKAMP *et al.*, 2008) 53,3% na China (KUO *et al.*, 2008), 12,6% na Grécia (ROMANITAN *et al.*, 2008), 26,0% no Japão (DENG *et al.*, 2011), 53,0% no Reino Unido (THAVARAJ *et al.*, 2011) e 15,4% na Colômbia (QUINTERO *et al.*, 2013). Em contrapartida, menor frequência de DNA de HPV do tipo 16 (3,5%) já foi descrita em amostras de pacientes brasileiros com CCECP (LÓPEZ *et al.*, 2014).

A explicação para as diferenças da presença de HPV do tipo 16 em CCECP em brasileiros e em pacientes de outras partes do mundo não é clara. Acredita-se que a disparidade entre os resultados obtidos em estudos prévios possa ser atribuída a diferenças no comportamento sexual de indivíduos de diversas partes do mundo, particularmente decorrentes da prática do sexo oral, que aumenta a exposição das mucosas da região da cabeça e pescoço à infecção pelo HPV do subtipo 16 (CURADO & HASHIBE, 2009; LAMBERT *et al.*, 2011). Mas, até onde atinge o nosso conhecimento, não há descrições prévias consistentes sobre diferenças na prática do sexo oral em países

diversos. Além disso, o CCECP com presença de HPV é mais comum em pacientes jovens, devido principalmente a hábitos sexuais (SHIBOSKI *et al.*, 2005; EL-MOFTY, 2007; CHATURVEDI, 2012) mas, pacientes jovens também estiveram presentes em nosso estudo (quatro pacientes estavam com idade menor ou igual a 40 anos).

A imunohistoquímica com o anticorpo anti-p16 é uma técnica de triagem amplamente empregada para detecção do HPV do tipo 16, uma vez que o vírus geralmente promove aumento da expressão da proteína p16 no tecido epitelial infectado, durante seu ciclo viral (DYSON *et al.*, 1989; MUNGER *et al.*, 1989; KHLEIF *et al.*, 1996; OLSHAN *et al.*, 1997; WIEST *et al.*, 2002; HAFKAMP *et al.*, 2003; KLUSSMANN *et al.*, 2003). Entretanto, esta técnica isolada torna-se inadequada para diagnóstico do vírus, uma vez que alguns casos de CCECP que podem ocorrer alterações genéticas (PEREZ-ORDOÑEZ *et al.*, 2006) e epigenéticas (FARIAS *et al.*, 2010; FONSECA-SILVA *et al.*, 2012), que levam a falsos resultados positivos. De fato, cerca de 15-20% dos casos de tumores de orofaringe p16 positivos são HPV16 negativos, com o uso de técnicas mais sensíveis, como a hibridização *in situ* (SINGHI & WESTRA, 2010; ROBINSON *et al.*, 2012). A hibridização *in situ* é considerada, no momento, a técnica mais específica para determinar se realmente há presença do vírus em casos p16 positivos obtidos na imunohistoquímica (MILLER & WHITE, 1996; SINGHI & WESTRA, 2010). O HPV do tipo 16 foi identificado em número significativo de pacientes com CCECP em estudos conduzidos outros países, seja por imunohistoquímica (WILCZYNSKI *et al.*, 1998; LI *et al.*, 2003; WITTEKINDT *et al.*, 2005) ou por imunohistoquímica e hibridização *in situ* (HAFKAMP *et al.*, 2008; KUO *et al.*, 2008; THAVARAJ *et al.*, 2011). Nós investigamos a presença do HPV do subtipo 16 por ambas as técnicas em nossas amostras, conforme o recomendado, e não identificamos o vírus em qualquer dos casos. Assim, a disparidade entre os resultados obtidos da presença do HPV do subtipo 16 em CCECP em nosso estudo e em estudos prévios não parece ser atribuída a diferenças de técnicas empregadas na identificação do vírus. Acreditamos que a infecção pelo HPV do tipo 16 não parece ter maior importância na origem de nossos casos de CCECP; é possível que o consumo de tabaco e álcool ainda sejam os principais agentes etiológicos para o tumor em nossa região. De fato, tabaco e álcool foram identificados de forma consistente em mais de 90% dos nossos pacientes.

Estes resultados, em seu conjunto, indicam que a amostra foi representativa da doença em nosso meio.

## **2. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos**

Identificamos, no presente estudo, os genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro (SUMMERSGILL *et al.*, 2000; NAGPAL *et al.*, 2002; KATIYAR *et al.*, 2003; HSIEH *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2007; KUDORA *et al.*, 2007; CHEN *et al.*, 2008; LIN *et al.*, 2008; TU *et al.*, 2008; IHSAN *et al.*, 2011; YU *et al.*, 2011), *CASP9* A-1298G (PARK *et al.*, 2006; GANGWAR *et al.*, 2009; THEODOROPOULOS *et al.*, 2010; LIAMARKOPOULOS *et al.*, 2011; THEODOROPOULOS *et al.*, 2011; THEODOROPOULOS *et al.*, 2012;) e *CASP3* A-928G (JANG *et al.*, 2008) com frequências similares às obtidas em outras partes do mundo.

Apenas o genótipo homozigoto selvagem do polimorfismo *CASP9* C-712T foi encontrado em nossos casos. Os genótipos CC, CT e TT foram identificados em 75-53%, 40-23% e 6-2% dos indivíduos saudáveis de populações diversas, respectivamente (PARK *et al.*, 2006; LEE *et al.*, 2010; GUO *et al.*, 2011; THEODOROPOULOS *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2013). Entretanto, os genótipos CC e CT foram identificados em 97,4% e 2,6% e os alelos C e T foram identificados em 98,7% e 1,3% de indivíduos da Nigéria, Japão, China e Estados Unidos (Projeto Internacional HapMap, 2010).

Polimorfismos são definidos como variantes genéticas presentes na população geral com frequência maior que 1% e menor que 100%. Já é de muito conhecido que as frequências dos genótipos de um determinado polimorfismo são distintas em populações de diferentes raças (SCHAFER & HAWKINS, 1998).

A população brasileira é altamente heterogênea e composta predominante por indivíduos miscigenados (PENA *et al.*, 2011), o que não nos permite afirmar com precisão a origem étnica de nossos pacientes. Acreditamos que o alelo variante (T) do polimorfismo *CASP9* C-712T possua uma frequência muito baixa em nossa população; por isso não foi possível encontrar os genótipos heterozigoto e variante em nossas análises.

## **3. Toxicidade ao esquema terapêutico**

### **3.1. Náuseas e vômitos**

Observamos que cerca de 70% e 45% dos nossos pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT apresentaram náusea e vômitos dos graus 1 ou 2, respectivamente.

Náuseas e vômitos são eventos comuns relacionados com o uso de quimioterápicos. A CDDP tem grande poder emetogênico, sendo capaz de promover êmese em cerca de 90% dos pacientes que não façam uso de antieméticos (HESKETH *et al.*, 1997; ASHP Therapeutic Guidelines, 1999; KOELLER *et al.*, 2002; ROILA *et al.*, 2006).

Os mecanismos desencadeados pela CDDP para indução de náuseas e vômitos estão bem estabelecidos. Os adutos inter e intracadeias e radicais livres, produzidos pela CDDP, danificam as células enterocromafins do intestino delgado e promovem a liberação de serotonina por exocitose. Este neurotransmissor ativa os receptores de serotonina, gerando um estímulo aferente que transmite o sinal para a zona de gatilho quimiorreceptora (CTZ) e centro do vômito, localizadas no bulbo, próximo ao núcleo do trato solitário. Posteriormente, a via eferente é acionada gerando o reflexo do vômito e a êmese aguda (HESKETH, 2008).

Outros neurotransmissores e seus receptores estão envolvidos na êmese tardia associada à CDDP, como a dopamina, a histamina, as prostaglandina e a substância P (HESKETH *et al.*, 2003a).

Em nosso estudo, utilizamos metoclopramida e dexametasona, como antieméticos do protocolo principal, e ondansetrona por via intravenosa antes da infusão de CDDP. A metoclopramida é um fármaco da classe dos antagonistas de receptores dopaminérgicos, amplamente empregado na anti-êmese relacionada ao uso de quimioterápicos, atuando nestes receptores na CTZ. Além disso, diminui a sensibilidade dos nervos aferentes viscerais que transmitem impulsos a partir do trato gastrointestinal para o centro do vômito (BADELL *et al.*, 2006; RANG & DALE, 2012). Já os mecanismos de ação da dexametasona como antiemético são incertos. Supõe-se que este fármaco consiga inibir prostaglandinas e conseqüentemente, o estímulo das fibras que levam à ativação do centro do vômito. Parece também atuar sobre a inflamação peritumoral decorrente do tratamento (HO *et al.*, 2010). A ondansetrona tem atividade antagônica nos receptores serotoninérgicos, eliminando os efeitos de náuseas e vômitos desencadeados pela atuação da serotonina nestes receptores presentes na CTZ (HO & GAN, 2006; RANG & DALE, 2012).

No estudo de KRIS *et al.* (1985), náuseas e vômitos foram observados em 78,0% e 60,0% dos pacientes, respectivamente, após receberem CDDP e terapia antiemética com metoclopramida e dexametasona no momento da QT. Já DE CASTRO *et al.* (2007) verificaram náuseas e vômitos dos graus 1 ou 2 em 47,0% e 57,0% dos pacientes com

CCECP tratados com CDDP e suporte antiemético, respectivamente. No presente estudo identificamos náusea e vômitos com frequências próximas às descritas por DE CASTRO *et al.* (2007), o que indica que a terapêutica anti-emética utilizada em nosso estudo foi adequada.

O genótipo variante ProPro do polimorfismo *P53* Arg72Pro foi associado a maior ocorrência de vômitos dos graus 2, 3 ou 4 em nossos casos. Portadores desse genótipo tiveram chance 14,46 vezes maiores de apresentarem vômitos do que os pacientes com os genótipos heterozigoto e variante do gene. O polimorfismo *P53* Arg72Pro não influenciou a ocorrência de vômitos em pacientes com câncer de ovário tratados à base de CDDP (KHRUNIN *et al.*, 2010; KHRUNIN *et al.*, 2012).

O polimorfismo *P53* Arg72Pro altera a atividade biológica da proteína P53. A proteína codificada pelo alelo selvagem Arg foi descrita como mais eficaz para induzir apoptose do que a proteína codificada pelo alelo Pro (DUMONT *et al.*, 2003).

Quando o dano ao DNA pela CDDP é irreparável, ocorre ativação de várias proteínas de reconhecimento de danos. Uma das proteínas ativadas é a P53, que induz a ativação da proteína Bax do citosol à mitocôndria, onde ocorre uma cascata de eventos envolvendo a liberação de fatores apoptogênicos (como o citocromo c), os quais ativam as CASP9 e CASP3, resultando em apoptose das células lesadas (SIDDIK, 2003). Assim, pacientes com o genótipo *P53* 72ProPro têm menor capacidade de induzir apoptose das células enterocromafins e possivelmente proporciona maior ocorrência de náuseas e vômitos, uma vez que a liberação de serotonina por exocitose demanda de vários eventos celulares que acontecem somente em células eucarióticas vivas (ALBERTS *et al.*, 2008; SILVERTHORN, 2010). Dessa forma, o aumento da interação do neurotransmissor com o seu receptor, gera estímulos na CTZ e no CV e náuseas e vômitos.

Frequências similares dos polimorfismos *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G foram observados em nossos pacientes com CCECP estratificados por graus de náuseas e vômitos. Até onde atinge os nossos conhecimentos, não há estudos que associem tais polimorfismos com câncer e náuseas e vômitos com CDDP e RT. Novamente, seria esperado que os genótipos relacionados com menor capacidade de indução à apoptose, como o *CASP9* -1263AA e o *CASP3* -928GG, pudessem ter efeito protetor sobre as células enterocromafins, tendo como consequência maior liberação de serotonina e maior ocorrência de náuseas e vômitos. É possível que a magnitude do comprometimento da apoptose de células enterocromafins lesadas pela CDDP em pacientes com os genótipos

distintos dos referidos polimorfismos não tenha sido suficiente para determinar diferenças de ocorrência de náuseas e vômitos durante o tratamento em nossa amostra.

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que apenas o polimorfismo *P53* Arg72Pro está associado a vômitos em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT. Acreditamos que estudos adicionais são necessários para definir os reais papéis dos demais polimorfismos gênicos na êmese induzida pela CDDP.

Caso seja confirmada a associação do genótipo o *P53* 72ProPro com a maior ocorrência de vômitos em pacientes com CCECP durante terapêutica com CDDP, pacientes com este genótipo podem ser candidatos para receber terapêutica com antieméticos mais potentes, como o aprepitante (HESKETH *et al.*, 2003b).

### **3.2. Mielossupressão**

Observamos que cerca de 80,0%, 60,0%, 40,0%, 47,6% e 35,0% dos nossos pacientes apresentaram anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia e plaquetopenia de graus 1 ou 2, respectivamente. Já DE CASTRO *et al.* (2007) identificaram anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia e plaquetopenia de graus 1 ou 2 em 50,0%, 13,0%, 6,0%, 40,0% e 13,0% dos pacientes com CCECP tratados com esquema terapêutico semelhante ao nosso, baseado em CDDP associada à RT. Assim, maior mielossupressão foi observada em nossos casos. É possível que a maior mielossupressão observada em nossos achados possa ser atribuída a desnutrição de nossos pacientes, uma vez que IMC insatisfatório (< 18,5) caracterizou metade da nossa casuística no momento do diagnóstico. Já é bastante conhecido que a deficiência nutricional pode levar a hipoplasia medular, pois proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais são essenciais para a produção, diferenciação e maturação celular durante a hematopoiese (BORELLI *et al.*, 2004).

Mielossupressão é comum durante terapêutica com CDDP. Cerca de 20-30% dos pacientes que recebem o quimioterápico apresentam tal toxicidade (BC CANCER AGENCY CANCER DRUG MANUAL, 1994; CHU *et al.*, 2013). Anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia e plaquetopenia podem ser vistas após a administração de doses maiores que 50 mg/m<sup>2</sup> de CDDP (BC CANCER AGENCY CANCER DRUG MANUAL, 1994; DE CASTRO *et al.*, 2007; CHU *et al.*, 2013) mas, em geral, são discretas ou moderadas (RABIK & DOLA, 2007). O mecanismo para mielossupressão pelo uso de CDDP não está totalmente esclarecido. A hipótese mais plausível para mielotoxicidade atribuída ao quimioterápico é a capacidade de formar adutos de DNA e gerar radicais

livres que lesam em células progenitoras hematopoiéticas (WEIJL *et al.*, 2004), induzindo-as à apoptose.

Supõe-se também que a nefrotoxicidade relacionada a CDDP esteja envolvida com toxicidade a eritrócitos, uma vez que diminui a secreção de eritropoietina (WOOD & HRUSHESKY, 1995), hormônio importante para o controle da eritropoiese, produzido principalmente nos rins (JACOBSON *et al.*, 1957). Anemia associada ao uso de CDDP pode ser determinada por hipoplasia medular, deficiência de eritropoietina secundária a nefrotoxicidade ou hemólise (DLOTT *et al.*, 2004; GAO *et al.*, 2006; HORIGUCHI *et al.*, 2006; VANDENDRIES & DREWS, 2006; WANG *et al.*, 2010; SON *et al.*, 2011; GAO *et al.*, 2013). Já a leucopenia, a neutropenia e a plaquetopenia são determinadas por hipoplasia medular induzida pelo fármaco (LINK, 2012).

Frequências similares dos genótipos dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G foram observadas em pacientes com CCECP estratificados por graus de mielossupressão.

Corroborando com os nossos achados, Khrunin (2012) também não observou associação com o polimorfismo *P53* Arg72Pro com anemia, neutropenia e plaquetopenia em pacientes com câncer de ovário que receberam terapêutica à base de CDDP. Em contraste, o genótipo variante do polimorfismo *P53* Arg72ProPro foi associado com neutropenia severa em câncer de ovário tratado à base de CDDP, mas não foi associado com anemia e plaquetopenia (KHRUNIN *et al.*, 2010). Até onde atinge o nosso conhecimento, não há estudos que associem os polimorfismos *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G com câncer e mielossupressão com CDDP e RT.

Seria esperado em nosso estudo que os genótipos relacionados com maior apoptose, como o *P53* 72ArgArg, *CASP9* -1263GG e o *CASP3* -928AA, pudessem induzir apoptose de células da medula óssea, com conseqüente citopenias. Novamente, é possível que a magnitude do comprometimento da apoptose em células progenitoras hematopoiéticas lesadas pela CDDP em pacientes com os genótipos distintos dos referidos polimorfismos não tenha sido suficiente para determinar diferenças de mielossupressão durante o tratamento nesta amostra.

Os resultados do nosso estudo sugerem que os polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G não atuem como moduladores de mielotoxicidade em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT mas, acreditamos que tais achados necessitam confirmação em estudos adicionais.

### 3.3. Ototoxicidade

Observamos que a maior parte dos nossos pacientes apresentou maior redução dos limiares auditivos nas frequências 3, 4, 6 e 8 kHz, em ambas as orelhas, e ototoxicidade dos graus 1 a 3. Também observamos que ototoxicidade do grau 3 caracterizou cerca de 30% dos nossos pacientes após o tratamento com CDDP e RT.

O efeito ototóxico da CDDP se deve ao fato de ocasionar lesões nas células ciliadas externas cocleares, na espira basal da cóclea (MCALPINI & JOHNSTONE, 1990) e discreto acometimento das células ciliadas internas (FAUSTI *et al.*, 1993). A formação de radicais livres (HUSAIN *et al.*, 2001), a ativação de vias de apoptose (HUANG *et al.*, 2002) e a inibição na transdução dos canais de cálcio (STENGES *et al.*, 1998), são mecanismos que acarretam a ototoxicidade. Ainda, a RT associada à CDDP tem efeito potencializador, causando maior aumento dos limiares auditivos tonais após tratamento (DELL'ARINGA *et al.*, 2009).

A ototoxicidade de graus 2 e 3 foi observada em cerca de 50% dos nossos pacientes que puderam ser avaliados após o terapêutica com CDDP e RT. Outros estudos relataram deficiência auditiva, principalmente em frequências sonoras altas (a partir de 4 kHz) em 45-65% dos pacientes com CCECP submetidos a tratamento com CDDP à associada RT (KWONG *et al.*, 1996; BERTOLINI *et al.*, 2004; OH *et al.*, 2004; CHAN *et al.*, 2009; DELL'ARINGA *et al.*, 2009).

