



TATHIANE REGINE PENNA LIMA

**POLIMORFISMOS EM GENES RELACIONADOS À VIA EXTRÍNSECA DA
APOPTOSE 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

TATHIANE REGINE PENNA LIMA

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

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima

Dissertação de Mestrado apresentada à Comissão de Pós Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP para obtenção do título de Mestra em Ciências, Área de Concentração Clínica Médica.

**Este exemplar corresponde à versão final da dissertação de mestrado
defendida pela aluna Tathiane Regine Penna Lima
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

L628p Lima, Tathiane Regine Penna, 1985-
Polimorfismos em genes relacionados à via extrínseca da apoptose na farmacogenética da cisplatina associada à radioterapia em portadores de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço / Tathiane Regine Penna Lima. – 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. Polimorfismo genético. 5. Apoptose. 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 extrinsic pathway of apoptosis genes in cisplatin pharmacogenetics associated with radiotherapy in patients with head and neck squamous cell carcinoma

Palavras-chave em inglês:

Head and neck squamous cell carcinoma

Pharmacogenetics

Cisplatin

Genetic polymorphisms

Apoptosis

Área de concentração: Clínica Médica

Titulação: Mestra em Clínica Médica

Banca examinadora:

Carmen Silvia Passos Lima [Orientador]

Carmen Silvia Bertuzzo

João Paulo Fernandes

Data de defesa: 28-08-2014

Programa de Pós-Graduação: Clínica Médica

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

TATHIANE REGINE PENNA LIMA

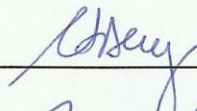
ORIENTADOR(A): PROF. DR. CARMEN SILVIA PASSOS LIMA

MEMBROS:

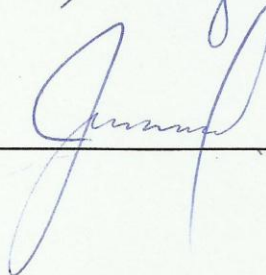
1. PROF. DR. CARMEN SILVIA PASSOS LIMA



2. PROF. DR. CARMEN SILVIA BERTUZZO



3. PROF. DR. JOÃO PAULO FERNANDES



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

Data: 28 de agosto de 2014

Dedicatória

Dedico este trabalho a todos os pacientes e familiares que confiaram em mim e no desenvolvimento deste estudo, para aprimoramento da ciência e do tratamento do câncer.

Epígrafe

*“Quanto mais aumenta nosso
conhecimento, mais evidente fica
nossa ignorância”*

John F. Kennedy

Agradecimentos

À minha orientadora Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima, por seus ensinamentos a mim transmitidos, através de muita disponibilidade, paciência, dedicação, carinho e respeito. Me ensinando os caminhos da ciência e como trilha-los de maneira distinta.

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

Aos pacientes e acompanhantes, que confiaram em mim e no trabalho que estava sendo desenvolvido, pela assiduidade e comprometimento nos exames e demais requisitos necessários para o sucesso da pesquisa. Em especial pelo respeito admiração, acolhimento costumeiro. Recordo-me com bastante satisfação alegria e saudade das diversas manifestações de carinho e atenção (convites para visitas a suas famílias, doces como presentes, preocupação com meu bem estar e as boas conversas), criando assim um grande vínculo afetivo me motivando a diariamente em minhas atividades.

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 atenção e dedicação dispensada.

Ao grupo formado por Guilherme, Marília, Ericka, Éder e Leisa, conhecido como “cisplatinos”. Todos essenciais para que este trabalho tenha acontecido.

À equipe da Oncologia e Quimioterapia, Roseli, Rosângela, Eliseu, Naiara, Ricardo (equipe de atendimento aos pacientes), Stella, Júlio (Registro do Hospital Clínicas da UNICAMP), Dona Edna, Ana Paula, Renata, Sheila, Melia, Carlão, Jailde, Dona Maria, Olímpia e demais enfermeiras técnicas e auxiliares (equipe de enfermagem), Maristela, aprimorandas (equipe de nutrição) , Dr. Vinícius Conceição, Dr. José Augusto Rinck Júnior, residentes e internos e demais funcionários, pela paciência e suporte.

Às fonoaudiólogas, Luciane Calonga, Daniela Calil e Silvia Curi, por realizarem as audiometrias dos nossos pacientes.

Aos funcionários da Medicina Nuclear, Doni, Kely, Carlos, Bárbara, Geraldo e Cristiane Midinutti, pelo ótimo atendimento, dedicação, e comprometimento com o trabalho.

À equipe da Otorrino, Radiologia e Radioterapia, todos muito solícitos para com a execução do trabalho, ajudando a proporcionar um melhor bem estar aos pacientes.

À equipe de farmacêuticas, Marília, Bruna, Rafaela, Anna Paula, Cinthia, Grazielle, Isabella, Laís e Luciana, pelo apoio e troca de conhecimentos e companhia nessa jornada.

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 Cancer 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 amigos do Laboratório de Genética do Câncer (LAGECA), Gustavo, Cristiane, Gabriela, Angelo, Camila, Carla e Erikinha, pelos ensinamentos e trocas de conhecimento, e também por estarem sempre incentivando e ajudando para que o trabalho acontecesse da melhor maneira.

E em especial a meus pais por fazerem parte desse sonho me incentivando sempre nessa jornada, me apoiando e confortando nos momentos difíceis e comemorando comigo as vitórias. Aos meus irmãos e cunhados pelo apoio e incentivo. E não menos importante ao meu namorado Rafael, pelo seu amor, companherismo, dedicação, comprometimento e sempre entender meus momentos e mau humor em tempos difíceis, e muitas vezes abrir mão das suas coisas e tarefas para me ajudar.

A todos vocês, muito obrigada; foram de extrema valia para a conclusão do trabalho.

Lista de abreviaturas

CCE	Carcinoma de células escamosas
CCECP	Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço
CDDP	Cisplatina
Gy	Gray
<i>CASP3</i>	Gene <i>caspase 3</i>
<i>CASP8</i>	Gene <i>caspase 8</i>
<i>CASP9</i>	Gene <i>caspase 9</i>
CICSHCP	Sistema <i>online</i> do Hospital de Clínicas
ClCr	Clearance de creatinina estimado
Cr	Creatinina
CT	Tomografia computadorizada
<i>CYP2D6</i>	Gene <i>Citocromo P-450, família 2, subfamília D, polipeptídeo 6</i>
dB	DeciBELL
DDTC	Dietilditiocarbamato
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeo trifosfato
DP	Desvio padrão
EDTA- ⁵¹ Cr	Ácido etilenodiamino-tetracético marcado com cromo- ⁵¹
<i>ERCC1</i>	Gene <i>excision repair cross-complementation group1</i>
<i>FAS</i>	Gene <i>FAS</i>
<i>FASL</i>	Gene <i>FAS</i> Ligante
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HPV	Papilomavírus humano

HWE	Hardy-Weinberg equilibrium
IC	Intervalo de confiança
IT	Índice de tabagismo
KPS	<i>Karnofsky performande status</i>
M	Molar
MBq	Megabequerel
MgCl ₂	Cloreto de magnésio
mg	Miligrama
mL	Mililitro
<i>MLH1</i>	Gene <i>mutL homolog 1</i>
mM	Milimolar
<i>MSH2</i>	Gene <i>mutS homolog 2</i>
<i>MSH3</i>	Gene <i>mutS homolog 3</i>
NaOH	Hidróxido de sódio
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NER	Reparo de DNA por excisão de nucleotídeos
ng	Nanograma
(NH ₄) ₂ SO ₄	Sulfato de amônio
NiCl ₂	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