Os sons comuns apresentam uma ampla gama de frequências. A fala cotidiana apresenta frequências que variam de 0,3 a 3 kHz (BESS & HUMES, 1998; FROTA, 2003), sendo a de 3 kHz a mais relevante (HARRIS *et al.*, 1960). Perdas auditivas nestas frequências implicam na dificuldade da percepção dos sons da fala, compreensão de sua inteligibilidade e o processo de comunicação de seu portador (RUSSO *et al.*, 2009). Além disso, a deterioração da sensibilidade auditiva e problemas associados a compreensão da fala podem produzir uma série de complicações psicossociais, afetando a qualidade de vida diária do indivíduo. Portadores de deficiência auditiva mais velhos geralmente apresentam saúde geral ruim, mobilidade reduzida, menos contatos interpessoais, maior depressão, ansiedade e tensão (BESS & HUMES, 1998).

A ototoxicidade por CDDP geralmente se manifesta como zumbido e perda auditiva neurossensorial (BOKEMEYER *et al.*, 1998), com início em frequências sonoras altas (a partir de 3 kHz), mas que se estende para frequências sonoras baixas (1,5 e 2 kHz), as quais são importantes para a percepção da fala (BIRO *et al.*, 2006).

Tendências a aumentos discretos de limiares auditivos após terapêutica foram identificadas em pacientes com o genótipo ProPro do polimorfismo *P53* Arg72Pro comparados com pacientes com os demais genótipos, em orelha direita, nas frequências 0,25 e 0,50 kHz. Tendência a redução discreta de limiares auditivos após terapêutica foi identificada em pacientes com o genótipo AA ou AG do polimorfismo *CASP9* A-1263G comparados com pacientes com o genótipo GG, em orelha direita, na frequência 1 kHz. Entretanto as medidas de limiares auditivos em ambas situações estiveram dentro da normalidade (<25 dB) e possivelmente foram desprovidas de significado clínico para os respectivos pacientes.

Aumento discreto de limiares auditivos após terapêutica foram observados em pacientes com o genótipo GG do polimorfismo *CASP3* A-928G comparados com pacientes com os demais genótipos, em orelha direita, na frequência 2 kHz. Novamente as medidas de limiares auditivos estiveram próximos do limite de normalidade (25 dB) e possivelmente foram desprovidas de significado clínico para os portadores dos respectivos genótipos.

Observamos tendência a menor perda auditiva após terapêutica com CDDP e RT, em pacientes com os genótipos AG ou GG do polimorfismo *CASP3* A-928G comparados a pacientes com o genótipo AA, em orelha esquerda, nas frequências de 3 kHz e 4 kHz. Indivíduos com redução de acuidade auditiva nestas frequências têm dificuldade principalmente na percepção dos sons da fala, compreensão de sua inteligibilidade e o processo de comunicação de seu portador (RUSSO *et al.*, 2009). Ainda, perdas unilaterais de acuidade auditiva pode mascarar o sinal de fala na presença de ruído ambiental e dificulta a localização sonora (LIEU, 2004).

A CDDP interage com os tecidos cocleares levando as enzimas antioxidantes a exaustão diminuindo suas atividade, assim permitindo que espécies reativas de oxigênio seja acumulada nas células cocleares. Isto pode levar ao influxo de cálcio prejudicando a bioenergética mitocondrial, fatores apoptogênicos são liberados, como o citocromo C, que por sua vez pode ativar a *CASP9* e *CASP3*, resultando na degradação do DNA e levando a morte celular e déficit auditivo (RYBAK *et al.*, 2007). Estudos em animais e em cultura de células observou que níveis da atividade e a expressão da proteína *CASP3* foram aumentados após o tratamento com CDDP nos tecidos cocleares (GARCÍA-BERROCAL *et al.*, 2007; CHO *et al.*, 2014). A *CASP3* codificada pelo alelo variante G do polimorfismo *CASP3* A-928G é menos efetiva na indução de apoptose do que a proteína codificada pelo alelo selvagem A (JANG *et al.*, 2008). Assim, é possível que induza menos a

apoptose das células ciliadas internas e externas cocleares lesadas pela CDDP e, dessa forma, protejam indivíduos tratados com CDDP e RT da ototoxicidade.

Frequências similares dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G em pacientes com CCECP estratificados por grau de ototoxicidade. Em estudo prévio também não foi observado associação com o polimorfismo *P53* Arg72Pro com a ototoxicidade e tratamento à base de CDDP em pacientes com câncer de ovário (KHRUNIN *et al.*, 2010; KHRUNIN *et al.*, 2012), corroborando com os nossos achados. Entretanto, até onde atinge o nosso conhecimento, desconhecemos estudos que envolvam os polimorfismos *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G com câncer e a ototoxicidade, após tratamento com CDDP.

Assim, os resultados do nosso estudo sugerem que apenas o polimorfismo *CASP3* A-928G, entre os avaliados nesse estudo, modula a ototoxicidade em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT. Entretanto, estes resultados necessitam confirmação por estudos adicionais.

### **3.4. Nefrotoxicidade**

A nefrotoxicidade por CDDP é um processo multifatorial. A exposição das células tubulares à CDDP ativa vias de sinalização (MAP quinase, estresse oxidativo, apoptose intrínseca e extrínseca), as quais promovem a morte celular. A CDDP também induz a produção de fator de necrose tumoral, que desencadeia resposta inflamatória e contribui para a lesão das células tubulares renais. Ainda, a CDDP também pode induzir lesão na vasculatura renal, resultando na diminuição do fluxo sanguíneo e lesão isquêmica dos rins. Juntos, estes eventos determinam a disfunção renal (PABLA & DONG, 2008).

No presente estudo, observamos que as médias de ClCr e da TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr dos nossos pacientes, antes e após o tratamento, foram de 91,1 e 78,7 mL/min/1,73m<sup>2</sup> e 83,4 e 64,2 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, respectivamente. Assim, observamos redução de 13,6% no ClCr e de 23,0% na TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr em nossos casos. Dosagens de Cr, bem como o ClCr, são limitados para a determinação da injúria renal por CDDP (JONHSON & O'DWYER, 2005). A TFG medida com EDTA-<sup>51</sup>Cr é considerada o método mais preciso para a avaliação efetiva da função renal, sendo provavelmente a maneira mais apropriada de avaliar as variações da função renal medidas antes e após o tratamento com CDDP, conforme já demonstrado em outras situações clínicas (BARROS *et al.*, 2006; HARTLEV *et al.*, 2012).

O alelo variante G do polimorfismo *CASP3* A-928G esteve associado a menor redução de TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr após tratamento do CDDP e RT em nosso estudo. A CDDP acumula-se na mitocôndria das células renais prejudicando a bioenergia mitocondrial, aumentando a geração de espécies reativas de oxigênio, diminuindo a absorção de cálcio na mitocôndria e provocando a liberação de fatores apoptogênicos (como o citocromo c), os quais ativam as *CASP9* e *CASP3*, resultando em apoptose celular (SANTOS *et al.*, 2008). Em estudo animal observou-se que a proteína *CASP3* teve seus níveis de atividade e expressão aumentados em células renais tratados com CDDP (CUMMINGS & SCHNELLMANN, 2002; JU *et al.*, 2014). O alelo variante (G) do polimorfismo *CASP3* A-928G, codifica uma proteína com menor atividade na indução da apoptose (JANG *et al.*, 2008), e assim, parece proteger indivíduos da nefrotoxicidade por CDDP.

Não observamos associações dos polimorfismos *P53* Arg72Pro e *CASP9* A-1298G com nefrotoxicidade. Também não foi observada associação do polimorfismo *P53* Arg72Pro com nefrotoxicidade em pacientes tratados à base de CDDP em câncer de ovário (KHRUNIN *et al.*, 2010; KHRUNIN *et al.*, 2012), corroborando com os nossos achados. Entretanto, desconhecemos estudos que envolvam o polimorfismo *CASP9* A-1263G com câncer e nefrotoxicidade, após tratamento com CDDP.

Os nossos resultados sugerem que apenas o polimorfismo *CASP3* A-928G, entre os polimorfismos avaliados no estudo, atue como modulador de nefrotoxicidade em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT. Entretanto, nossos resultados exigem confirmação em estudos adicionais sobre o assunto.

#### **4. Concentração de CDDP urinária**

A média de concentração de CDDP urinária (237,0 µg/mg) identificada no período de 0 a 48 horas após a infusão da CDDP em nosso estudo, condiz com os achados presentes na literatura. LITTEREST *et al.* (1976 e 1977) demonstraram que cerca de 50% do quimioterápico é eliminado na urina nas primeiras 24 horas. GULLO *et al.* (1980) mostraram que 26 a 50% da CDDP administrada, é excretada na urina em 48 horas. Ainda, SIDDIK *et al.* (1988) observaram que a maior parte da CDDP é excretada no primeiro dia após a infusão e que 52% da CDDP é eliminada na urina nos três dias subsequentes.

A CDDP se une à proteínas plasmáticas e, a seguir, difunde para os tecidos (DE CONTI *et al.*, 1973; HIMMELSTEIN *et al.*, 1981). De acordo com descrições prévias,

sabe-se que 23% a 40% da CDDP é identificada na urina 24 horas após a infusão do quimioterápico e somente uma pequena porcentagem é excretada pela bile (JOHNSON & O'DWYER, 2005).

Médias similares dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G foram observados em pacientes estratificados por concentração do quimioterápico na urina. Até o momento, não encontramos trabalhos que relacionem os referidos polimorfismos com a concentração de CDDP urinária.

As proteínas *P53* e *CASP3* codificadas pelos alelos variante dos polimorfismos *P53* Arg72Pro e *CASP3* A-928G e a proteína *CASP9* codificada alelo selvagem do polimorfismo *CASP9* A-1263G, têm menores potenciais de apoptose celular (DUMONT *et al.*, 2003; PARK *et al.*, 2006; JANG *et al.*, 2008; THEODOROPOULOS *et al.*, 2011). Assim, é possível que as células lesadas não sejam induzidas à apoptose, com a consequente diminuição da liberação de CDDP. Assim, seriam esperado menores concentrações urinárias de CDDP em pacientes com os referidos genótipos desses polimorfismos, mas tais resultados não foram observados em nosso estudo. É possível que a magnitude do comprometimento na apoptose da célula causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos desses polimorfismos não seja suficiente para tal determinação. Outra possibilidade é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar diferenças de concentração de CDDP urinária em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos gênicos. Assim, os resultados do nosso estudo sugerem que os polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G não influenciam a excreção urinária de CDDP em pacientes com CCECP.

## **5. Avaliação da taxa de resposta após terapêutica**

### **5.1. Tomografia computadorizada do pescoço**

Observamos que cerca de 20% e 70% dos nossos pacientes apresentaram respostas completa e parcial, respectivamente, ao tratamento com CDDP associada à RT. A CDDP associada à RT tem sido utilizada no tratamento de pacientes com CCECP avançado, porém com relativa taxa de resposta (ADELSTEIN *et al.*, 2003). Descrições prévias em diferentes países demonstraram que as respectivas respostas, foram identificadas em aproximadamente 20,0% e 40,0% no Brasil (DE CASTRO *et al.*, 2007), 22-83% e 16-49% na Índia (ASIF *et al.*, 2003; VIVEK *et al.*, 2006; KANOTRA *et al.*, 2011; MITRA *et al.*, 2011; DIMRI *et al.*, 2013; DUTTA *et al.*, 2013), 60,0% e 23,0% no Egito

(RAAFAT *et al.*, 2012), 20,0% e 60,0% nos Estados Unidos (MORTIMER *et al.*, 1988), 45-66,0% e 22-31,0%% na Espanha (MEDINA *et al.*, 2006; QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006), 66,0% e 34,0% na Alemanha (WOLFF *et al.*, 2009) 59,0% e 14,0% na Suíça (SCHLUMPF *et al.*, 2013) e 65,9% e 34,1% na Macedônia (KRSTEVSKA *et al.*, 2010) em pacientes com CCECP tratados com CDDP associada à RT. Em relação ao CCECP, diferenças socioeconômicas podem se manifestar em diversos aspectos de seu perfil epidemiológico, bem como resposta ao tratamento. Geralmente, em países em desenvolvimento, as dificuldades de acesso ao serviço de saúde adequado podem resultar em maiores proporções de diagnósticos tardios e, conseqüentemente, piores prognósticos (CARVALHO *et al.*, 2004; CONWAY *et al.*, 2008), o que justificam em partes nossos achados.

Frequências similares dos polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G em pacientes estratificados por taxas de respostas ao tratamento.

Acredita-se que as proteínas *P53* e *CASP3* codificadas pelos alelos variante dos polimorfismos *P53* Arg72Pro e *CASP3* A-928G e a proteína *CASP9* codificada alelo selvagem do polimorfismo *CASP9* A-1263G, têm menores potenciais de apoptose celular (DUMONT *et al.*, 2003; PARK *et al.*, 2006; JANG *et al.*, 2008; THEODOROPOULOS *et al.*, 2011). Assim é possível que induzam menos a apoptose em resposta à CDDP e, dessa forma, proporcione maior resistência terapêutica. Assim, seriam esperado que as respostas ao tratamento com CDDP e RT fosse alterada por estes polimorfismos, mas tais resultados não foram observados em nosso estudo. É possível que a magnitude do comprometimento na apoptose da célula causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos desses polimorfismos não seja suficiente para tal determinação. Outra possibilidade é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar diferenças nas respostas a terapêutica em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos gênicos. De forma semelhante aos nossos achados, o polimorfismo *P53* Arg72Pro não influenciou na taxa de resposta em pacientes com câncer de ovário tratados com esquemas quimioterápicos baseados em CDDP (KHRUNIN *et al.*, 2010, KHRUNIN *et al.*, 2012). Em contraste, o genótipo variante (ProPro) do polimorfismo *P53* Arg72Pro esteve relacionado com resistência à quimioterapia em pacientes com câncer de pulmão (HAN *et al.*, 2008) e câncer gástrico (KIM *et al.*, 2009) tratados com esquemas à base de CDDP. Entretanto, o genótipo variante do referido polimorfismo foi associado com melhor taxa de resposta em pacientes com câncer de pulmão tratados à base de platina (SHIRAIISHI *et al.*, 2010).

Até onde atinge os nossos conhecimentos, desconhecemos estudos que envolvam os polimorfismos *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G com câncer a taxa de resposta após tratamento com CDDP. Assim, os resultados do nosso estudo sugerem que os polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G não influenciam na taxa de resposta à terapêutica com CDDP e RT.

## **5.2. Tomografia computadorizada por emissão de fóton único do pescoço**

O exame SPECT-TC foi empregado em todos os pacientes tratados com CDDP associada com RT, pré e pós-tratamento, a fim de se avaliar a resposta de acordo com a captação tecidual do radiofármaco, inferindo a taxa metabólica tumoral. Observou-se que técnica não foi eficiente para tal avaliação, uma vez que grande parte dos tumores apresentou praticamente o mesmo padrão de captação, quando comparados os resultados pré e pós tratamento.

Imagens cintilográficas obtidas com o radiofármaco sestamibi-99mTc podem ser úteis para avaliar tumores de cabeça e pescoço (LEITHA *et al.*, 1998). Esse radiofármaco foi originalmente desenvolvido para o diagnóstico de doenças cardíacas (SCHWOCHAU, 2000), sendo que apresenta intenso acúmulo nas mitocôndrias dos miócitos. Posteriormente, verificou que esse radiotraçador também é captado por diversos tumores, podendo ser utilizado para detecção de vários processos tumorais (SCHWOCHAU, 2000). Um estudo demonstrou a utilidade do sestamibi-99mTc no estudo de tumores de cabeça e pescoço (LEITHA *et al.*, 1998). Por outro lado, por ser um método de imagem essencialmente funcional, é bem conhecida a dificuldade da cintilografia convencional (com sestamibi-99mTc e outros radiofármacos) em localizar anatomicamente as lesões detectadas. Mais recentemente, tornou-se disponível para uso clínico o equipamento híbrido SPECT-TC (tomografia computadorizada por emissão de fóton único combinada a tomografia computadorizada), o qual estabelece uma correlação entre informações anatômicas e funcionais, resultando em uma melhor localização e definição dos achados cintilográficos e reduzindo significativamente o número de lesões antes consideradas indeterminadas (ZOHAR *et al.*, 2003 ; ORAZIO, 2005 ; ANDREAS *et al.*, 2008)

De fato, o estudo de LEITHA *et al.* (1998) demonstrou que o SPECT-CT é um exame sensível para avaliar com maior acurácia a presença de malignidade em achados inespecíficos de exames de imagem em tumores de cabeça e pescoço, em relação a outras técnicas. Contudo, no estudo foram considerados portadores de diversos tipos histológicos de tumores e processos patológicos (CCE, adenóide cístico, linfoma,

sarcoma, leucemia mielóide aguda, tumor odontogênico, inflamação, radionecrose, sarcoidose) e também pacientes que já haviam realizado algum tratamento prévio. Além disso, o exame foi realizado em apenas um momento neste estudo. Vale ressaltar que é a primeira vez na literatura em que comparações antes e após tratamento foram realizadas em tumores sólidos.

Futuramente, espera-se que estudo em farmacogenética possam contribuir para implementação de prescrição individualizada de quimioterápicos como parte de um tratamento personalizado em pacientes com câncer. Exemplos disso são os trabalhos realizados com taxa de resposta do tamoxifeno em tumores de mama, associada a polimorfismos do gene *Citocromo P-450, família 2, subfamília D, polipeptídeo 6 (CYP2D6)*. O tamoxifeno é uma pré-droga da classe dos antagonistas de receptores de estrógeno, que atua sobre células tumorais da mama com positividade para este receptor. Suas ações farmacológicas são atribuídas pela produção de seus metabólito, em especial ao endoxifeno (LIM *et al.*, 2005). A geração destes metabólitos é mediada principalmente pelo gene *CYP2D6* (DESTA *et al.*, 2004), que é altamente polimórfico (JIN *et al.*, 2005). Estudos mostraram que polimorfismos neste gene podem reduzir a metabolização do tamoxifeno, conferindo menor sobrevida após terapia hormonal (GOETZ *et al.*, 2005). Após estes achados, houve grande incentivo para desenvolvimento de testes comerciais para genotipagem destes polimorfismos.

Estudos baseados em avaliações de pacientes com CCECP considerando o polimorfismo *CASP3 A-928G*, associado a variável ototoxicidade e nefrotoxicidade neste estudo, com o uso de medicamentos otoprotetores como amifostina (EKBORN *et al.*, 2002; FOULADI *et al.*, 2008), lactato e N-acetilcisteína intratimpânicos (CHOE *et al.*, 2004), e dexametasona intratimpânica (HILL *et al.*, 2008) e medicamentos protetores renais como selênio e vitamina E (NAZIROGLU *et al.*, 2004), amifostina (YOHAS & CULO, 1980; GLOVER *et al.*, 1986; GLOVER *et al.*, 1987) e N-acetilcisteína (WU *et al.*, 2005), nos parecem promissores.