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
kHz	Quilohertz
RT	Radioterapia
TFG	Taxa de filtração glomerular
<i>Taq</i>	Enzima polimerase <i>Termus aquaticus</i>
U	Unidade
χ^2	Qui-quadrado
μL	Microlitro

Lista de figuras

	Página
Figura 1. Metabolismo da cisplatina	36
Figura 2. Mecanismo de reparo do genoma global por excisão de nucleotídeos	37
Figura 3. Audiograma de sons familiares	56
Figura 4. Genótipos do polimorfismo C-844T do gene <i>FASL</i>	67
Figura 5. Genótipos do polimorfismo G-1377A do gene <i>FAS</i>	68
Figura 6. Genótipos do polimorfismo A-670G do gene <i>FAS</i>	69
Figura 7. Genótipos do polimorfismo -652 6N Ins/Del do gene <i>CASP8</i>	70
Figura 8. Genótipos do polimorfismo IVS1 -15G>T do gene <i>CASP3</i>	71
Figura 9. Paciente com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de faringe	75
Figura 10. Cortes axiais e coronais de tomografia computadorizada de pescoço com contraste intravenoso do paciente	76
Figura 11. Cromatograma de urina adicionada de padrão de cisplatina e padrão interno	105
Figura 12. Apresentação gráfica da curva padrão desenvolvida, da equação da curva e do r^2	106
Figura 13. Cromatograma e dados utilizados para quantificação da cisplatina na urina	107

Lista de tabelas

	Página
Tabela 1. Frequências dos genótipos distintos de polimorfismos gênicos relacionados com a via extrínseca de apoptose em câncer	43
Tabela 2. Classificação de indivíduos por hábito de ingerir bebidas alcoólicas	44
Tabela 3. Classificação de indivíduos por hábito do tabagismo	45
Tabela 4. Condições para genotipagem dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T	49
Tabela 5. Tipos de resposta à terapêutica de acordo com RECIST 1.1 ..	51
Tabela 6. Graus de náuseas e vômitos medidos por critérios do <i>National Cancer Institute</i>	53
Tabela 7. Graus de mielossupressão medidos por critérios do <i>National Cancer Institute</i>	54
Tabela 8. Graus de ototoxicidade segundo critérios do <i>National Cancer Institute</i>	57
Tabela 9. Frequências das distribuições dos 145 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com a situação e a causa de exclusão do estudo	62
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 raça, as comorbidades e o padrão de etilismo e tabagismo	64

Tabela 11.	Frequência 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	65
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 <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T	72
Tabela 13.	Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por taxas de resposta à terapêutica com cisplatina associada à radioterapia	74
Tabela 14.	Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T e os tipos de resposta à terapêutica com cisplatina associada à radioterapia	77
Tabela 15.	Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por graus de náuseas e vômitos e adesão a antieméticos durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia	79
Tabela 16.	Frequência 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	80

Tabela 17.	Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T e graus de náuseas e vômitos durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia	82
Tabela 18.	Frequências das distribuições dos 84 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T e graus de mielossupressão durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia	84
Tabela 19.	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha direita, nas frequências 0,25, 0,50, 1, 2, 3, 4, 6 e 8kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina e radioterapia	89
Tabela 20	Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com o grau de ototoxicidade por via aérea por cisplatina associada à radioterapia	90
Tabela 21	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T C118T e os limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha direita, nas frequências 0,25, 0,50, 1 e 2 kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia	91

Tabela 22	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T e os limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha direita, nas frequências 3, 4, 6 e 8kHz, medidos pré e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia	93
Tabela 23	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T e os limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 0,25, 0,50, 1 e 2kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia	95
Tabela 24.	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T e os limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 3, 4, 6 e 8kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia	97
Tabela 25.	Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T e graus de ototoxicidade após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia	99

Tabela 26.	Distribuições dos 70 e 69 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1 -15G>T e os valores de ClCr e TFG com EDTA-51Cr, 928G e valores de clearance de creatinina estimado e filtração glomerular, respectivamente, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia	103
Tabela 27.	Distribuições dos 58 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1 -15G>T e os valores de cisplatina urinária, medidos durante o tratamento com cisplatina associada à radioterapia	109
Tabela 28.	Associações dos polimorfismos <i>FASL</i> C-844T, <i>FAS</i> G-1377A, <i>FAS</i> A-670G, <i>CASP8</i> -652 6N Ins/Del e <i>CASP3</i> IVS1-15G>T C118T com resposta e toxicidade à cisplatina associada à radioterapia em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço	111

Sumário

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	Xvii
LISTA DE TABELAS	Xix
RESUMO	Xxix
ABSTRACT	Xxxi
INTRODUÇÃO	33
1. Considerações gerais	33
2. Fatores predisponentes para o CCECP	33
3. Terapêutica para portadores de CCECP	34
4. Cisplatina	34
5. Polimorfismos em genes que atuam no metabolismo da CDDP	39
5.1. <i>FASL</i> , <i>FAS</i> , <i>CASP8</i> e <i>CASP3</i> e via extrínseca da apoptose	39
6. Polimorfismos gênicos, metabolismo e efeitos da CDDP	40
OBJETIVOS	41
CASUÍSTICA E MÉTODOS	42
1. Aspectos clínicos e do tumor	44
2. Terapêutica de pacientes com CCECP	46
3. Seguimento de pacientes com CCECP	47
4. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos	47
5. Taxa de resposta ao tratamento	50
6. Toxicidade ao esquema terapêutico	51
6.1. Náuseas, vômitos e mielossupressão	51
6.2. Ototoxicidade	55
6.3. Nefrotoxicidade	57

6.3.1. Creatinina sérica e clearance de creatinina estimado	57
6.3.2. Taxa de filtração glomerular com EDTA- ⁵¹ Cr	57
7. Quantificação da CDDP urinária	58
7.1. Procedimentos pré-analíticos	58
7.1.1. Construção da curva padrão	58
7.1.2. Preparo da urina dos pacientes e da curva padrão	58
7.2. Procedimentos analíticos	59
7.2.1. Condições da cromatografia líquida de alta eficiência	59
7.2.2. Construção da curva padrão com urina de controle	59
7.2.3. Quantificação da cisplatina nas urinas dos pacientes	59
7.2.4. Correções aplicadas nas amostras de urina	59
8. Aspectos éticos	60
9. Análise estatística	60
RESULTADOS	62
1. Casuística	62
2. Aspectos clínicos e do tumor	62
3. Terapêutica de pacientes com CCECP	66
4. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos	66
5. Taxa de resposta ao tratamento	73
6. Toxicidade ao esquema terapêutico	78
6.1. Náuseas, vômitos e mielossupressão	78
6.2. Ototoxicidade	88
6.3. Nefrotoxicidade	101
7. Quantificação da CDDP urinária	105
7.1. Padronização da técnica	105
7.2. Concentração de CDDP urinária	108

DISCUSSÃO	112
1. Aspectos clínicos e do tumor	112
2. Taxa de resposta ao tratamento	114
3. Toxicidade ao esquema terapêutico	115
3.1. Náuseas e vômitos	115
3.2. Mielossupressão	118
3.3. Ototoxicidade	122
3.4. Nefrotoxicidade	125
4. Concentração de CDDP urinária	126
CONCLUSÕES	128
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129
ANEXOS	151