Os resultados deste estudo são apenas preliminares e indicam que é longo o caminho a ser percorrido até que pacientes com CCECP possam ser tratados de forma personalizada.

## Conclusões

---

- Não observamos os diferentes genótipos do polimorfismo *CASP9* C-712T em nossa amostra,
- Os polimorfismos *P53* Arg72Pro e *CASP3* A-928G modularam os efeitos colaterais do tratamento de nossos pacientes com CCECP com CDDP e RT, como vômitos, acuidade auditiva e nefrotoxicidade, mas não alteraram a ocorrência de náuseas ou mielossupressão. O polimorfismo *CASP9* A-1263G não alterou a toxicidade atribuída ao tratamento com CDDP e RT em pacientes com CCECP da nossa amostra,
- Os polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G não alteraram a concentração de CDDP urinária durante o tratamento com CDDP e RT em pacientes com CCECP da nossa amostra e,
- Os polimorfismos *P53* Arg72Pro, *CASP9* A-1263G e *CASP3* A-928G não alteram as taxas de resposta de pacientes com CCECP tratados com CDDP associada à RT da nossa amostra.



## Referências Bibliográficas

---

1. ADELSTEIN, D. J.; LI, Y.; ADAMS, G. L.; WAGNER, H. Jr.; KISH, J. A.; ENSLEY, J. F.; SCHULLER, D. E.; FORASTIERE, A. A. An intergroup phase III comparison of standard radiation therapy and two schedules of concurrent chemoradiotherapy in patients with unresectable squamous cell head and neck cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 21:92-98, 2003.
2. AEBI, S.; KURDI-HAIDAR, B.; GORDON, R.; CENNI, B.; ZHENG, H.; FINK, D.; CHRISTEN, R. D.; BOLAND, C. R.; KOI, M.; FISHEL, R.; HOWELL, S. B. Loss of DNA mismatch repair in acquired resistance to cisplatin. *Cancer Research*, 56:3087-3090, 1996.
3. ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Molecular Biology of the Cell*. 5 ed. Nova York: Garland Science, 1616p., 2008.
4. ALVARENGA, L. M.; RUIZ, M. T.; PAVARINO-BERTELLI, E. C.; RUBACK, M. J. C.; MANIGLIA, J. V.; GOLONI-BERTOLLO, E. M. Avaliação epidemiológica de pacientes com câncer de cabeça e pescoço em um hospital universitário do noroeste do estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, 74:68-73, 2008.
5. ANDREAS, K.; STEPHAN, N.; SIBYLE, Z.; *et al.* SPECT/CT. *Journal of Nuclear Medicine*, 49:1305-1319, 2008.
6. ARORA, S.; KOTHANDAPANI, A.; TILLISON, K.; KALMAN-MALTESE, V.; PATRICK, S. M. Downregulation of XPF-ERCC1 enhances cisplatin efficacy in cancer cells. *DNA Repair*, 9:745-753, 2010.
7. ASHP Therapeutic Guidelines on the Pharmacologic Management of Nausea and Vomiting in Adult and Pediatric Patients Receiving Chemotherapy or Radiation Therapy or Undergoing Surgery. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 56:729-764, 1999.
8. ASIF, R.; CHANDRA, K.; CHOPRA, V.; BHATT, M. L. Concurrent cisplatin and radiotherapy in advanced head and neck cancer. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*, 55:94-96, 2003.
9. BADELL, M. L.; RAMIN, S. M.; SMITH, J. A. Treatment options for nausea and vomiting during pregnancy. *Pharmacotherapy*, 26(9):1273-1287, 2006.
10. BARROS, F. B.; LIMA, C. S. P.; SANTOS, A. O.; MAZO-RUIZ, M. F. C.; LIMA, M. M. C.; ETCHEBEHERE, E. E. C. S.; COSTA, F. F.; SAAD, S. T. O.; CAMARGO, E. E.; RAMOS, C. D. <sup>51</sup>Cr-EDTA Measurements of the glomerular filtration rate in patients with sickle cell anemia and minor renal damage. *Nuclear Medicine Communications*, 27:959-962, 2006.
11. BC Cancer Agency Cancer Drug Manual©. Monografia da Cisplatina. Acesso em: [http://www.bccancer.bc.ca/NR/rdonlyres/DCC88F7E-EDF8-4340-A63A-932144D9E282/64270/Cisplatin\\_monograph\\_1June2013\\_formatted.pdf](http://www.bccancer.bc.ca/NR/rdonlyres/DCC88F7E-EDF8-4340-A63A-932144D9E282/64270/Cisplatin_monograph_1June2013_formatted.pdf). Disponível em: 16 de Junho de 2014.

12. BEGUM, S.; GILLISON, M. L.; ANSARI-LARI, M. A.; SHAH, K.; WESTRA, W. H. Detection of human papillomavirus in cervical lymph nodes: a highly effective strategy for localizing site of tumor origin. *Clinical Cancer Research*, 9:6469-6475, 2003.
13. BEIGUELMAN, B. Dinâmica dos genes nas famílias e populações. Ribeirão Preto: Brazilian Journal Genetic, 2:1-472, 1995.
14. BERTOLINI, P.; LASSALLE, M.; MERCIER, G.; RAQUIN, M. A.; IZZI, G.; CORRADINI, N.; HARTMANN, O. Platinum compound-related ototoxicity in children: long-term follow-up reveals continuous worsening of hearing loss. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 26:649-655, 2004.
15. BESS, F. H.; HUMES, L. E. Audiologia como uma profissão. In: Bess, F. H.; Humes, L. E. *Fundamentos em Audiologia*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 15-34, 1998.
16. BIRO, K.; NOSZEK, L.; PREKOPP, P.; NAGYIVÁNYI, K.; GÉCZI, L.; GAUDI, I.; BODROGI, I. Characteristics and risk factors of cisplatin-induced ototoxicity in testicular cancer patients detected by distortion product otoacoustic emission. *Oncology*, 70:177-184, 2006.
17. BLADBJERG, E. M.; GRAM, J.; JESPERSEN, J.; DE MAAT, M. P. Internal quality control of PCR-based genotyping methods: practical experiences. *Vascular Pharmacology*, 39(3): 127-129, 2002.
18. BOKEMEYER, C.; BERGER, C. C.; HARTMANN, J. T.; KOLLMANNBERGER, C.; SCHMOLL, H. J.; KUCZYK, M. A.; KANZ, L. Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer. *British Journal of Cancer*, 77:1355-1362, 1998.
19. BORELLI, P.; BLATTII, S. L.; ROGEROIII, M. M.; FOCK, R. A. Haematological alterations in protein malnutrition. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 26(1): 49-56, 2004.
20. BRADBURY, P. A.; KULKE, M. H.; HEIST, R. S.; ZHOU, W.; MA, C.; XU, W.; MARSHALL, A. L.; ZHAI, R.; HOOSHMAND, S. M.; ASOMANING, K.; SU, L.; SHEPHERD, F. A.; LYNCH, T. J.; WAIN, J. C.; CHRISTIANI, D. C.; LIU, G. Cisplatin pharmacogenetics, DNA repair polymorphisms, and esophageal cancer outcomes. *Pharmacogenetics and Genomics*, 19:613-625, 2009.
21. BROCHNER-MORTENSEN, J.; GIESE, J.; ROSSING, N. Renal inulin clearance versus total plasma clearance of <sup>51</sup>Cr-EDTA. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 23:301-305, 1969.
22. CAMPS, C.; SARRIES, C.; ROIG, B.; SANCHEZ, J. J.; QUERALT, C.; SANCHO, E.; MARTINEZ, N.; TARÓN, M.; ROSELL, R. Assessment of nucleotide excision repair XPD polymorphisms in the peripheral blood of gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small-cell lung cancer patients. *Clinical Lung Cancer*, 4:237-241, 2003.
23. CANEVARI, R. A.; ROGATTO, S. R. Câncer de Cabeça e Pescoço. In: FERREIRA, C. G.; ROCHA, J. C. *Oncologia molecular*. São Paulo: Atheneu, 189-201, 2004.
24. CARLES, J.; MONZO, M.; AMAT, M.; JANSA, S.; ARTELLS, R.; NAVARRO, A.; FORO, P.; ALAMEDA, F.; GAYETE, A.; GEL, B.; MIGUEL, M.; ALBANELL, J.; FABREGAT, X. Single-

- nucleotide polymorphisms in base excision repair, nucleotide excision repair, and double strand break genes as markers for response to radiotherapy in patients with Stage I to II head-and-neck cancer. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 66:1022-1030, 2006.
25. CARONIA, D.; PATIÑO-GARCÍA, A.; MILNE, R. L.; ZALACAIN-DÍEZ, M.; PITA, G.; ALONSO, M. R.; MORENO, L. T.; SIERRASESUMAGA-ARIZNABARRETA, L.; BENÍTEZ, J.; GONZÁLEZ-NEIRA, A. Common variations in ERCC2 are associated with response to cisplatin chemotherapy and clinical outcome in osteosarcoma patients. *The Pharmacogenomics Journal*, 9:347-353, 2009.
  26. CARVALHO, A. L.; SINGH, B.; SPIRO, R. H.; KOWALSKI, L. P.; SHAH, J. P. Cancer of the oral cavity: a comparison between institutions in a developing and a developed nation. *Head and Neck*, 26(1):31-38, 2004.
  27. CASATI, M. F. M.; VASCONCELOS, J. A.; VERGNHANINI, G. S.; CONTREIRO, P. F.; GRAÇA, T. B.; KANDA, J. L.; AKERMAN, M.; MATOS L. L. Epidemiologia do câncer de cabeça e pescoço no Brasil: estudo transversal de base populacional. *Revista Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço*, 41:186-191, 2012.
  28. CESCÓN, D. W.; BRADBURY, P. A.; ASOMANING, K.; HOPKINS, J.; ZHAI, R.; ZHOU, W.; WANG, Z.; KULKE, M.; SU, L.; MA, C.; XU, W.; MARSHALL, A. L.; HEIST, R. S.; WAIN, J. C.; LYNCH, T. J. JR.; CHRISTIANI, D. C.; LIU, G. *P53* Arg72Pro and MDM2 T309G polymorphisms, histology, and esophageal cancer prognosis. *Clinical Cancer Research*, 15:3103-3109, 2009.
  29. CHAN, S. H.; NG, W. T.; KAM, K. L.; LEE, M. C.; CHOI, C. W.; YAU, T. K.; LEE, A. W.; CHOW, S. K. Sensorineural hearing loss after treatment of nasopharyngeal carcinoma: a longitudinal analysis. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 73:1335-1342, 2009.
  30. CHATURVEDI A. K. Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. *Head and Neck Pathology*, 6 Suppl 1:S16-S24, 2012.
  31. CHEN, K.; HU, Z.; WANG, L. E.; STURGIS, E. M.; EL-NAGGAR, A. K.; ZHANG, W.; WEI, Q. Single-nucleotide polymorphisms at the TP53-binding or responsive promoter regions of BAX and BCL2 genes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis*, 28:2008-2012, 2007.
  32. CHEN, X.; STURGIS, E. M.; EL-NAGGAR, A. K.; WEI, Q.; LI, G. Combined effects of the p53 codon 72 and p73 G4C14-to-A4T14 polymorphisms on the risk of HPV16-associated oral cancer in never-smokers. *Carcinogenesis*, 29:2120-2125, 2008.
  33. CHO, S. I.; LEE, J. H.; PARK, J. H.; DO, N. Y. Protective effect of (-)-epigallocatechin-3-gallate against cisplatin-induced ototoxicity. *Journal Laryngology Otolaryngology*, 15:1-6, 2014.

34. CHOE, W. T.; CHINOSORNVATANA, N.; CHANG, K. W. Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. *Otology & Neurotology*, 25(6):910-915, 2004.
35. CHU, E.; MCGOWAN, M.; ELFIKY, A.; KANG, S. P.; HARROLD, L. J.; TIEDEMANND, D.; COPUR, M. S. Chemotherapeutic and Biologic Drugs. In: CHU, E.; DEVITA, V. T. *Physician's Cancer Chemotherapy Drug Manual 2013*. Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers, p.94-98, 2013.
36. COCKCROFT, D. W.; GAULT, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron Journal*, 16:31-41, 1976.
37. CONWAY, D. I.; PETTICREW, M.; MARLBOROUGH, H.; BERTHILLER, J.; HASHIBE, M.; MACPHERSON, L. M. Socioeconomic inequalities and oral cancer risk: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *International Journal of Cancer*, 15;122(12):2811-2819, 2008.
38. CRUZ, I.; SNIJDERS, P. J.; VAN HOUTEN, V.; VOSJAN, M.; VAN DER WAAL, I.; MEIJER, C. J. Specific p53 immunostaining patterns are associated with smoking habits in patients with oral squamous cell carcinomas. *Journal Clinical Pathology*, 55:834-840, 2002.
39. CUMMINGS, B. S.; SCHNELLMANN, R. G. Cisplatin-induced renal cell apoptosis: caspase 3-dependent and -independent pathways. *Journal Pharmacology Experimental Therapeutics*, 302(1):8-17, 2002.
40. CUNNINGHAM, D.; DICATO, M.; VERWEIJ, J.; CROMBEZ, R.; DE MULDER, P.; DU BOIS, A.; STEWART, A.; SMYTH, J.; SELBY, P.; VAN STRAELEN, D.; PARIDEANS, R.; MCQUADE, B. MCRAR, J. Optimum anti-emetic therapy for cisplatin induced emesis over repeat courses: Ondansetron plus dexametasone compared with metoclopramide, dexametasone plus lorazepam. *Annals of Oncology*, 7:277-282, 1996.
41. CURADO, M. P.; HASHIBE, M. Recent changes in the epidemiology of head and neck cancer. *Current Opinion in Oncology*, 21: 194–200, 2009.
42. DAVIS, H.; SILVERMAN, S. R. Auditory Test Hearing Aids. In: Davis, H.; Silverman, S. R. *Hearing and Deafness*. 3 ed. Holt: Rinehart and Winston, 253-279, 1970.
43. DE CASTRO, G. Jr.; PASINI, F. S.; SIQUEIRA, S. A.; FERRAZ, A. R.; VILLAR, R. C.; SNITCOVSKY, I. M.; FEDERICO, M. H. ERCC1 protein, mRNA expression and T19007C polymorphism as prognostic markers in head and neck squamous cell carcinoma patients treated with surgery and adjuvant cisplatin-based chemoradiation. *Oncology Reports*, 25:693-699, 2011.
44. DE CASTRO, G. Jr.; SNITCOVSKY, I. M.; GEBRIM, E. M.; LEITÃO, G. M.; NADALIN, W.; FERRAZ, A. R.; FEDERICO, M. H. High-dose cisplatin concurrent to conventionally delivered radiotherapy is associated with unacceptable toxicity in unresectable, non-metastatic stage IV head and neck squamous cell carcinoma. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 264:1475-1482, 2007.

45. DE CONTI, R.; TOFTNESS, B.; LANGE, R. C.; CREASEY, W. A. Clinical and pharmacological studies with cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Research*, 33:1310-1315, 1973.
46. DELL'ARINGA, A. H.; ISAAC, M. L.; ARRUDA, G. V.; ESTEVES, M. C.; DELL'ARINGA, A.R.; JÚNIOR, J. L.; RODRIGUES, A. F. Audiological findings in patients treated with radio- and concomitant chemotherapy for head and neck tumors. *Radiation Oncology*, 4:53, 2009.
47. DENG, Z.; HASEGAWA, M.; MATAYOSHI, S.; KIYUNA, A.; YAMASHITA, Y.; MAEDA, H.; SUZUKI, M. Prevalence and clinical features of human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinoma in Okinawa, southern Japan. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 268(11):1625-1631, 2011.
48. DESTA, Z.; WARD, B. A.; SOUKHOVA, N. V.; FLOCKHART, D. A. Comprehensive evaluation of tamoxifen sequential biotransformation by the human cytochrome P450 system in vitro: prominent roles for *CYP3A* and *CYP2D6*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 310(3): 1062-1075, 2004.
49. DIMRI, K.; PANDEY, A. K.; TREHAN, R.; RAI, B.; KUMAR, A. Conventional radiotherapy with concurrent weekly Cisplatin in locally advanced head and neck cancers of squamous cell origin - a single institution experience. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(11):6883-6888, 2013.
50. DLOTT, J.S.; DANIELSON, C.F.; BLUE-HNIDY, D.E.; MCCARTHY, L.J. Drug-induced thrombotic thrombocytopenic purpura/hemolytic uremic syndrome: a concise review. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, 8(2):102-111, 2004.
51. DÖBROSSY, L. Epidemiology of head and neck cancer: Magnitude of the problem. *Cancer and Metastasis Reviews*, 24:9-17, 2005.
52. DUMONT, P.; LEU, J. I.; DELLA PIETRA, A. C. 3rd.; GEORGE, D. L.; MURPHY, M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nature Genetics*, 33:357-65, 2003.
53. DUTTA, S.; GHORAI, S.; CHOUDHURY, K. B.; MAJUMDER, A. Radical treatment of locally advanced head and neck cancer with concurrent chemo radiation-cisplatin versus carboplatin: A randomized comparative phase III trial. *Clinical Cancer Investigation Journal*, 2:122-127, 2013.
54. DYSON, N.; HOWLEY, P.M.; MÜNGER, K.; HARLOW, E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science*, 243: 934–937, 1989.
55. EDGE, S. B.; BYRD, D. R.; COMPTON, C. C.; FRITZ, A. G.; GREENE, F. L.; TROTTI, A., editors. *American Joint Committee on Cancer: Cancer Staging Manual*. 7 ed. New York: Springer, 21-97, 2010.
56. EKBORN, A.; LAURELL, G.; JOHNSTRÖM, P.; WALLIN, I.; EKSBERG, S.; EHRSSON, H. D-Methionine and cisplatin ototoxicity in the guinea pig: D-methionine influences cisplatin pharmacokinetics. *Hearing Research*, 165(1-2):53-61, 2002.