Resumo

A cisplatina (CDDP) associada à radioterapia (RT) é utilizada no tratamento de portadores 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 foi o de verificar se habilidades herdadas na apoptose de células pela via extrínseca, mediadas pelas enzimas FASL, FAS, CASP8 e CASP3, alteram os efeitos terapêuticos, colaterais e a concentração de CDDP urinária em pacientes com CCECP. Foram avaliados, de forma prospectiva, 90 pacientes consecutivos com CCECP do Hospital de Clínicas da UNICAMP, que receberam CDDP associada à RT como tratamento neoadjuvante, definitivo ou paliativo da doença. Os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram analisados por meio da reação em cadeia da polimerase e digestão enzimática em DNA de sangue periférico. A resposta ao tratamento foi avaliada por tomografia computadorizada do pescoço, de acordo com os critérios Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1 (RECIST 1.1). 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 renal e auditiva foram avaliadas por meio do clearance de creatinina estimado, da taxa de filtração glomerular com EDTA-51Cr e de audiometria tonal limiar, respectivamente, antes e após o tratamento. As dosagens urinárias da CDDP foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência. 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 *FASL* -844TT foi associado com maior frequência de anemia dos graus 2, 3 ou 4 e menor perda auditiva unilateral. O genótipo *FAS* -670GG foi associado com menor frequência de náuseas dos graus 2 ou 3, maior frequência de anemia dos graus 2, 3 ou 4, de linfopenia dos graus 3 ou 4 e maior perda auditiva unilateral. Já o genótipo *FAS* -670AG e o genótipo GG foram associados a menor frequência de linfopenia dos graus 3 ou 4 e maior perda auditiva unilateral. Nossos resultados sugerem que os polimorfismos *FASL* C-844T e *FAS* A-670G modulam os efeitos colaterais, como náuseas, mielossupressão e acuidade auditiva, em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT. Acreditamos que estes resultados possam contribuir para definir o tratamento personalizado futuro de pacientes com CCECP.

Abstract

Cisplatin (CDDP) associated with radiotherapy (RT) is used in treatment of patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). It is well known that both response to treatment and side effects vary among individuals. A possible explanation for this may be the genetic variability in metabolism of CDDP. The aim of this study was to access if inherited ability of cells to apoptose the extrinsic, mediated by enzymes FASL, FAS, CASP8 e CASP3 enzymes change the therapeutic side effects and urinary concentration of CDDP in HNSCC patients. We evaluated prospectively, 90 HNSCC patients of UNICAMP's Hospital, who received CDDP-associated RT as neoadjuvant, definitive or palliative treatment. Genotypes of *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T polymorphisms were analyzed by polymerase chain reaction and restriction enzyme digestion of peripheral blood DNA. Treatment response was assessed by computed tomography of the neck, according to Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1 (RECIST 1.1). Treatment side effects were ranked through questionnaire and laboratory tests, according to the National Cancer Institute. Renal and hearing toxicities were assessed using, respectively, estimated creatinine clearance and glomerular filtration ⁵¹Cr-EDTA and pure tone audiometry, before and after treatment. Urinary doses of CDDP were performed by high performance liquid chromatography. Statistical significance of differences between groups was calculated by Fisher's exact probability test or chi-square. Multiple logistic regression was performed to obtain the odds ratio and ANOVA with rank-transform method for performed for repeated measurements. The *FASL* -844TT genotype was associated with higher frequency of grade 2, 3 or 4 anemia and lower unilateral auditory accuity loss. The *FAS* -670GG genotype was associated with lower frequency of grade 2 or 3 nausea, higher frequency of grade 2, 3 or 4 anemia, grade 3 or 4 linfopenia, and higher unilateral auditory accuity loss. The *FAS* -670AG and GG genotypes were associated with lower frequency of grade 3 or 4 linfopenia and higher unilateral auditory accuity loss. Our results suggest that the *FASL* C-844T e *FAS* A-670G polymorphisms modulate the side effects, such as nausea, mielossupression and auditory accuity in HNSCC patients treated with CDDP and RT. We believe that these results may subscribe to define the future personalized treatment of HNSCC patients.

Introdução

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 estádios avançados (III ou IV). Além disso são registradas aproximadamente 350.000 mortes ao ano decorrentes do CCECP (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 (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; SIDRANSKY, 2005; SYRJANEN, 2005; RAGIN *et al.*, 2007; KIM *et al.*, 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 gera espécies reativas de oxigênio como o radical superóxido e o radical hidroxila, levando a produção de radicais livres pela interação com o DNA e pela peroxidação lipídica (MASUDA *et al.*, 1994). A CDDP inibe também a ação de certas enzimas, como por exemplo as glutatonas e altera o estado redox da célula. Com isso a capacidade antioxidante é diminuída, e as espécies reativas de oxigênio aumentam no meio intracelular (SHEIKH-HAMAD, 2008). Essa indução do estresse oxidativo pela geração de espécies reativas do oxigênio provoca um desbalanço pró- oxidante e antioxidante no sentido de oxidação na célula podendo culminar em sua morte (MASUDA *et al.*, 1994; QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006). Entretanto, a atividade antitumoral da CDDP é atribuída predominantemente à sua 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 consequente 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 CDDP em células, bem como no reparo de lesões ou indução de apoptose de células por ela lesadas (**Figura 1**).

Quando o dano ao DNA excede um limite crítico e, presumivelmente, impossibilita o reparo, ocorre a ativação de vias protéicas, favorecendo a apoptose.

Uma via importante que induz apoptose de células com lesões por CDDP é a via extrínseca, que ocorre com a participação das proteínas FASL, FAS, *CASP3* e *CASP8* (MICHEAU *et al.*, 1997; MULLER *et al.*, 1998; SIDDIK, 2003). A ativação da via tem início com a ligação do FASL ao FAS, com o recrutamento da proteína adaptadora FAAD entre outras e formação do complexo de sinalização da indução de morte (DISC). O DISC ativa a *CASP 8* e juntos ativam a *CASP 3*, com consequente morte celular (ROSSI & GAIDANO, 2003; RAMASWAMY *et al.*, 2009; WERNER *et al.*, 2010) (**Figura 2**).