57. EL-MOFTY, S. K.; LU, D. W. Prevalence of human papillomavirus type 16 DNA in squamous cell carcinoma of the palatine tonsil, and not the oral cavity, in young patients: a distinct clinicopathologic and molecular disease entity. *American Journal Surgical Pathology*, 27:1463-70, 2003.
58. FAREED, K. R.; AL-ATTAR, A.; SOOMRO, I. N.; KAYE, P. V.; PATEL, J.; LOBO, D. N.; PARSONS, S. L.; MADHUSUDAN, S. Tumor regression and ERCC1 nuclear protein expression predict clinical outcome in patients with gastro-oesophageal cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *British Journal of Cancer*, 102:1600-1607, 2010.
59. FARIAS, L.C.; FRAGA, C.A.; DE-OLIVEIRA, M.V.; SILVA, T.F.; MARQUES-SILVA, L.; MOREIRA, P.R.; DE-PAULA, A.M.; GOMEZ, R.S.; GUIMARÃES, A.L. Effect of age on the association between p16CDKN2A methylation and DNMT3B polymorphism in head and neck carcinoma and patient survival. *International Journal of Oncology*, 37: 167-176, 2010.
60. FARNEBO, L.; JEDLINSKI, A.; ANSELL, A.; VAINIKKA, L.; THUNELL, L. K.; GRÉNMAN, R.; JOHANSSON, A-C.; ROBERG, K. Proteins and single nucleotide polymorphisms involved in apoptosis, growth control, and DNA repair predict cisplatin sensibility in head and neck cancer cell lines. *International Journal of Molecular Medicine*, 24:549-556, 2009.
61. FAUSTI, S. A.; HENRY, J. A.; SCHAFFER, H. I.; OLSON, D. J.; FREY, R. H.; BAGBY, G. C. JR. High-frequency monitoring for early detection of cisplatin ototoxicity. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 119:661-666, 1993.
62. FONSECA-SILVA, T.; FARIAS, L. C.; CARDOSO, C. M.; SOUZA, L. R.; CARVALHO-FRAGA, C. A.; OLIVEIRA, M. V.; BARROS, L. O.; ALVES, L. R.; DE-PAULA, A. M.; MARQUES-SILVA, L.; GOMEZ, R. S.; GUIMARÃES, A. L. Analysis of p16(CDKN2A) methylation and HPV-16 infection in oral mucosal dysplasia. *Pathobiology*, 79:94-100, 2012.
63. FOULADI, M.; CHINTAGUMPALA, M.; ASHLEY, D.; KELLIE, S.; GURURANGAN, S.; HASSALL, T.; GRONWOLD, L.; STEWART, C. F.; WALLACE, D.; BRONISCHER, A.; HALE, G. A.; KASOW, K. A.; MERCHANT, T. E.; MORRIS, B.; KRASIN, M.; KUN, L. E.; BOYETT, J. M.; GAJJAR, A. Amifostine protects against cisplatin-induced ototoxicity in children with average-risk medulloblastoma. *Journal of Clinical Oncology*, 1;26(22): 3749-3755, 2008.
64. FROTA, S. Avaliação básica da audição. In: FROTA, S. *Fundamentos em fonoaudiologia*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., p. 41-60, 2003.
65. FUKUSHIMA-UESAKA, H.; SAITO, Y.; MAEKAWA, K.; KUROSE, K.; SUGIYAMA, E.; KATORI, N.; KANIWA, N.; HASEGAWA, R.; HAMAGUCHI, T.; EGUCHI-NAKAJIMA, T.; KATO, K.; YAMADA, Y.; SHIMADA, Y.; YOSHIDA, T.; YAMAMOTO, N.; NOKIHARA, H.; KUNITOH, H.; OHE, Y.; TAMURA, T.; URA, T.; SAITO, M.; MURO, K.; DOI, T.; FUSE, N.; YOSHINO, T.; OHTSU, A.; SAIJO, N.; MATSUMURA, Y.; OKUDA, H.; SAWADA, J. Genetic polymorphisms of copper- and platinum drug-efflux transporters ATP7A and ATP7B in Japanese cancer patients. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 24(6): 565-574, 2009.

66. GANGWAR, R.; MANDHANI, A.; MITTAL, R. D. *Caspase 9* and *Caspase 8* gene polymorphisms and susceptibility to bladder cancer in north Indian population. *Annals of Surgical Oncology*,16:2028-2034, 2009.
67. GAO, L.; MA, R.; ZHOU, J.; CHENG, S. Changes of serum erythropoietin during Cisplatin- or 5-Fluorouracil-induced anemia in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 16(9):501-506, 2006.
68. GAO, L.P.; LI, Z.; GUO, Z.Y.; ZHAO, Y.M. The effects of vitamin C on DDP-induced anemia in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 23(6):383-388, 2013.
69. GARCÍA-BERROCAL, J. R.; NEVADO, J.; RAMÍREZ-CAMACHO, R.; SANZ, R.; GONZÁLEZ-GARCÍA, J. A.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, C.; CANTOS, B.; ESPAÑA, P.; VERDAGUER, J. M.; TRINIDAD CABEZAS, A. The anticancer drug cisplatin induces an intrinsic apoptotic pathway inside the inner ear. *British Journal Pharmacology*, 152:1012-1020, 2007.
70. GATTAS, G.; DE CARVALHO, M. B.; SIRAQUE, M. S.; CURIONI, O. A.; KHOLER, P.; ELUF-NETO, J.; WÜNSCH-FILHO, V. Genetic polymorphisms of CYP1A1, CYP2E1, GSTM1, and GSTT1 associated with head and neck cancer. *Head Neck*, 28:819-826, 2006.
71. GLOVER, D.; GLICK, J.; WEITER, C. Phase I/II Trials of WR-2721 and Cisplatin. *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics*, 12: 1509-1512, 1986.
72. GLOVER, D.; GLICK, J.; WEITER, C. WR-2721 and High-dose Cisplatin: an active Combination in the Treatment of Metastatic Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, 5: 574-578, 1987.
73. GOETZ, M. P.; RAE, J. M.; SUMAN, V. J.; SAFGREN, S. L.; AMES, M. M.; VISSCHER, D. W.; REYNOLDS, C.; COUCH, F. J.; LINGLE, W. L.; FLOCKHART, D. A.; DESTA, Z.; PEREZ, E. A.; INGLE, J. N. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *Journal of Clinical Oncology*, 20;23(36): 9312-9318, 2005.
74. GULLO, J. J.; LITTERST, C. L.; MAGUIRE, P. J.; SIKIC, B. I.;HOTH, D. F.; WOOLLEY, P. V. Pharmacokinetics and protein binding of cis-dichlorodiammine platinum (II) administered as a one hour or as a twenty hour infusion. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 5:21-26, 1980.
75. GUMINSKI, A. D.; HARNETT, P. R.; DE FAZIO, A. Scientists and clinicians test their metal-back to the future with platinum compounds. *Lancet Oncology*, 3:312-318, 2002.
76. GUO, T. M.; LIU, M.; ZHANG, Y. G.; GUO, W. T.; WU, S. X. Association between Caspase-9 promoter region polymorphisms and discogenic low back pain. *Connective Tissue Research*, 52(2):133-138, 2011.
77. HAFKAMP, H. C.; MANNI, J. J.; HAESEVOETS, A.; VOOGD, A. C.; SCHEPERS, M.; BOT, F. J.; HOPMAN, A. H.; RAMAEKERS, F. C.; SPEEL, E. J. Marked differences in survival rate between smokers and nonsmokers with HPV 16-associated tonsillar carcinomas. *International*

- Journal of Cancer, 15;122(12):2656-2664, 2008.
78. HAFKAMP, H. C.; SPEEL, E. J.; HAESEVOETS, A.; BOT, F. J.; DINJENS, W. N.; RAMAEKERS, F. C.; HOPMAN, A. H.; MANNI, J. J. A subset of head and neck squamous cell carcinomas exhibits integration of HPV 16/18 DNA and overexpression of p16INK4A and p53 in the absence of mutations in p53 exons 5–8. *International Journal of Cancer*, 107:394-400, 2003.
  79. HAN, J. Y.; LEE, G. K.; JANG, D. H.; LEE, S. Y.; LEE, J. S. Association of p53 Codon 72 Polymorphism and MDM2 SNP309 With Clinical Outcome of Advanced Non-small Cell Lung Cancer. *Cancer*, 113(4):799-807, 2008.
  80. HAN, S. J.; AHN, T. K.; CHOI, H. S.; SHIN, J. N.; PIYA, S.; KIM, T. H. TRAIL-induced cell death and caspase-8 activation are inhibited by cisplatin but not carboplatin. *Journal Gynecologic Oncology*, 2:113-116, 2009.
  81. HARRIS, J. D.; HAINES, H. L.; MYERS, C. K. The importance of hearing at 3kc understanding speed speech. *Laryngoscope*, 70:131-146, 1960.
  82. HARTLEV, L. B.; BOEJE, C. R.; BLUHME, H.; PALSHOF, T.; REHLING, M. Monitoring renal function during chemotherapy. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 39:1478-1482, 2012.
  83. HAYES, P. C.; BOUCHIER, I. A. D.; BECKETT, G. J. Glutathione S-transferase in humans in healthy and disease. *Gut*, 32:813-818, 1991.
  84. HECHT, S. S. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3:733-744, 2003.
  85. HENRIKSSON, E.; BALDETORP, B.; BORG, A.; KJELLEN, E.; AKERVALL, J.; WENNERBERG, J.; WAHLBERG, P. p53 mutation and cyclin D1 amplification correlate with cisplatin sensibility in xenografted human squamous cell carcinomas from head and neck. *Acta Oncologica*, 45:300-305, 2006.
  86. HESKETH, P. J.; GRUNBERG, S. M.; GRALLA, R. J.; WARR, D. G.; ROILA, F.; DE WIT, R.; CHAWLA, S. P.; CARIDES, A. D.; IANUS, J.; ELMER, M. E.; EVANS, J. K.; BECK, K.; REINES, S.; HORGAN, K. J. The oral neurokinin-1 antagonist aprepitant for the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting: a multinational, randomized, double-blind, placebo-controlled trial in patients receiving high-dose cisplatin--the Aprepitant Protocol 052 Study Group. *Journal Clinical Oncology*, 21:4112-4119, 2003b.
  87. HESKETH, P. J. Chemotherapy-induced nausea and vomiting. *The New England Journal of Medicine*, 358: 2482-2494, 2008.
  88. HESKETH, P. J.; KRIS, M. G.; GRUNBERG, S. M.; BECK, T.; HAINSWORTH, J. D.; HARKER, G.; AAPRO, M. S.; GANDARA, D.; LINDLEY, C. M. Proposal for classifying the acute emetogenicity of cancer chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 15:103-109, 1997.

89. HESKETH, P. J.; VAN BELLE, S.; AAPRO, M.; TATTERSALL, F. D.; NAYLOR, R. J.; HARGREAVES, R.; CARIDES, A. D.; EVANS, J. K.; HORGAN, K. J. Differential involvement of neurotransmitters through the time course of cisplatin-induced emesis as revealed by therapy with specific receptor antagonists. *European Journal of Cancer*, 39:1074-1080, 2003a.
90. HILL, G. W.; MOREST, D. K.; PARHAM, K. Cisplatin-induced ototoxicity: effect of intratympanic dexamethasone injections. *Otology & Neurotology*, 29(7):1005-1011, 2008.
91. HIMMELSTEIN, K.; PATTON, T.; BELT, R.; TAYLOR, S.; REPTA, A. J.; STERNSON L. A. Clinical kinetics on intact cisplatin and some related species. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 29:658-664, 1981.
92. HITCHCOCK, Y. J.; TWARD, J. D.; SZABO, A.; BENTZ, B. G.; SHRIEVE, D. C. Relative contributions of radiation and cisplatin-based chemotherapy to sensorineural hearing loss in head-and-neck cancer patients. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 73:779-788, 2009.
93. HO, C. L.; SU, W. C.; HSIEH, R. K.; LIN, Z. Z.; CHAO, T. Y. A randomized, double-blind, parallel, comparative study to evaluate the efficacy and safety of ramosetron plus dexamethasone injection for the prevention of acute chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 40(4): 294-301, 2010.
94. HO, K. Y.; GAN, T. J. Pharmacology, pharmacogenetics, and clinical efficacy of 5-hydroxytryptamine type 3 receptor antagonists for postoperative nausea and vomiting. *Current Opinion in Anaesthesiology*, 19:606-611, 2006.
95. HO, T.; WEI, Q.; STURGIS, E. M. Epidemiology of carcinogen metabolism genes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck*, 29:682-699, 2007.
96. HOLDING, J. D.; LINDUP, W. E.; BOWDLER, D. A.; SIODLAK, M. Z.; STELL, P. M. Disposition and tumour concentrations of platinum in hypoalbuminaemic patients after treatment with cisplatin for cancer of the head and neck. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 32:173-179, 1991.
97. HORIGUCHI, H.; OGUMA, E.; KAYAMA, F. Cadmium and cisplatin damage erythropoietin-producing proximal renal tubular cells. *Archives of Toxicology*, 80(10):680-686, 2006.
98. HSIEH, L. L.; HUANG, T. H.; CHEN, I. H.; LIAO, C. T.; WANG, H. M.; LAI, C. H.; LIOU, S. H.; CHANG, J. T.; CHENG, A. J. P53 polymorphisms associated with mutations in and loss of heterozygosity of the p53 gene in male oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *British Journal of Cancer*, 92:30-35, 2005.
99. HSU, D. S. S.; LAN, H. Y.; HUANG, C. H.; TAI, S. K.; CHANG, S. Y.; TSAI, T. L.; CHANG, C. C.; TZENG, C. H.; WU, K. J.; KAO, J. Y.; YANG, M. H. Regulation of excision repair cross-complementation group 1 by snail contributes to cisplatin resistance in head and neck cancer. *Clinical Cancer Research*, 16:4561-4571, 2010.

100. HUANG, E.; TEH, B. S.; STROTHER, D. R.; DAVIS, Q. G.; CHIU, J. K.; LU, H. H.; CARPENTER, L. S.; MAI, W. Y.; CHINTAGUMPALA, M. M.; SOUTH, M.; GRANT, W. H. 3RD.; BUTLER, E. B.; WOO, S. Y. Intensity-modulated radiation therapy for pediatric medulloblastoma: early report on the reduction of ototoxicity. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 52:599-605, 2002.
101. HUSAIN, K.; WHITWORTH, C.; SOMANI, S. M.; RYBAK, L. P. Carboplatin-induced oxidative stress in rat cochlea. *Hearing Research*, 159:14-22, 2001.
102. IHSAN, R.; DEVI, T. R.; YADAV, D. S.; MISHRA, A. K.; SHARMA, J.; ZOMAWIA, E.; VERMA, Y.; PHUKAN, R.; MAHANTA, J.; KATAKI, A. C.; KAPUR, S.; SAXENA, S. Investigation on the role of p53 codon 72 polymorphism and interactions with tobacco, betel quid, and alcohol in susceptibility to cancers in a high-risk population from North East India. *DNA and Cell Biology*, 30:163-171, 2011.
103. INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>. Acesso em: 12 de Maio de 2014
104. INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. Estimativa da Incidência e mortalidade por câncer no Brasil: Acesso 27 de Janeiro de 2012. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2012/>.
105. INTERNATIONAL HAPMAP 3 CONSORTIUM. Integrating common and rare genetic variation in diverse human populations. *Nature*, 467:52-58, 2010.
106. JACOBSON, L. O.; GOLDWASSER, E.; FRIED, W.; PLZAK, L. Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature*, 23;179(4560):633-634, 1957.
107. JANG, J. S.; KIM, K. M.; CHOI, J. E.; CHA, S. I., KIM, C. H.; LEE, W. K.; KAM, S.; JUNG, T. H.; PARK, J. Y. Identification of polymorphisms in the Caspase-3 gene and their association with lung cancer risk. *Molecular Carcinogenesis*, 47:383-390, 2008.
108. JANSON, V.; JOHANSSON, A.; GRANKVIST, K. Resistance to caspase-8 and -9 fragments in a malignant pleural mesothelioma cell line with acquired cisplatin-resistance. *Cell Death and Disease*, 2010.
109. JEMAL, A.; SIEGEL, R.; WARD, E.; MURRAY, T.; XU, J.; THUN, M. J. Cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 57:43-66, 2007.
110. JIAO, J. W.; WEN, F. Tanshinone IIA acts via p38 MAPK to induce apoptosis and the down-regulation of ERCC1 and lung-resistance protein in cisplatin-resistant ovarian cancer cells. *Oncology Reports*, 25:781-788, 2011.
111. JIN, Y.; DESTA, Z.; STEARNS, V.; WARD, B.; HO, H.; LEE, KH.; SKAAR, T.; STORNILOLO, A. M.; LI, L.; ARABA, A.; BLANCHARD, R.; NGUYEN, A.; ULLMER, L.; HAYDEN, J.; LEMLER, S.; WEINSHILBOUM, R. M.; RAE, J. M.; HAYES, D. F.; FLOCKHART, D. A. CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment. *Journal of the National Cancer Institute*, 5;97(1): 30-39, 2005.

112. JINDAL, S. K.; MALIK, S. K.; DHAND, R.; GUJRAL, J. S.; MALIK, A. K.; DATTA, B. N. Bronchogenic carcinoma in northern India. *Thorax*, 37:343-347, 1982.
113. JOHNSON, S. W.; O'DWYER, P. J. Cisplatin and its Analogues. In: DE VITA, V. T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S. A. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 7 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 344-358, 2005.
114. JU, S. M.; PAE, H. O.; KIM, W. S.; KANG, D. G.; LEE, H. S.; JEON, B. H. Role of reactive oxygen species in p53 activation during cisplatin-induced apoptosis of rat mesangial cells. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 8:1135-1141, 2014.
115. JUNGE, W.; WILKE, B.; HALABI, A.; KLEIN, G. Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffé method. *Clinical ChimicaActa*, 344:137-148, 2004.
116. KAMANGAR, F.; DORES, G. M.; ANDERSON, W. F. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. *Journal of Clinical Oncology*, 24:2137-2150, 2006.
117. KANOTRA, S. P.; KANOTRA, S.; GUPTA, A.; PAUL, J. Chemoradiation in Advanced Head and Neck Cancers: A Comparison of two Radiosensitizers, Paclitaxel and Cisplatin. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*, 63(3):229-236, 2011.
118. KATIYAR, S.; THELMA, B. K.; MURTHY, N. S.; HEDAU, S.; JAIN, N.; GOPALKRISHNA, V.; HUSAIN, S. A.; DAS, B. C. Polymorphism of the p53 codon 72 Arg/Pro and the risk of HPV type 16/18-associated cervical and oral cancer in India. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 252:117-124, 2003.
119. KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 7:573-84, 2007.
120. KHLEIF, S.N.; DEGREGORI, J.; YEE, C.L.; OTTERSON, G.A.; KAYE, F.J.; NEVINS, J.R.; HOWLEY, P.M. Inhibition of cyclin D-CDK4/CDK6 activity is associated with an E2F-mediated induction of cyclin kinase inhibitor activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 30;93(9):4350-4354, 1996.
121. KHRUNIN, A. V.; MOISSEEV, A.; GORBUNOVA, V.; LIMBORSKA, S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Pharmacogenomics Journal*, 10:54-61, 2010.
122. KHRUNIN, A.; IVANOVA, F.; MOISSEEV, A.; KHOKHRIN, D.; SLEPTSOVA, Y.; GORBUNOVA, V.; LIMBORSKA, S. Pharmacogenomics of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients of different ethnic origins. *Pharmacogenomics*, 13:171-178, 2012.
123. KIM, J. G.; SOHN, S. K.; CHAE, Y. S.; SONG, H. S.; KWON, K-Y.; DO, Y. R.; KIM, M. K.; LEE, K. H.; HYUN, M. S.; LEE, W. S.; SOHN, C-H.; JUNG, J. S.; KIM, G. C.; CHUNG, H. Y.; YU, W. TP53 codon 72 polymorphism associated with prognosis in patients with advanced gastric cancer treated with paclitaxel and cisplatin. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 64:355-360, 2009.