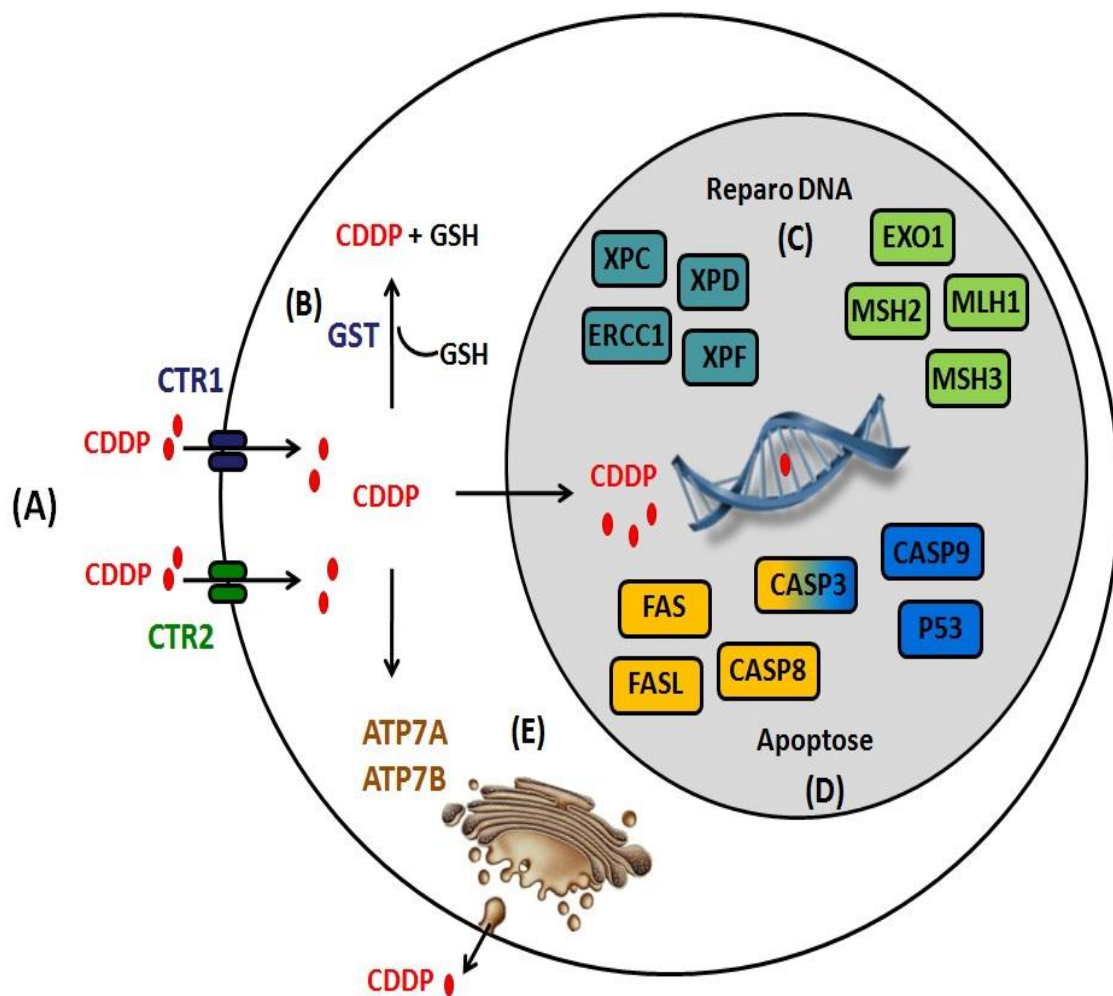


Figura 1. Metabolismo da cisplatina (CDDP). (A) Influxo da CDDP, através dos receptores de influxo de cobre CTR1 e CTR2. (B) As glutathione S-transferases (GSTs) mu1 (GSTM1), theta1 (GSTT1) e Pi1 (GSTP1) conjugam a CDDP com glutathione (GSH), constituindo um passo importante na detoxificação e eliminação 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)

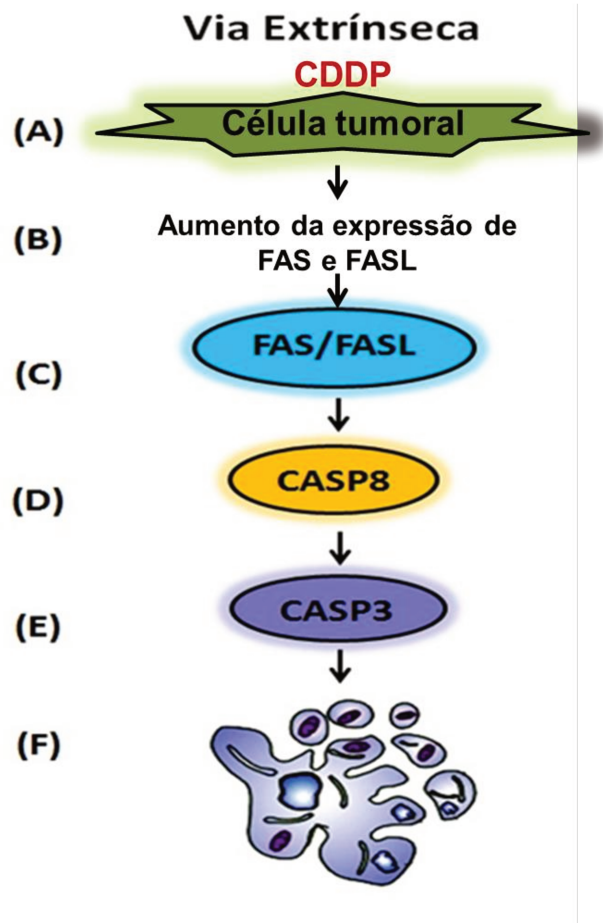


Figura 2. Proteínas de reconhecimento de danos envolvidas com apoptose de células com lesão induzida pela cisplatina (CDDP). Via Extrínseca: (A) A atividade antitumoral é atribuída ao contato da CDDP com a célula tumoral. (B) Após esse contato aumenta a expressão de FAS e FASL, (C) em seguida tem início a ligação da FASL com a FAS, que junto com outras proteínas forma o complexo DISC. (D) O DISC ativa a CASP8, (E) e juntos ativam a CASP3. (F) A CASP3 ativada resulta na apoptose de células (Adaptado de SIDDIK, 2003)