124. KIM, L.; KING, T.; AULNIK, M. Head and neck cancer: changing epidemiology and public health implications. *Oncology (Williston Park)*, 24:915-919, 2010.
125. KLUSSMANN, J.P.; GÜLTEKIN, E.; WEISENBORN, S.J.; WIELAND, U.; DRIES, V.; DIENES, H.P.; ECKEL, H.E.; PFISTER, H.J.; FUCHS, P.G. Expression of p16 protein identifies a distinct entity of tonsillar carcinomas associated with human papillomavirus. *American Journal of Pathology*, 162:747-753, 2003.
126. KOELLER, J. M.; AAPRO, M. S.; GRALLA, R. J.; GRUNBERG, S. M.; HESKETH, P. J.; KRIS, M. G.; CLARK-SNOW, R. A. Antiemetic guidelines: creating a more practical treatment approach. *Supportive Care in Cancer*, 10:519-522, 2002.
127. KREIMER, A. R.; CLIFFORD, G. M.; BOYLE, P.; FRANCESCHI, S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 14:467-475, 2005.
128. KRIS, M. G.; GRALLA, R. J.; CLARK, R. A.; TYSON, L. B.; O'CONNELL, J. P.; WERTHEIM, M. S.; KELSEN, D. P. Incidence, course, and severity of delayed nausea and vomiting following the administration of high-dose cisplatin. *Journal of Clinical Oncology*, 3(10):1379-1384, 1985.
129. KRSTEVSKA, V.; STOJKOVSKI, I.; LUKARSKI, D. Concurrent radiochemotherapy in advanced hypopharyngeal cancer. *Radiation Oncology*, 5:39, 2010.
130. KUO, K. T.; HSIAO, C. H.; LIN, C. H.; KUO, L. T.; HUANG, S. H.; LIN, M. C. The biomarkers of human papillomavirus infection in tonsillar squamous cell carcinoma-molecular basis and predicting favorable outcome. *Modern Pathology*, 21(4):376-386, 2008.
131. KUO, M. T.; CHEN, H. H. W.; SONG, I-S.; SAVARAJ, N.; ISHIKAWA, T. The roles of copper transporters in cisplatin resistance. *Cancer Metastasis Reviews*, 26:71-83, 2007.
132. KURODA, Y.; NAKAO, H.; IKEMURA, K.; KATOHK, T. Association between the TP53 codon 72 polymorphism and oral cancer risk and prognosis. *Oral Oncology*, 43:1043-1048, 2007.
133. KWONG, D. L.; WEI, W. I.; SHAM, J. S.; HO, W. K.; YUEN, P. W.; CHUA, D. T.; AU, D. K.; WU, P. M.; CHOY, D. T. Sensorineural hearing loss in patients treated for nasopharyngeal carcinoma: a prospective study of the effect of radiation and cisplatin treatment. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 36:281-289, 1996.
134. LACY, C. F.; ARMSTRONG, L. L.; GOLDMAN, M. P.; LANCE, L. L. *Drug Information Handbook: A Comprehensive Resource for all Clinicians and Healthcare Professionals*. 7. ed. Ohio: Lexi-Comp, 2008.
135. LAMBERT, R.; SAUVAGET, C.; DE CAMARGO CANCELA, M.; SANKARANARAYANAN, R. Epidemiology of cancer from the oral cavity and oropharynx. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 23:633-641, 2011.
136. LAZARUS, P.; PARK, J. Y. Metabolizing enzyme genotype and risk for upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncology*, 36:421-31, 2000.

137. LEE, S. Y.; CHOI, Y. Y.; CHOI, J. E.; KIM, M. J.; KIM, J. S.; JUNG, D. K.; KANG, H. G.; JEON, H. S.; LEE, W. K.; JIN, G.; CHA, S. I.; KIM, C. H.; JUNG, T. H.; PARK, J. Y. Polymorphisms in the Caspase Genes and the Risk of Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*, 5(8):1152-1158, 2010.
138. LEEMANS, C. R.; BRAAKHUIS, B. J.; BRAKENHOFF, R. H. The molecular biology of head and neck cancer. *Nature Reviews Cancer*, 11:9-22, 2011.
139. LEITHA, T.; GLASER, C.; PRUCKMAYER, M.; RASSE, M.; MILLESI, W.; LANG, S.; NASEL, C.; BACKFRIEDER, W.; KAINBERGER, F. Technetium-99m-MIBI in Primary and Recurrent Head and Neck Tumors: Contribution of Bone SPECT Image Fusion. *Journal of Nuclear Medicine*, 39:1166-1171, 1998.
140. LI, C.; CHEN, K.; LIU, Z.; WANG, L.E.; GERSHENWALD, J.E.; LEE, J.E.; PRIETO, V.G.; DUVIC, M.; GRIMM, E.A.; WEI, Q. Polymorphisms of TP53 Arg72Pro, but not P73 G4C14>A4tA4 and P21 Ser31Arg, contribute to risk of cutaneous melanoma. *Journal of Investigative Dermatology*, 128:1585-1588, 2007.
141. LI, G.; LIU, Z.; STURGIS, E. M.; SHI, Q.; CHAMBERLAIN, R. M.; SPITZ, M. R.; WEI, Q. Genetic polymorphisms of p21 are associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis*, 26:1596-1602, 2005.
142. LI, G.; STURGIS, E. M.; WANG, L. E.; CHAMBERLAIN, R. M.; AMOS, C. I.; SPITZ, M. R.; EL-NAGGAR, A. K.; HONG, W. K.; WEI, Q. Association of a p73 exon 2 G4C14-to-A4T14 polymorphism with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis*, 25:1911-1916, 2004.
143. LI, W.; THOMPSON, C. H.; O'BRIEN, C. J.; MCNEIL, E. B.; SCOLYER, R. A.; COSSART, Y. E.; VENESS, M. J.; WALKER, D. M.; MORGAN, G. J.; ROSE, B. R. Human papillomavirus positivity predicts favourable outcome for squamous carcinoma of the tonsil. *International Journal of Cancer*, 10;106(4): 553-558, 2003.
144. LIAMARKOPOULOS, E.; GAZOULI, M.; ARAVANTINOS, G.; TZANAKIS, N.; THEODOROPOULOS, G.; RIZOS, S. *Caspase 8* and *caspase 9* gene polymorphisms and susceptibility to gastric cancer. *Gastric Cancer*,14:317-321, 2011.
145. LIEU, J. E. C. Speech Language and Educational Consequences of Unilateral Hearing Loss in Children. *Archives Otolaryngology - Head & Neck Surgery*, 130: 524-530, 2004.
146. LIM, Y. C.; DESTA, Z.; FLOCKHART, D. A.; SKAAR, T. C. Endoxifen (4-hydroxy-N-desmethyl-tamoxifen) has anti-estrogenic effects in breast cancer cells with potency similar to 4-hydroxy-tamoxifen. *Cancer Chemotherapy Pharmacology*, 55(5): 471-478, 2005.
147. LIN, Y.C.; HUANG, H.I.; WANG, L.H.; TSAI, C.C.; LUNG, O.; DAI, C.Y.; YU, M.L.; HO, C.K.; CHEN, C.H. Polymorphisms of COX-2 765GO C and p53 codon 72 and risks of oral squamous cell carcinoma in a Taiwan population. *Oral Oncology*, 44:798-804, 2008.
148. LINK, H. Supportive therapy in medical therapy of head and neck tumors. *GMS Current Topics in Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery*, 22:347-355, 2012.

149. LITTEREST, C. L.; GRAM, T. E.; DEDRICK, R. L.; LEROY, A. F.; GUARINO, A. M. Distribution and disposition of platinum following intravenous administration of cis-diamminedichloroplatinum (II) (NSC-119875) to dogs. *Cancer Research*, 36:2340-2344, 1976.
150. LITTEREST, C. L.; TORRES, I. J.; GUARINO, A. M. Plasma levels and organ distribution of Pt in the rat, dog and dogfish shark following single intravenous administration of cis-dichlorodiammineplatinum (II). *Journal of Hematology & Oncology*, 7:169, 1977.
151. LIU, H.; LIANG, Y.; LI, Y.; LI, Y.; WANG, J.; WU, H.; WANG, Y.; TANG, S. C.; CHEN, J.; ZHOU, Q. Gene silencing of BAG-1 modulates apoptotic genes and sensitizes lung cancer cell lines to cisplatin-induced apoptosis. *Cancer Biology & Therapy*, 9:832-840, 2010.
152. LIU, J.; UEMATSU, H.; TSUCHIDA, N.; IKEDA, M-A. Association of caspase-8 mutation with chemoresistance to cisplatin in HOC313 head and neck squamous cell carcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 390:989-994, 2009.
153. LÓPEZ, R. V.; LEVI, J. E.; ELUF-NETO, J.; KOIFMAN, R. J.; KOIFMAN, S.; CURADO, M. P.; MICHALUART-JUNIOR, P.; FIGUEIREDO, D. L.; SAGGIORO, F. P.; DE CARVALHO, M. B.; KOWALSKI, L. P.; ABRAHÃO, M.; DE GÓIS-FILHO, F.; TAJARA, E. H.; WATERBOER, T.; BOFFETTA, P.; BRENNAN, P.; WÜNSCH-FILHO, V. Human papillomavirus (HPV) 16 and the prognosis of head and neck cancer in a geographical region with a low prevalence of HPV infection. *Cancer Causes and Control*, 25(4): 461-471, 2014.
154. LOPEZ-FLORES, A.; JURADO, R.; GARCIA-LOPEZ, P. A high-performance liquid chromatographic assay for determination of cisplatin in plasma, cancer, cell and tumor samples. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 52:366-372, 2005.
155. LOURENÇO, G. J.; SILVA, E. F.; RINCK-JUNIOR, J. A.; CHONE, C. T.; LIMA, C. S. CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 polymorphisms, tobacco and alcohol status and risk of head and neck squamous cell carcinoma. *Tumour Biology*, 32:1209-1215, 2011.
156. MAKIN, G. W.; CORFE, B. M.; GRFFITHS, G. J.; THISTLETHWAITE, A.; HICKMAN, J. A. & DIVE, C. Damage-induced Bax N-terminal change, translocation to mitochondria and formation of Bax dimers/complexes occur regardless of cell fate. *The EMBO Journal*, 20:6306–6315, 2001.
157. MANIC, S.; GATTI, L.; CARENINI, N.; FUMAGALLI, G.; ZUNINO, F.; PEREGO, P. Mechanisms controlling sensitivity to platinum complexes: role of p53 and DNA mismatch repair. *Current Cancer Drug Targets*, 3:21-29, 2003.
158. MARTIN, L. P.; HAMILTON, T. C.; SCHILDER, R. J. Platinum resistance: the role of DNA repair pathways. *Clinical Cancer Research*, 14:1291-1295, 2008.
159. MARTINS, R. G.; PARVATHANENI, U.; BAUMAN, J. E.; SHARMA, A. K.; RAEZ, L. E.; PAPAGIKOS, M. A.; YUNUS, F.; KURLAND, B. F.; EATON, K. D.; LIAO, J. J.; MENDEZ, E.; FUTRAN, N.; WANG, D. X.; CHAI, X.; WALLACE, S. G.; AUSTIN, M.; SCHMIDT, R.; HAYES, D. N. Cisplatin and radiotherapy with or without erlotinib in locally advanced

- squamous cell carcinoma of the head and neck: a randomized phase II trial. *Journal of Clinical Oncology*, 31:1415-1421, 2013.
160. MATAKIDOU, A.; EL GALTA, R.; WEBB, E.L.; RUDD, M.F.; BRIDLE, H.; EISEN, T.; HOULSTON, R.S. Genetic variation in the DNA repair genes is predictive of outcome in lung cancer. *Human Molecular Genetics*, 16: 2333-2340, 2007.
  161. MATLASHEWSKI, G.J.; TUCK, S.; PIM, D.; LAMB, P.; SCHNEIDER, J.; CRAWFORD, L.V. Primary structure polymorphism at amino acid residue 72 of human p53. *Molecular and Cellular Biology*, 7:961-963, 1987.
  162. MCALPINE, D.; JOHNSTONE, B. M. The ototoxic mechanism of cisplatin. *Hearing Research*, 47:191-203, 1990.
  163. MEDINA, J. A.; RUEDA, A.; DE PASOS, A. S.; CONTRERAS, J.; COBO, M.; MORENO, P.; BENAVIDES, M.; VILLANUEVA, A. N.; ALBA, E. A phase II study of concomitant boost radiation plus concurrent weekly cisplatin for locally advanced unresectable head and neck carcinomas. *Radiotherapy and Oncology*, 79:34-38, 2006.
  164. MELLO, J. A.; ACHARYA, S.; FISHEL, R.; ESSIGMANN, J. M. The mismatch-repair protein hMSH2 binds selectively to DNA adducts of the anticancer drug cisplatin. *Chemistry & Biology*, 3:579-589, 1996.
  165. MENDENHALL, W. M.; WERNING, J. W.; PFISTER, D. G. Treatment of head and neck cancers. In: De Vita, V. T.; Lawrence, T. S.; Rosemberg, S. A. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 9 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 729-780, 2011.
  166. MICHAUD, W. A.; NICHOLS, A. C.; MROZ, E. A.; FAQUIN, W. C.; CLARK, J. R.; BEGUM, S.; WESTRA, W. H.; WADA, H.; BUSSE, P. M.; ELLISEN, L. W.; ROCCO, J. W. Bcl-2 blocks cisplatin-induced apoptosis and predicts poor outcome following chemoradiation treatment in advanced oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 15:1645-1654, 2009.
  167. MILLER, C. S.; WHITE, D. K. Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma: a retrospective review of the literature. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 82(1):57-68, 1996.
  168. MITRA, D.; CHOUDHURY, K.; RASHID, MD. A. Concurrent chemotherapy in advanced head and neck carcinoma - A prospective randomized trial. *Bangladesh Journal of Otorhinolaryngology*, 17:88-95, 2011.
  169. MOORE, D. H.; TIAN, C.; MONK, B. J.; LONG, H. J.; OMURA, G. A.; BLOSS, J. D. Prognostic factors for response to cisplatin-based chemotherapy in advanced cervical carcinoma: a Gynecologic Oncology Group Study. *Gynecologic Oncology*, 116:44-49, 2010.
  170. MORI S.; NOSE M.; MORIKAWA H.; SATO A.; SAITO T.; SONG S. T.; TANDA N.; TESHIMA T. A novel evaluation system of metastatic potential of oral squamous cell carcinoma

- according to the histopathological and histochemical grading. *Oral Oncology*, 34:549-557, 1998.
171. MORISKY, D. E.; LEVINE, M.; GREEN, L. W.; LEVINE, D. M. Concurrent and predictive validity of self-report measure of medication adherence. *Medical Care*, 24:67-74, 1986.
  172. MORISKY, D. E.; LEVINE, M.; GREEN, L. W.; SMITH, C. R. Health education program effects on the management of hypertension in the elderly. *Archives of Internal Medicine*, 142:1835-1838, 1982.
  173. MORTIMER, J. E.; TAYLOR, M. E.; SCHULMAN, S.; CUMMINGS, C.; WEYMULLER, E. JR.; LARAMORE, G. Feasibility and efficacy of weekly intraarterial cisplatin in locally advanced (stage III and IV) head and neck cancers. *Journal of Clinical Oncology*, 1988:969-975, 1988.
  174. MÜNGER, K.; WERNESS, B.A.; DYSON, N.; PHELPS, W.C.; HARLOW, E.; HOWLEY, P.M. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *EMBO Journal*, 8: 4099–4105, 1989.
  175. NAGPAL, J. K.; PATNAIK, S.; DAS, B. R. Prevalence of high-risk human papillomavirus types and its association with P53 codon 72 polymorphisms tobacco addicted oral squamous cell carcinoma (OSCC) patients of Eastern India. *International Journal of Cancer*, 97:649-653, 2002.
  176. NATIONAL CANCER INSTITUTE (NCI). Cancer Therapy Evolution Program. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v 4.0, EUA, 2009. Disponível em: <<http://ctep.cancer.gov>>. Acesso em: 16 de Janeiro de 2013.
  177. NATIONAL INSTITUTE ON ALCOHOL ABUSE AND ALCOHOLISM (NIAAA) Nº 30 PH 359, 1995. *Alcohol Res Health*, 24:1-11, 2000.
  178. NAZIROGLU, M.; KARAOGU, A.; AKSOY, A. O. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology*, 195, 221–230, 2004.
  179. NORTHERN, J. L.; DOWNS, M. P. Hearing in children. 3ed. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 391, 1984.
  180. OH, Y. T.; KIM, C. H.; CHOI, J. H.; KANG, S. H.; CHUN, M. Sensory neural hearing loss after concurrent cisplatin and radiation therapy for nasopharyngeal carcinoma. *Radiotherapy Oncology*, 72:79-82, 2004.
  181. OLDENBURG, J.; KRAGGERUD, S. M.; BRYDØY, M.; CVANCAROVA, M.; LOTHE, R. A.; FOSSA, S. D. Association between long-term neuro-toxicities in testicular cancer survivors and polymorphisms in glutathione-s-transferase-P1 and -M1, a retrospective cross sectional study. *Journal of Translation Medicine*, 27:70, 2007.
  182. OLSHAN, A.F.; WEISSLER, M.C.; PEI, H.; CONWAY, K.; ANDERSON, S.; FRIED, D.B.; YARBROUGH, W.G. Alterations of the *p16* gene in head and neck cancer: frequency and association with *p53*, *PRAD-1* and HPV. *Oncogene*, 14:811–818, 1997.

183. ORAZIO, S. Hybrid SPECT/CT: a new era for SPECT imaging? *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 32: 521-524, 2005.
184. ORTEGA, M.M.; HONMA, H.N.; ZAMBON, L.; LORAND-METZE, I.; COSTA, F.F.; DE SOUZA, C.A.; LIMA, C.S.P. GSTM1 and Codon 72 P53 Polymorphism in advanced multiple myeloma. *Annals of Haematology*, 86(11): 815-819, 2007.
185. OSMAN, N.; ELAMIN, Y. Y.; RAFEE, S.; O'BRIEN, C.; STASSEN, L. F.; TIMON, C.; KINSELLA, J.; BRENNAN, S.; O'BYRNE, K. J. Weekly cisplatin concurrently with radiotherapy in head and neck squamous cell cancer: a retrospective analysis of a tertiary institute experience. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 2013.
186. OUDE OPHUIS, M. B.; ROELOFS, H. M.; VAN DEN BRANDT, P. A.; PETERS, W. H.; MANNI, J. J. Polymorphisms of the glutathione S-transferase P1 gene and head and neck cancer susceptibility. *Head Neck*, 25:37-43, 2003.
187. PABLA, N.; DONG, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney International*, 73:994-1007, 2008.
188. PARK, J.Y.; PARK, J.M.; JANG, J.S.; CHOI, J.E.; KIM, K.M.; CHA, S.I.; KIM, C.H.; KANG, Y.M.; LEE, W.K.; KAM, S.; PARK, R.W.; KIM, I.S.; LEE, J.T.; JUNG, T.H. Caspase 9 promoter polymorphisms and risk of primary lung cancer. *Human Molecular Genetics*, 15:1963-1971, 2006.
189. PENA, S. D.; DI PIETRO, G.; FUCHSHUBER-MORAES, M.; GENRO, J. P.; HUTZ, M. H.; KEHDY FDE, S.; KOHLRAUSCH, F.; MAGNO, L. A.; MONTENEGRO, R. C.; MORAES, M. O.; DE MORAES, M. E.; DE MORAES, M. R.; OJOPI, E. B.; PERINI, J. A.; RACCIOPPI, C.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, A. K.; RIOS-SANTOS, F.; ROMANO-SILVA, M. A.; SORTICA, V. A.; SUAREZ-KURTZ, G. The genomic ancestry of individuals from different geographical regions of Brazil is more uniform than expected. *PLoS One* 6(2):e17063, 2011.
190. PEREZ-ORDOÑEZ, B.; BEAUCHEMIN, M.; JORDAN, R. C. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Journal Clinic Pathology*, 59: 445-453, 2006.
191. POVEY, J.E.; DARAKHSHAN, F.; ROBERTSON, K.; BISSET, Y.; MEKKY, M.; REES, J.; DOHERTY, V.; KAVANAGH, G.; ANDERSON, N.; CAMPBELL, H.; MACKIE, R.M.; MELTON, D.W. DNA repair gene polymorphisms and genetic predisposition to cutaneous melanoma. *Carcinogenesis*, 28:1087-1093, 2007.
192. QUINTELA-FANDINO, M.; HITT, R.; MEDINA, P. P.; GAMARRA, S.; MANSO, L.; CORTEFUNES, H.; SNCHEZ-CESPEDES, M. DNA-repair gene polymorphisms predict favorable clinical outcome among patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck treated with cisplatin-base induction chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 24:4333-43339, 2006.
193. QUINTERO, K.; GIRALDO, G. A.; URIBE, M. L.; BAENA, A.; LOPEZ, C.; ALVAREZ, E.; SANCHEZ, G. I. Human papillomavirus types in cases of squamous cell carcinoma of head and neck in Colombia. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 79(3):375-381, 2013.

194. RAAFAT, S. A.; HABIB, E. E.; MAURICE A. M. Synchronous Chemoradiotherapy in Patients with Stage III and IV Head and Neck Cancer: Comparing Cisplatin with Capecitabine. *Journal of Cancer Therapy*, 3:1045-1051, 2012.
195. RABIK, C. A.; DOLAN, M. E. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treatment Review*, 33:9-23, 2007.
196. RADES, D.; KRONEMANN, S.; MEYNER, T.; BOHLEN, G.; TRIBIUS, S.; KAZIC, N.; SCHROEDER, U.; HAKIM, S. G.; SCHILD, S. E.; DUNST, J. Comparison of four cisplatin-based radiochemotherapy regimens for nonmetastatic stage III/IV squamous cell carcinoma of the head and neck. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 80:1037-1044, 2011.
197. RAGIN, C. C.; MODUGNO, F.; GOLLIN, S. M. The epidemiology and risk factors of head and neck cancer: a focus on human papillomavirus. *Journal of Dental Research*, 86:104-114, 2007.
198. RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. Rang & Dale's Pharmacology. 7 ed. Edinburgh: Elsevier, 360-371, 2012.
199. REED, E. Cisplatin, Carboplatin, and Oxaliplatin. In: Chabner B, editor. *Cancer chemotherapy and biotherapy*. Lippincott Williams & Wilkins, 332-343, 2006.
200. REED, E. Platinum analogs. In: De Vita, V. T.; Lawrence, T. S.; Rosenberg, S. A. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 9 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 386-392, 2011.
201. ROBINSON, M.; SCHACHE, A.; SLOAN, P.; THAVARAJ, S. HPV specific testing: a requirement for oropharyngeal squamous cell carcinoma patients. *Head and Neck Pathology*, 6:83-90, 2012.
202. ROILA, F.; HESKETH, P. J.; HERRSTEDT, J. Prevention of chemotherapy- and radiotherapy-induced emesis: results of the 2004 Perugia International Antiemetic Consensus Conference. *Annals of Oncology*, 17:20-28, 2006.
203. ROMANITAN, M.; NÄSMAN, A.; RAMQVIST, T.; DAHLSTRAND, H.; POLYKRETIS, L.; VOGIATZIS, P.; VAMVAKAS, P.; TASOPOULOS, G.; VALAVANIS, C.; ARAPANTONIDADIOTI, P.; BANIS, K.; DALIANIS, T. Human papillomavirus frequency in oral and oropharyngeal cancer in Greece. *Anticancer Research*, 28(4B):2077-2080, 2008.
204. RUSSO, I. C. P.; BEHLAU, M. Percepção da fala: análise acústica do Português brasileiro. São Paulo: Lovise, p. 57, 1993.
205. RUSSO, I. C. P.; PEREIRA, L. D.; CARVALLO, R. M. M.; ANASTÁSIO, A. R. T. Encaminhamentos sobre a classificação do grau de perda auditiva em nossa realidade. *Revista da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia*, 14(2):287-288, 2009.
206. RUWALI, M.; PANT, M. C.; SHAH, P. P.; MISHRA, B. N.; PARMAR, D. Polymorphism in cytochrome P450 2A6 and glutathione S-transferase P1 modifies head and neck cancer risk and treatment outcome. *Mutation Research*, 669:36-41, 2009.

207. RYBAK, L. P.; WHITWORTH, C. A.; MUKHERJEA, D.; RAMKUMAR, V. Mechanisms of cisplatin-induced ototoxicity and prevention. *Hearing Research*, 226:157-167, 2007.
208. SANTOS, A. M.; SOUSA, H.; PORTELA, C.; PEREIRA, D.; PINTO, D.; CATARINO, R.; RODRIGUES, C.; ARAÚJO, A. P.; LOPES, C.; MEDEIROS, R. *TP53* and *P21* polymorphisms: response to cisplatin/paclitaxel-based chemotherapy in ovarian cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 340:256–262, 2006.
209. SANTOS, N. A.; BEZERRA, C. S.; MARTINS, N. M.; CURTI, C.; BIANCHI, M. L.; SANTOS, A. C. Hydroxyl radical scavenger ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity by preventing oxidative stress, redox state unbalance, impairment of energetic metabolism and apoptosis in rat kidney mitochondria. *Cancer Chemotherapy Pharmacology*, 61:145-155, 2008.
210. SANTOS, R. A.; PORTUGAL, F. B.; FELIX, J. D.; SANTOS, P. M. O.; SIQUEIRA, M. M. Avaliação Epidemiológica de Pacientes com Câncer no Trato Aerodigestivo Superior: Relevância dos Fatores de Risco Álcool e Tabaco. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 58: 21-29, 2012.
211. SCHAFFER A, J.; HAWKINS, J. R. DNA variation and the future of human genetics. *Nature Biotechnology*, 16:33-39, 1998.
212. SCHLUMPF, M.; FISCHER, C.; NAEHRIG, D.; ROCHLITZ, C.; BUESS, M. Results of concurrent radio-chemotherapy for the treatment of head and neck squamous cell carcinoma in everyday clinical practice with special reference to early mortality. *BMC Cancer*, 13:610, 2013.
213. SCHWOCHAU, K. Technetium: Chemistry and Radiopharmaceutical Applications. Weinheim: Wiley-VCH, 446p, 2000.
214. SHEN, H.; LIU, Z.; STROM, S.S.; SPITZ, M.R.; LEE, J.E.; GERSHENWALD, J.E.; ROSS, M.I.; MANSFIELD, P.F.; DUVIC, M.; ANANTHASWAMY, H.N.; WEI, Q. P53 codon 72 Arg homozygotes are associated with an increased risk of cutaneous melanoma. *The Journal of Investigative Dermatology*, 121:1510-1514, 2003.
215. SHIBOSKI, C. H.; SCHMIDT, B. L.; JORDAN, R. C. Tongue and tonsil carcinoma: increasing trends in the U.S. population ages 20-44 years. *Cancer*, 1;103(9): 1843-1849, 2005.
216. SHIM, H. J.; YUN, J. Y.; HWANG, J. E.; BAE, W. K.; CHO, S. H.; LEE, J. H.; KIM, H. N.; SHIN, M. H.; KWEON, S. S.; LEE, J. H.; KIM, H. J.; CHUNG, I. J. BRCA1 and XRCC1 polymorphisms associated with survival in advanced gastric cancer treated with taxane and cisplatin. *Cancer Science*, 101:1247-1254, 2010.
217. SHIRAISHI, K.; KOHNO, T.; TANAI, C.; GOTO, Y.; KUCHIBA, A.; YAMAMOTO, S.; TSUTA, K.; NOKIHARA, H.; YAMAMOTO, N.; SEKINE, I.; OHE, Y.; TAMURA, T.; YOKOTA, J.; KUNITOH, H. Association of DNA repair gene polymorphisms with response to platinum-based doublet chemotherapy in patients with non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 28: 4945-4952, 2010.

218. SIDDIK, Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*, 22:7265-7279, 2003.
219. SIDDIK, Z. H.; JONES, M.; BOXALL, F. E.; HARRAP, K. R. Comparative distribution and excretion of carboplatin and cisplatin in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 21:19-24, 1988.
220. SIDRANSKY, D. Cancer of the head and neck. In: DE VITA, V. T.; HELLMAN, S.; SINGHI, A. D.; WESTRA, W. H. Comparison of human papillomavirus in situ hybridization and p16 immunohistochemistry in the detection of human papillomavirus-associated head and neck cancer based on a prospective clinical experience. *Cancer*, 116:2166-2173, 2010.
221. SILVERTHORN, D. U. Human physiology: an integrated approach. 5 ed. São Francisco: Pearson/Benjamin Cummings, 867p., 2010.
222. SINGH, N.; AGGARWAL, A. N.; GUPTA, D.; BEHERA, D. Prevalence of low body mass index among newly diagnosed lung cancer patients in north India and its association with smoking status. *Thoracic Cancer*, 2:27-31, 2011.
223. SINGH, N.; AGGARWAL, A. N.; GUPTA, D.; BEHERA, D.; JINDAL, S. K. Quantified smoking status and non-small cell lung cancer stage at presentation: analysis of a North India cohort and a systematic review of literature. *Journal of Thoracic Disease*, 4:474-484, 2012.
224. SINGHI, A. D.; WESTRA, W. H. Comparison of human papillomavirus in situ hybridization and p16 immunohistochemistry in the detection of human papillomavirus-associated head and neck cancer based on a prospective clinical experience. *Cancer*, 116:2166-2173, 2010.
225. SNOW, A. N.; LAUDADIO, J. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cell carcinomas. *Advances in Anatomic Pathology*, 17:394-403, 2010.
226. SON, J.Y.; SHIN, J.W.; WANG, J.H.; PARK, H.J.; KIM, H.G.; RAGHAVENDRAN, H.R.; SON, C.G. Chemotherapy-induced myelotoxicity and incidence of lung metastasis in an animal model. *Human & Experimental Toxicology*, 30(7):649-655, 2011.
227. STEFANAKI, I.; STRATIGOS, A.J.; DIMISIANOS, G.; NIKOLAOU, V.; PAPADOPOULOS, O.; POLYDOROU, D.; GOGAS, H.; TSOUTSOS, D.; PANAGIOTOU, P.; KANAVAKIS, E.; ANTONIOU, C.; KATSAMBAS, A.D. P53 codon 72 Pro homozygosity increases the risk of cutaneous melanoma in individuals with dark skin complexion and among noncarriers of melanocortin 1 receptor red hair variants. *British Journal of Dermatology*, 156:357-362, 2006.
228. STELOW, E. B.; JO, V. Y.; STOLER, M. H.; MILLS, S. E. Human papillomavirus-associated squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract. *The American Journal of Surgical Pathology*, 34:15-24, 2010.
229. STENGES, C. H.; KLIS, S. F.; HUIZING, E. H.; SMOORENBURG, G. F. Cisplatin ototoxicity. An electrophysiological dose-effect study in albino guinea pigs. *Hearing Research*, 124:99-107, 1998.

230. SUMMERSGILL, K.F.; SMITH, E.M.; KIRCHNER, H.L.; HAUGEN, T.H.; TUREK, L.P. P53 polymorphism human papillomavirus infection in the oral cavity, and oral cancer. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics*, 90:334-339, 2000.
231. SYRJANEN, S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *Journal of Clinical Virology*, 32:59-66, 2005.
232. THAVARAJ, S.; STOKES, A.; GUERRA, E.; BIBLE, J.; HALLIGAN, E.; LONG, A.; OKPOKAM, A.; SLOAN, P.; ODELL, E.; ROBINSON, M. Evaluation of human papillomavirus testing for squamous cell carcinoma of the tonsil in clinical practice. *Journal of Clinical Pathology*, 64(4):308-312, 2011.
233. THEODOROPOULOS, G. E.; GAZOULI, M.; VAIPOULOU, A.; LEANDROU, M.; NIKOULI, S.; VASSOU, E.; KOURAKLIS, G.; NIKITEAS, N. Polymorphisms of *Caspase 8* and *Caspase 9* gene and colorectal cancer susceptibility and prognosis. *International Journal of Colorectal Disease*, 26:1113-1118, 2011.
234. THEODOROPOULOS, G. E.; MICHALOPOULOS, N. V.; PANOUSSOPOULOS, S. G.; TAKA, S.; GAZOULI, M. Effects of caspase-9 survivin gene polymorphisms in pancreatic cancer risk and tumor characteristics. *Pancreas Journal*, 39:976-980, 2010.
235. THEODOROPOULOS, G. E.; MICHALOPOULOS, N. V.; PANTOU, M. P.; KONTOGIANNI, P.; GAZOULI, M.; KARANTANOS, T.; LYMPERI, M.; ZOGRAFOS, G. C. *Caspase 9* promoter polymorphisms confer increased susceptibility to breast cancer. *Cancer Genetics*, 205:508-512, 2012.
236. TU, H.F.; CHEN, H.W.; KAO, S.Y.; LIN, S.C.; LIU, C.J.; CHANG, K.W. MDM2 SNP 309 and p53 codon 72 polymorphisms are associated with the outcome of oral carcinoma patients receiving postoperative irradiation. *Radiotherapy & Oncology*, 87:243-252, 2008.
237. VAN PERSIJN VAN MEERTEN, E. L.; GELDERBLOM, H.; BLOEM, J. L. Recist revised: implications for the radiologist. A review article on the modified RECIST guideline. *European Radiology*, 20:1456-1467, 2010.
238. VANDENDRIES, E.R.; DREWS, R.E. Drug-associated disease: hematologic dysfunction. *Critical Care Clinics*, 22(2):347-355, 2006.
239. VIKHANSKAYA, F.; SIDDIQUE, M. M.; LEE, M. K.; BROGGINI, M.; SABAPATHY, K. Evaluation of the combined effect of p53 codon 72 polymorphism and hotspot mutations in response to anticancer drugs. *Clinical Cancer Research*, 11: 4348-4356, 2005.
240. VIVEK, R. S.; BALUDAVID, M.; MOHANRAM, R.; CHITRA; AMANULLAH; VIJAYALAKSHMI; BALA; KALAIYARASI; SARAVANAN. Concurrent chemo-irradiation using accelerated concomitant boost radiation therapy in loco-regionally advanced head and neck squamous cell carcinomas. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 2:90-96, 2006.
241. VOUILLAMOZ-LORENZ, S.; BAUER, J.; LEJEUNE, F.; DECOSTERD, L. A. Validation of an AAS method for the determination of platinum in biological fluids from patients receiving the

- oral platinum derivative JM216. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25:465-475, 2001.
242. WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4:307-320, 2005.
243. WANG, X.; MARTINDALE, J. L.; HOLBROOK, N. J. Requirement for ERK activation in cisplatin-induced apoptosis. *Journal of Biological Chemistry*, 275:39435-39443, 2000.
244. WANG, Y.; JUAN, L.V.; MA, X.; WANG, D.; MA, H.; CHANG, Y.; NIE, G.; JIA, L.; DUAN, X.; LIANG, X.J. Specific hemosiderin deposition in spleen induced by a low dose of cisplatin: altered iron metabolism and its implication as an acute hemosiderin formation model. *Current Drug Metabolism*, 11(6):507-515, 2010.
245. WEIJL, N. I.; ELSEENDOORN, T. J.; LENTJES, E. G.; HOPMAN, G. D.; WIPKINK-BAKKER, A.; ZWINDERMAN, A. H.; CLETON, F. J.; OSANTO, S. Supplementation with antioxidant micronutrients and chemotherapy-induced toxicity in cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *European Journal of Cancer*, 40(11): 1713-1723, 2004.
246. WHITCOMB, C. D.; YADAV, D.; ADAM, S.; HAWES, R. H.; BRAND, R. E.; ANDERSON, M. A.; MONEY, M. E.; BANKS, P. A.; BISHOP, M. D.; BAILLIE, J.; SHERMAN, S.; DISARIO, J.; BURTON, F. R.; GARDNER, T. B.; AMANN, S. T.; GELRUD, A.; LO, S. K.; DEMEO, M. T.; STEINBERG, W. M.; KOCHMAN, M. L.; ETEMAD, B.; FORSMACK, C. E.; ELINOFF, B.; GREER, J. B.; O'CONNELL, M.; LAMB, J.; BARMADA, M. M. Multicenter approach to recurrent acute and chronic pancreatitis in the United States: The north American pancreatitis study 2 (NAPS2). *Pancreatology*, 8:520-531, 2008.
247. WHITE, R.; BRANDNAM, V. *Handbook of Drug Administration via Enteral Feeding Tubes*. Londres: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2007.
248. WIEST, T.; SCHWARZ, E.; ENDERS, C.; FLECHTENMACHER, C.; BOSCH, F.X. Involvement of intact HPV16 E6/E7 gene expression in head and neck cancers with unaltered p53 status and perturbed pRb cell cycle control. *Oncogene*, 21:1510–1517, 2002.
249. WILCZYNSKI, S. P.; LIN, B. T.; XIE, Y.; PAZ, I. B. Detection of human papillomavirus DNA and oncoprotein overexpression are associated with distinct morphological patterns of tonsillar squamous cell carcinoma. *American Journal of Pathology*, 152(1): 145-156, 1998.
250. WITTEKINDT, C.; GÜLTEKIN, E.; WEISSENBORN, S. J.; DIENES, H. P.; PFISTER, H. J.; KLUSSMANN, J. P. Expression of p16 protein is associated with human papillomavirus status in tonsillarcarcinomas and has implications on survival. *Advances In Oto-Rhino-Laryngology*, 62:72-80, 2005.
251. WOLFF, H. A.; OVERBECK, T.; ROEDEL, R. M.; HERMANN, R. M.; HERRMANN, M. K.; KERTESZ, T.; VORWERK, H.; HILLE, A.; MATTHIAS, C.; HESS, C. F.; CHRISTIANSEN, H. Toxicity of daily low dose cisplatin in radiochemotherapy for locally advanced head and neck cancer. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 135:961-967, 2009.

252. WONG, S. J.; HARARI, P. M.; GARDEN, A. S.; SCHWARTZ, M.; BELLM, L.; CHEN, A.; CURRAN, W. J.; MURPHY, B. A.; ANG, K. K. Longitudinal Oncology Registry of Head and Neck Carcinoma (LORHAN): analysis of chemoradiation treatment approaches in the United States. *Cancer*, 117:1679-1686, 2011.
253. WOOD, P. A.; HRUSHESKY, W. J. Cisplatin-associated anemia: an erythropoietin deficiency syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 95(4): 1650-1959, 1995.
254. WOODHEAD, J. L.; FALLON, R.; FIGUEREDO, H.; LONGDALE, J.; MALCOM, A. D. Alternative methodology of gene diagnosis. In: DAVIES, K.E. *Human genetic diseases: a practical approach*. Oxford: IRL Press Limited, 51-64, 1986.
255. WU, W.; WANG, H. D.; GUO, W.; YANG, K.; ZHAO, Y. P.; JIANG, Y. G.; HE, P. Up-regulation of fas reverses cisplatin resistance of human small cell lung cancer cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 14:29-49, 2010.
256. WU, Y. J.; MULDOON, L. L.; NEUWELT, E. A. The chemoprotective agent N-Acetylcysteine blocks cisplatin-induced apoptosis through caspase signaling pathway. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 312, 424–431, 2005.
257. XU, X.; DUAN, L.; ZHOU, B.; MA, R.; ZHOU, H.; LIU, Z. Genetic polymorphism of copper transporter protein 1 is related to platinum resistance in Chinese non-small cell lung carcinoma patients. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 786-792, 2012a.
258. XU, X.; REN, H.; ZHOU, B.; ZHAO, Y.; YUAN, R.; MA, R.; ZHOU, H.; LIU, Z. Prediction of copper transport protein 1 (CTR1) genotype on severe cisplatin induced toxicity in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. *Lung Cancer*, 77(2): 438-442, 2012b.
259. YADAV, D.; ADAM, S.; SHERMAN, S.; HAWES, R. H.; ANDERSON, M. A.; BURTON, F. R.; BRAND, R. E.; LEWIS, M. D.; GARDNER, T. B.; GELRUD, A.; DISARIO, J.; AMANN, S. T.; BAILLIE, J.; LAWRENCE, C.; O'CONNELL, M.; LOWENFELS, A. B.; BANKS, P. A.; WHITCOMB, D. C. Smoking is underrecognized as a risk factor for chronic pancreatitis. *Pancreatology*, 10:713-719, 2010.
260. YANG, E.S.; MURPHY, B.M.; CHUNG, C.H.; NETTERVILLE, J.L.; BURKEY, B.B.; GILBERT, J.; YARBROUGH, W.G.; SINARD, R.; CMELAK, A.J. Evolution of clinical trials in head and neck cancer. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 71:29-42, 2009.
261. YOHAS, J. M.; CULO, F. Selective Inhibition of the Nephrotoxicity of Cisdichlorodiammineplatinun (II) by WR-2721 Without Altering its Antitumor Properties. *Cancer Treatment Reports*, 64: 57-64, 1980.
262. YOO, S. S.; CHOI, J. E.; LEE, W. K.; CHOI, Y. Y.; KAM, S.; KIM, M. J.; JEON, H. S.; LEE, E. B.; KIM, D. S.; LEE, M. H.; KIM, I. S.; JHEON, S.; PARK, J. Y. Polymorphisms in the CASPASE genes and survival in patients with early-stage non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 34: 5823-5829, 2009.

263. YU, H.; HUANG, Y.J.; LIU, Z.; WANG, L.E.; LI, G.; STURGIS, E.M.; JOHNSON, D.G.; WEI, Q. Effects of MDM2 promoter polymorphisms and p53 codon 72 polymorphism on risk and age at onset of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Molecular Carcinogenesis*, 50:697-706, 2011.
264. ZHANG, Y. G.; ZHANG, F.; SUN, Z.; GUO, W.; LIU, J.; LIU, M.; GUO, X. A controlled case study of the relationship between environmental risk factors and apoptotic gene polymorphism and lumbar disc herniation. *The American Journal of Pathology*, 182(1):56-63, 2013.
265. ZHENG, Y.; XIA, P.; ZHENG, H. C.; TAKAHASHI, H.; MASUDA, S.; TAKANO, Y. The screening of viral risk factors in tongue and pharyngolaryngeal squamous carcinoma. *Anticancer Research*, 30:1233-1238, 2010.
266. ZOHAR; K.; ORA; I.; YODPHAT; K. SPECT/CT in Tumor Imaging: Technical Aspects and Clinical Applications. *Seminars in Nuclear Medicine*; 33:205-218; 2003.

**Anexo 1**

**FORMULÁRIO PARA INVESTIGAR TOXICIDADE DURANTE INFUSÃO DO FÁRMACO**

Nome: \_\_\_\_\_ HC: \_\_\_\_\_ Ciclo: \_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Fazer um "X" se houver o efeito no momento da infusão e o grau associado ao mesmo:

Efeito Adverso	Grau I	Grau II	Grau III	Grau IV
NÁUSEA	Leve	Moderada	Severa	-
VÔMITO	1 episódio	2-5 episódios	≥ 6 episódios	Consequências fisiológicas que requerem terapia intensiva, ou colapso hemodinâmico

\* Este quadro foi adaptado do protocolo para que pudesse ser aplicável no momento da infusão

## Anexo 2

### QUESTIONÁRIO PARA INVESTIGAR DE TOXICIDADE APÓS A QUIMIOTERAPIA

Nome: \_\_\_\_\_ HC: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

#### **Náusea**

	Não	Sim	Conseguiu comer?	Comeu menos?	Não conseguiu comer absolutamente nada
D1					
D2					
D3					
D4					
D5					

**Grau:** \_\_\_\_\_

#### **Vômito**

	Não	Sim	Quantas vezes?	Medicamentos utilizados?	Como tomou?
D1					
D2					
D3					
D4					
D5					

**Grau:** \_\_\_\_\_

### Anexo 3

#### TESTE DE MEDIDA DE ADESÃO DE MORISKY

Paciente: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

( ) Caso Novo

( ) Retorno \_\_\_\_\_

Problema de saúde/medicamento: \_\_\_\_\_

Perguntas	Pontuação	
1. Alguma vez você esqueceu de tomar os medicamentos para a sua doença?	Sim (0)	Não (1)
2. Alguma vez você foi descuidado com os horários de tomar os medicamentos?	Sim (0)	Não (1)
3. Alguma vez você deixou de tomar os medicamentos para a sua doença, por se sentir melhor?	Sim (0)	Não (1)
4. Alguma vez você deixou de tomar os medicamentos para a sua doença, por iniciativa própria, após ter se sentido pior?	Sim (0)	Não (1)
Na ocorrência de pelo menos uma resposta "sim", aplicar as duas questões seguintes		
	Motivação	Conhecimento
5. Você foi informado sobre a importância e o benefício de usar o medicamento?	***	Sim/Não
6. Você se esquece de repor os medicamentos antes que termine?	Sim/Não	***

Score: 0 à 1 pontos: baixa adesão; 2 à 3 pontos: média adesão; 4 pontos: alta adesão



## Anexo 4

Termo de consentimento informado do estudo intitulado **“Farmacogenética da Cisplatina Associada à Radioterapia em Portadores de Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço”**

**Nome do Paciente:** .....

**Idade:**.....anos                      **RG:** .....                      **HC:** .....

**Endereço:** .....

.....

.....

**Nome do responsável legal** (se paciente incapacitado):

.....

.....

**RG:**.....**Grau de parentesco:** .....

**Endereço:** .....

.....

.....

Aceito participar do estudo, no qual fornecerei uma amostra de sangue (volume: 10 ml) a ser colhida em veia de um dos braços. Estou ciente de que este sangue será utilizado para a avaliação de uma predisposição familiar para o desenvolvimento de tumor na região da cabeça e do pescoço. Estou ciente que um fragmento do tumor retirado para estabelecer o diagnóstico da minha doença será utilizado para avaliar as características próprias deste tumor. Sei que serei submetido a exame de imagem (SPECT-CT) para verificar a extensão do tumor na região da cabeça e do pescoço no momento do diagnóstico e após o tratamento da minha doença com quimioterapia e radioterapia. Estou ciente de que este exame implicará em pequena dose adicional de radiação na região da cabeça e do pescoço. Sei que serei submetido a exame para avaliar a atividade do meu rim (taxa de filtração glomerular com EDTA-<sup>51</sup>Cr) no momento do diagnóstico e após o tratamento da minha doença, para verificar se este órgão foi alterado pelo quimioterápico. Para o exame, serei submetido à três punções em veia de um e do outro braço. Sei que posso sentir dor de pequena intensidade e de curta duração nos locais de punção da veia.

Estou ciente de que fornecerei amostras de urina para quantificar o quimioterápico utilizado para tratar a minha doença. Sei que serei submetido a testes para verificar se os meus ouvidos foram lesados pelo tratamento, nos quais serei submetido a sons de diferentes frequências (agudo e grave) e intensidades (alto e baixo) para avaliar. Estou ciente de que não terei prejuízos com a realização destes exames. Sei que terei direito de saber o resultado dos meus exames, caso esteja interessado. Sei que posso sair do estudo a qualquer momento e que isto não vai prejudicar o meu tratamento na UNICAMP. Ainda, estou ciente que participarei de consultas com o farmacêutico e responderei a uma série de questionários que este profissional aplicará, sobre qualidade de vida, utilização de medicamentos e efeitos colaterais da quimioterapia.

Sei que meus dados pessoais serão mantidos em sigilo pelo pesquisador. Estou ainda ciente, que nenhum outro estudo usando o mesmo material será realizado sem a aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da UNICAMP. Se tiver dúvidas sobre o estudo poderei procurar a Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima, no ambulatório de Oncologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP, Tel: (019) 3521 7496, 3521 7363.

Se tiver reclamações sobre o estudo, poderei procurar a secretaria do Comitê de Ética da FCM da UNICAMP. Tel: (019) 3521-8936 ou 3521-7187.

Tenho a opção ou não de aceitar o armazenamento do material genético por mim fornecido (Resolução 340/04), abaixo relacionada.

( ) aceito o armazenamento ( ) não aceito o armazenamento

Eu li/ouvi o conteúdo deste termo e recebi esclarecimentos sobre as minhas dúvidas oralmente

---

**Assinatura do paciente**

---

**Assinatura do responsável legal**

---

**Assinatura do pesquisador legal**

**Campinas, \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_**

## Anexo 5



Termo de consentimento informado para obtenção, utilização e divulgação de imagens pessoais no estudo intitulado **“Farmacogenética da Cisplatina Associada à Radioterapia em Portadores de Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço”**

**Nome do Paciente:** .....

**Idade:** ..... anos                      **RG:** .....                      **HC:** .....

**Endereço:** .....

.....  
.....

**Nome do responsável legal** (se paciente incapacitado):

.....  
.....

**RG:** .....                      **Grau de parentesco:** .....

**Endereço:**

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

Permito que os pesquisadores do Serviço de Oncologia Clínica do Hospital de Clínicas da UNICAMP tirem fotografias da minha pessoa.

Consinto que estas imagens sejam utilizadas para finalidade didática e científica, divulgadas em aulas, palestras, conferências, cursos, congressos, e outros eventos científicos.

Consinto também que estas imagens sejam publicadas em livros, artigos, portais de internet, revistas científicas e similares.

Consinto também que as imagens de meus exames, como radiografias, tomografias computadorizadas, ressonâncias magnéticas, ultrassonografias, eletromiografias, histopatológicos (exame no microscópio da peça cirúrgica retirada) e outros, sejam utilizadas e divulgadas com os mesmos propósitos citados acima.

Este consentimento pode ser revogado, sem qualquer ônus ou prejuízo à minha pessoa, a meu pedido ou solicitação, desde que a revogação ocorra antes da publicação.

Fui esclarecido de que não receberei nenhum ressarcimento ou pagamento pelo uso das minhas imagens e também compreendi que a equipe de profissionais que me atende e atenderá durante todo o tratamento não terá qualquer tipo de ganhos financeiros com a exposição da minha imagem nas referidas publicações.

Estou ciente de que não será mostrado o meu rosto afim de que eu não seja reconhecido. Sei que meus dados pessoais serão mantidos em sigilo pelo pesquisador.

Se tiver dúvidas sobre o uso de minhas imagens poderei procurar a Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima, no ambulatório de Oncologia do Hospital de Clínicas da UNICAMP, Tel: (019) 3521 7496, 3521 7363.

Eu li/ouvi o conteúdo deste termo e recebi esclarecimentos sobre as minhas dúvidas oralmente.

---

**Assinatura do paciente**

---

**Assinatura do responsável legal**

---

**Assinatura do pesquisador legal**

**Campinas, \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_**

## Anexo 6



CEP, 02/02/02.  
(PARECER CEP: N° 274/2011)

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

[www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa](http://www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa)

### PARECER

#### I – IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: “INFLUÊNCIA DA FARMACOGENÔMICA NO EFEITO TERAPÊUTICO, TOXICIDADE E FARMACOCINÉTICA DA CISPLATINA ASSOCIADA À RADIOTERAPIA EM PORTADORES DE CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE CABEÇA E PESCOÇO”.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Carmen Sílvia Passos Lima

#### II – PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou o adendo que inclui o projeto “Polimorfismos *P53 Arg72Pro*, *CASP3 A-928G* e *CASP9 A-1263G* e *C-712T*, Relacionados à Apoptose, na Farmacogenética da Cisplatina Associada à Radioterapia em Portadores de Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço” sob responsabilidade da aluna Ericka Francislaine Dias Costa, referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

#### III – DATA DA REUNIÃO

Aprovado “ad referendum” em 02/02/2012.

A ser homologado na II Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 28 de fevereiro de 2012.

Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner  
PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP  
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126  
Caixa Postal 6111  
13083-887 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936  
FAX (019) 3521-7187  
cep@fcm.unicamp.br

## Anexo 7

Distribuição dos 145 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, inseridos inicialmente no estudo, de acordo com a situação final e causa de exclusão

<b>Caso</b>	<b>Situação</b>	<b>Causa da Exclusão</b>	<b>Caso</b>	<b>Situação</b>	<b>Causa da Exclusão</b>
1	Inserido	NA	74	Excluído	DR
2	Inserido	NA	75	Excluído	DA
3	Excluído	KPS reduzido	76	Excluído	DA
4	Excluído	DR	77	Excluído	QT de indução
5	Inserido	NA	78	Inserido	NA
6	Inserido	NA	79	Inserido	NA
7	Excluído	DR	80	Excluído	DR
8	Inserido	NA	81	Excluído	Abandono do tratamento
9	Inserido	NA	82	Excluído	DR
10	Excluído	Abandono do tratamento	83	Excluído	DR
11	Inserido	NA	84	Excluído	KPS reduzido
12	Inserido	NA	85	Excluído	DR
13	Excluído	KPS reduzido	86	Inserido	NA
14	Inserido	NA	87	Inserido	NA
15	Excluído	KPS reduzido	88	Inserido	NA
16	Inserido	NA	89	Inserido	NA
17	Inserido	NA	90	Inserido	NA
18	Excluído	DR	91	Excluído	KPS reduzido
19	Inserido	NA	92	Excluído	DR
20	Inserido	NA	93	Inserido	NA
21	Inserido	NA	94	Inserido	NA
22	Excluído	KPS reduzido	95	Inserido	NA
23	Inserido	NA	96	Excluído	DA
24	Inserido	NA	97	Inserido	NA
25	Excluído	DR	98	Inserido	NA
26	Inserido	NA	99	Inserido	NA
27	Excluído	DR	100	Excluído	DR
28	Excluído	Abandono do tratamento	101	Inserido	NA
29	Inserido	NA	102	Inserido	NA
30	Excluído	KPS reduzido	103	Inserido	NA
31	Inserido	NA	104	Excluído	QT de indução

---

32	Inserido	NA	105	Inserido	NA
33	Inserido	NA	106	Inserido	NA
34	Excluído	DR	107	Excluído	KPS reduzido
35	Excluído	DR	108	Inserido	NA
36	Inserido	NA	109	Inserido	NA
37	Excluído	QT de indução	110	Inserido	NA
38	Inserido	NA	111	Inserido	NA
39	Inserido	NA	112	Inserido	NA
40	Inserido	NA	113	Inserido	NA
41	Inserido	NA	114	Inserido	NA
42	Excluído	KPS reduzido	115	Inserido	NA
43	Inserido	NA	116	Inserido	NA
44	Inserido	NA	117	Excluído	QT de indução
45	Inserido	NA	118	Excluído	DR
46	Inserido	NA	119	Excluído	KPS reduzido
47	Excluído	KPS reduzido	120	Inserido	NA
48	Inserido	NA	121	Excluído	QT de indução
49	Inserido	NA	122	Inserido	NA
50	Inserido	NA	123	Inserido	NA
51	Excluído	DR	124	Inserido	NA
52	Excluído	Abandono do tratamento	125	Inserido	NA
53	Excluído	DR	126	Inserido	NA
54	Excluído	KPS reduzido	127	Inserido	NA
55	Inserido	NA	128	Inserido	NA
56	Inserido	NA	129	Inserido	NA
57	Inserido	NA	130	Inserido	NA
58	Inserido	NA	131	Excluído	DA
59	Excluído	KPS reduzido	132	Inserido	NA
60	Inserido	NA	133	Inserido	NA
61	Excluído	KPS reduzido	134	Excluído	Abandono do tratamento
62	Inserido	NA	135	Inserido	NA
63	Inserido	NA	136	Inserido	NA
64	Inserido	NA	137	Inserido	NA
65	Excluído	DR	138	Inserido	NA
66	Excluído	DR	139	Excluído	DR
67	Excluído	DA	140	Inserido	NA
68	Excluído	KPS reduzido	141	Excluído	KPS reduzido

---

---

69	Inserido	NA	142	Excluído	KPS reduzido
70	Excluído	KPS reduzido	143	Inserido	NA
71	Inserido	NA	144	Excluído	KPS reduzido
72	Inserido	NA	145	Inserido	NA
73	Excluído	DR			

---

(NA) não se aplica; (DR) disfunção renal; (DA) disfunção auditiva; (KPS) *Karnofsky performance scale*; (QT de indução) quimioterapia de indução

## Anexo 8

Distribuição dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com a idade, o sexo, a etnia, o índice de massa corpórea, a presença de hipertensão arterial e diabetes mellitus e os padrões de etilismo e de tabagismo

Caso	Idade (anos)	Sexo	Etnia	IMC	HAS	DM	Etilismo	Tabagismo
1	59	M	C	18,2	N	N	NA	TA
2	59	M	C	16,2	N	N	EMA	TA
5	54	M	C	22,3	N	N	EA	TM
6	55	M	C	23,5	N	S	EMA	TM
8	44	M	C	21,7	N	N	NA	TA
9	53	M	C	17,4	N	N	EA	TA
11	62	M	C	17,2	N	N	EM	TA
12	46	M	NE	15,6	S	N	EA	TA
14	65	M	C	23,3	S	S	EA	TA
16	61	M	C	21,5	S	N	EA	TA
17	30	M	C	17,9	N	N	EM	TM
19	53	M	C	19,0	S	S	ED	TM
20	54	M	C	26,9	S	N	A	TA
21	48	M	NE	17,1	N	N	EA	TA
23	57	M	C	16,1	N	N	NA	TA
24	63	M	C	19,4	N	N	EA	TA
26	49	M	C	23,3	N	N	A	TA
29	53	M	C	15,6	N	N	EA	TA
31	64	M	C	16,3	N	N	EMA	TA
32	45	F	NE	13,5	S	N	EMA	TA
33	64	M	C	18,4	S	S	NA	NA
36	53	M	C	20,4	N	N	EMA	TA
38	51	M	C	18,0	N	N	EA	TA
39	63	M	C	24,5	S	N	EA	TA
40	55	M	C	13,8	N	N	EMA	TA
41	45	M	C	17,3	N	N	EA	TA
43	69	M	C	14,2	N	N	EM	TA
44	63	M	C	16,6	N	N	EM	TA

---

45	63	M	C	15,7	S	N	EMA	TA
46	64	M	C	15,0	S	N	EM	TA
48	66	F	C	26,9	S	N	A	NT
49	44	M	C	21,0	N	N	EA	TA
50	53	M	C	16,5	N	N	EMA	TA
55	55	F	C	13,4	N	N	EMA	TA
56	55	M	C	13,7	N	N	EA	TM
57	55	M	C	13,8	N	N	EA	TA
58	66	M	C	20,8	N	N	A	TA
60	27	F	C	21,1	N	N	A	NT
62	61	M	C	18,6	N	N	EM	TA
63	57	M	C	19,7	N	N	EA	TA
64	51	M	NE	19,7	N	S	EA	TA
69	41	M	C	27,0	N	N	EA	TA
71	37	M	C	20,2	N	N	EA	TA
72	62	F	C	14,5	N	N	A	TA
78	55	M	C	16,6	N	N	EA	TA
79	51	M	C	31,5	S	N	EMA	TA
86	59	F	C	17,1	S	N	EM	TA
87	59	M	C	20,8	N	N	ED	TA
88	56	M	C	16,6	S	N	EMA	TA
89	57	M	C	18,5	N	N	EMA	TA
90	47	F	C	24,4	S	N	EA	TA
93	61	M	NE	20,6	S	N	ED	TM
94	46	M	C	16,4	N	N	EMA	TA
95	58	M	C	13,0	N	N	EMA	TA
97	56	M	C	16,9	N	N	EM	TA
98	47	M	C	18,1	N	S	EA	TA
99	58	M	C	21,3	N	N	EMA	TA
101	63	M	C	25,8	S	N	EM	TA
102	57	M	C	18,3	N	N	EM	TA
103	61	M	C	20,9	N	N	EMA	TA
105	53	M	C	19,5	S	N	EMA	TA
106	54	M	C	17,1	N	N	EMA	TA
108	44	M	C	14,5	N	N	EMA	TA
109	64	M	C	15,9	S	N	EM	TD
110	44	M	C	24,1	N	N	EMA	TA

---

111	72	M	C	22,6	N	N	EMA	TA
112	66	M	C	24,8	N	N	EA	TA
113	52	M	C	17,2	N	N	EMA	TA
114	58	M	C	19,7	N	N	EM	TA
115	57	M	C	18,2	N	S	EMA	TA
116	37	M	C	27,1	N	N	EM	TM
120	47	M	C	21,5	N	N	EMA	TA
122	53	M	C	25,1	N	N	EMA	TA
123	47	M	C	15,5	S	N	EMA	TM
124	73	M	C	19,7	N	N	EA	TA
125	41	M	NE	16,7	N	N	EMA	TA
126	60	M	C	18,5	N	N	EMA	TA
127	58	M	C	20,8	N	N	EMA	TA
128	47	M	C	17,5	N	N	EMA	TA
129	59	M	C	14,5	N	N	EMA	TA
130	74	M	C	18,9	S	N	EM	TA
132	56	M	C	29,8	N	N	EMA	TA
133	67	M	C	15,9	N	N	EMA	TA
135	41	M	NE	19,1	S	S	EM	TA
136	62	M	C	31,5	S	S	ED	TA
137	54	M	C	13,8	N	N	EMA	TA
138	59	M	C	25,1	N	N	EMA	TA
140	62	M	C	19,2	N	S	EA	TA
143	57	M	C	21,7	S	N	EMA	TA
145	64	M	C	20,5	N	N	A	TA

(IMC) índice de massa corpórea; (HAS) hipertensão arterial sistêmica; (DM) diabetes mellitus; (M) masculino, (F) feminino; (C) caucasóide; (NE) negróide; (N) não; (S) sim; (NA) não avaliado; (A) abstinência; (ED) etilista discreto; (EM) etilista moderado; (EA) etilista acentuado; (EMA) etilista mais que acentuado; (NT) não tabagista; (TD) tabagista discreto; (TM) tabagista moderado; (TA) tabagista acentuado

## Anexo 9

Distribuição dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com a localização, o estágio, e o grau de diferenciação do tumor e a presença do papilomavírus humano

Caso	Localização		Sistema TNM		Grau de diferenciação	Imunohistoquímica p16	Hibridização <i>in situ</i>
	Sítio	Região	Combinação	Estádio			
1	Faringe	Orofaringe	T4N1M0	IVa	M	N	NA
2	Faringe	Hipofaringe	T3N2bM0	IVa	NA	NA	NA
5	Cavidade oral	Mucosa oral	T4aN2bM0	IVa	M	N	NA
6	Faringe	Hipofaringe	T3N2bM0	IVa	NA	NA	NA
8	Laringe	Supraglote	T2N1M0	III	M	N	NA
9	Cavidade oral	Língua	T3N2bM0	IVa	M	N	NA
11	Laringe	Glote	T3N0M0	III	M	N	NA
12	Laringe	Supraglote	T4aN2cM0	IVa	P	N	NA
14	Faringe	Hipofaringe	T4aN2cM0	IVa	P	NA	NA
16	Laringe	Supraglote	T1N1M0	III	NA	N	NA
17	Laringe	Glote	T2N1M0	III	M	N	NA
19	Laringe	Supraglote	T3N2bM0	IVa	M	N	NA
20	Laringe	Glote	T1N0M0	I	M	N	NA
21	Faringe	Orofaringe	T1N2cM0	IVa	P	NA	NA
23	Laringe	Supraglote	T3N1M0	III	B	NA	NA
24	Laringe	Supraglote	T4aN3M0	IVb	NA	NA	NA
26	Laringe	Glote	T3N0M0	III	M	N	NA
29	Faringe	Orofaringe	T4aN0M0	IVa	P	N	NA

31	Faringe	Orofaringe	T2N3M0	IVb	M	N	NA
32	Faringe	Hipofaringe	T4aN2cM0	IVa	NA	NA	NA
33	Faringe	Orofaringe	T2N0M0	II	M	N	NA
36	Faringe	Hipofaringe	T3N3M0	IVb	NA	NA	NA
38	Faringe	Hipofaringe	T4bN0M0	IVb	M	N	NA
39	Laringe	Glote	T3N2M0	IVa	M	N	NA
40	Laringe	Supraglote	T4N3M0	IVb	P	N	NA
41	Faringe	Orofaringe	T4aN3M0	IVb	NA	NA	NA
43	Faringe	Orofaringe	T4aN2bM0	IVa	NA	NA	NA
44	Faringe	Orofaringe	T4aN3M0	IVb	NA	NA	NA
45	Faringe	Orofaringe	T4N0M0	IVa	NA	N	NA
46	Faringe	Hipofaringe	T4N1M0	IVa	P	NA	NA
48	Cavidade oral	Palato duro	T4N1M0	IVa	M	N	NA
49	Faringe	Orofaringe	T3N2cM0	IVa	NA	NA	NA
50	Faringe	Orofaringe	T3N2M0	IVa	M	NA	NA
55	Faringe	Orofaringe	T4aN2cM0	IVa	M	N	NA
56	Faringe	Orofaringe	T4aN2cM0	IVa	M	N	NA
57	Faringe	Orofaringe	T4aN1M0	IVa	M	N	NA
58	Laringe	Glote	T3N0M0	III	M	NA	NA
60	Cavidade oral	Língua	T2N0M0	II	M	N	NA
62	Cavidade oral	Língua	T2N0M0	II	M	NA	NA
63	Faringe	Hipofaringe	T4bN1M0	IVb	M	NA	NA
64	Faringe	Orofaringe	T4aN3M0	IVb	NA	NA	NA
69	Faringe	Hipofaringe	T2N2cM0	IVa	M	N	NA
71	Faringe	Orofaringe	T1N2aM0	IVa	M	NA	NA
72	Faringe	Orofaringe	T3N1M0	III	M	N	NA

78	Faringe	Orofaringe	T2N2bM0	IVa	M	NA	NA
79	Faringe	Orofaringe	T4aN2cM0	IVa	M	N	NA
86	Faringe	Orofaringe	T3N2cM0	IVa	M	P	P
87	Faringe	Orofaringe	T2N1M0	III	M	NA	NA
88	Faringe	Orofaringe	T3N3M0	IVb	M	N	NA
89	Faringe	Orofaringe	T4aN3M0	IVb	P	NA	NA
90	Faringe	Orofaringe	T2N3M0	IVb	M	N	NA
93	Faringe	Orofaringe	T4aN2cM0	IVa	M	P	P
94	Faringe	Orofaringe	T4aN0M0	IVa	M	P	P
95	Faringe	Orofaringe	T4aN0M0	IVa	M	NA	NA
97	Cavidade oral	Assoalho de boca	T4aN2bM0	IVa	M	N	NA
98	Cavidade oral	Mucosa oral	T4N2M0	IVa	M	N	NA
99	Faringe	Hipofaringe	T4aN2c	IVa	M	NA	NA
101	Faringe	Orofaringe	T4aN0M0	IVa	NA	N	NA
102	Laringe	Subglote	T3N0M0	III	M	N	NA
103	Faringe	Orofaringe	T2N2cM0	IVa	M	N	NA
105	Laringe	Supraglote	T2N2aM0	IVa	M	N	NA
106	Laringe	Supraglote	T3N1M0	III	M	N	NA
108	Faringe	Orofaringe	T4N2bM0	IVa	M	N	NA
109	Cavidade oral	Mucosa oral	T4aN1M0	IVa	M	N	NA
110	Cavidade oral	Língua	T4aN2aM0	IVa	NA	N	NA
111	Faringe	Orofaringe	T1N2cM0	IVa	P	NA	NA
112	Faringe	Hipofaringe	T4aN2bM0	IVa	M	N	NA
113	Faringe	Hipofaringe	T3N2aM0	IVa	P	N	NA
114	Faringe	Orofaringe	T4aN0M0	IVa	M	N	NA
115	Faringe	Orofaringe	T4bN2cM0	IVb	M	NA	NA

116	Laringe	Supraglote	T3N2cM0	IVa	M	N	NA
120	Laringe	Supraglote	T3N2aM0	IVa	I	N	NA
122	Laringe	Supraglote	T3N2cM0	IVa	M	N	NA
123	Cavidade oral	Língua	T4aN2cM0	IVa	NA	NA	NA
124	Laringe	Supraglote	T2N1M0	III	M	NA	NA
125	Faringe	Hipofaringe	T4N2aM0	IVa	M	NA	NA
126	Faringe	Orofaringe	T4N2bM0	IVa	P	N	NA
127	Laringe	Glote	T4aN1M0	IVa	P	NA	NA
128	Faringe	Hipofaringe	T3N2cM0	IVa	M	N	NA
129	Cavidade oral	Assoalho de boca	T4aN2bM0	IVa	M	N	NA
130	Faringe	Orofaringe	T3N3M0	IVb	M	N	NA
132	Faringe	Orofaringe	T2N0M0	II	P	N	NA
133	Faringe	Orofaringe	T4bN2cM0	IVb	NA	NA	NA
135	Faringe	Hipofaringe	T4aN2cM0	IVa	M	NA	NA
136	Faringe	Orofaringe	T3N1M0	III	B	N	NA
137	Faringe	Hipofaringe	T4bN1M0	IVb	M	N	NA
138	Laringe	Supraglote	T3N2M0	IVa	M	N	NA
140	Faringe	Orofaringe	T2N2bM0	IVa	NA	NA	NA
143	Faringe	Orofaringe	T2N0M0	II	M	P	P
145	Laringe	Supraglote	T3N0M0	III	M	N	NA

(p16) proteína 16; (NA) não avaliado; (M) moderadamente diferenciado; (B) bem diferenciado; (P) pouco diferenciado; (I) indiferenciado; (N) negativa; (P) positiva. O número de pacientes avaliados por imunohistoquímica (n= 57) difere do número total de pacientes avaliados no estudo (n= 90), pois em 33 pacientes não foi possível obter fragmentos adequados do tumor incluídos em parafina.

## Anexo 10

Distribuição dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina (CDDP) associada à radioterapia, de acordo com as doses de CDDP efetivamente recebida em cada infusão e a dose acumulada no tratamento completo

### Quimioterapia com CDDP

Caso	Primeiro ciclo		Segundo ciclo		Terceiro ciclo		Dose acumulada
	CDDP	CDDP	CDDP	CDDP	CDDP	CDDP	CDDP
	(mg total)	(mg/m <sup>2</sup> )	(mg total)	(mg/m <sup>2</sup> )	(mg total)	(mg/m <sup>2</sup> )	(mg/m <sup>2</sup> )
1	163	100	126	80	120	80	260
2	150	100	150	100	140	100	300
5	164	100	131	80	120	80	260
6	185	100	143	80	136	80	260
8	180	100	190	100	152	80	280
9	121	80	120	80	115	80	240
11	170	100	167	100	NA	NA	200
12	115	80	150	100	NA	NA	180
14	90	50	90	50	NA	NA	100
16	180	100	180	100	NA	NA	200
17	150	100	126	90	NA	NA	190
19	150	100	150	100	150	100	300
20	188	100	194	100	NA	NA	200
21	173	100	168	100	165	100	300
23	150	100	120	80	120	80	260
24	130	100	130	100	104	80	280
26	190	100	190	100	180	100	300
29	140	100	112	80	98	75	255
31	160	100	160	100	160	100	300
32	115	80	114	80	114	80	240
33	170	100	168	100	NA	NA	200
36	190	100	190	100	135	75	275
38	146	80	148	100	148	100	280
39	190	100	152	100	144	80	280
40	154	100	122	80	90	60	240
41	130	80	130	80	131	80	240

---

43	90	60	112	80	NA	NA	140
44	170	100	158	100	125	80	280
45	120	80	105	75	100	80	235
46	110	80	139	100	108	80	260
48	124	80	120	80	NA	NA	160
49	172	100	167	100	NA	NA	200
50	156	100	156	100	151	100	300
55	102	80	128	100	103	80	260
56	159	100	159	100	NA	NA	200
57	130	80	130	80	130	80	240
58	144	80	138	80	NA	NA	160
60	150	100	159	100	155	100	300
62	169	100	170	100	115	70	270
63	163	100	160	100	117	75	275
64	108	80	144	90	NA	NA	170
69	210	100	200	100	150	80	280
71	185	100	180	100	170	100	300
72	118	80	118	80	118	80	240
78	145	100	145	100	140	100	300
79	240	100	240	100	230	100	300
86	132	100	97	75	97	75	250
87	180	100	142	80	142	80	260
88	171	100	137	80	120	80	260
89	170	100	130	80	125	80	260
90	183	100	138	80	134	80	260
93	180	100	133	75	NA	NA	175
94	175	100	135	80	136	80	260
95	110	80	83	60	112	80	220
97	127	80	160	100	120	75	255
98	180	100	120	75	130	75	250
99	180	100	177	100	171	100	300
101	195	100	153	80	NA	NA	180
102	122	80	92	60	91	60	200
103	140	80	140	80	134	80	240
105	120	80	132	90	118	80	250
106	157	100	155	100	153	100	300
108	146	100	150	100	151	100	300

---

---

109	129	80	129	80	123	80	240
110	174	100	174	100	172	100	300
111	131	80	129	80	120	75	235
112	187	100	185	100	182	100	300
113	173	100	180	100	180	100	300
114	152	100	153	100	155	100	300
115	160	100	128	80	90	60	240
116	200	100	200	100	160	80	280
120	170	100	165	100	165	100	300
122	210	100	205	100	201	100	300
123	161	100	130	80	134	80	260
124	130	80	128	80	NA	NA	160
125	158	100	157	100	152	100	300
126	164	100	161	100	155	100	300
127	188	100	187	100	NA	NA	200
128	173	100	166	100	160	100	300
129	138	100	139	100	NA	NA	200
130	160	100	126	80	NA	NA	180
132	224	100	220	100	NA	NA	200
133	156	100	150	100	112	75	275
135	165	100	133	80	130	80	260
136	223	100	217	100	NA	NA	200
137	106	75	106	75	106	75	225
138	180	100	146	80	146	80	260
140	181	100	176	100	141	80	280
143	160	100	157	100	152	100	300
145	138	80	132	80	NA	NA	160

---

(CDDP) cisplatina; (NA) não se aplica