Os efeitos colaterais da CDDP são variáveis em indivíduos diversos e doses únicas de 50mg/m² podem gerar efeitos colaterais significantes, como náuseas, vômitos, mielossupressão, mucosite (quando a CDDP é associada à RT), nefrotoxicidade, ototoxicidade e neuropatia periférica, com consequente morbidade e comprometimento da qualidade de vida em alguns indivíduos, mas doses maiores são necessárias para determinar os mesmos efeitos em outros indivíduos que são por ela tratados (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 (QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006; 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 CDDP

5.1. *FASL*, *FAS*, *CASP8*, *CASP3* e apoptose de células lesadas

O gene *FASL*, localizado no cromossomo 1q23, é formado por quatro éxons e abrange aproximadamente 8kb. Contém o polimorfismo *FASL* C-844T (rs763110) em sua região promotora. O polimorfismo é caracterizado pela troca da base nitrogenada citosina (C) no alelo selvagem e por timina (T) no alelo variante (WU *et al.*, 2003). O alelo variante T está associado a menor expressão da proteína *FASL* comparado ao alelo selvagem C, com consequente menor indução da apoptose (WU *et al.*, 2003; SUN *et al.*, 2005; de CARVALHO-NETO *et al.*, 2013). Os genótipos CC, CT e TT foram identificados em 39-61%, 34-46% e 3-11% dos indivíduos saudáveis de diferentes populações étnicas, respectivamente (SUN *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2006; TER-MINASSIAN *et al.*, 2008).

O gene *FAS*, localizado no cromossomo 10q24.1, possui nove éxons (BEN ALEYA *et al.*, 2009). O polimorfismo *FAS* G-1377A (rs2234767) encontra-se em sua região promotora. A troca da base nitrogenada guanina (G) no alelo selvagem por adenina (A) no alelo variante reduz a expressão da proteína *FAS* (ZHANG *et al.*, 2005), com possível redução da apoptose (de CARVALHO-NETO *et al.*, 2013). Os genótipos GG, GA e AA foram identificados em 41-78%, 20-46% e 1-10%, dos indivíduos saudáveis de diferentes populações étnicas, respectivamente (SUN *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2005; TER-MINASSIAN *et al.*, 2008; CHATTERJEE *et al.*, 2009; MOHAMMADZADEH *et al.*, 2011). Já o polimorfismo *FAS* A-670G (rs1800682), na região promotora do gene, caracteriza-se pela troca da base nitrogenada adenina (A) no alelo selvagem pela guanina (G) no alelo variante, com consequente redução na expressão da proteína *FAS* (SUN *et al.*, 2005; BEN ALEYA *et al.*, 2009; NUNOBIKI *et al.*, 2011), e da apoptose (de CARVALHO-NETO *et al.*, 2013). Os genótipos AA, AG e GG foram identificados em 44-46%, 30-44% e 12-18% dos indivíduos de diferentes populações étnicas, respectivamente (SUN *et al.*, 2005; BEN ALEYA *et al.*, 2009).

O gene *CASP8* está localizado no cromossomo 2q33-34, é formado por onze éxons e abrange região de aproximadamente 30kb. O polimorfismo *CASP8* -652 6N Ins/Del (inserção/deleção) (rs3834129), na região promotora do gene, remove um sítio de ligação que ativa a transcrição Sp1, com consequente redução na expressão da proteína (YIN *et al.*, 2010; CATUCCI *et al.*, 2011). A ativação da *CASP8* está associada a apoptose (AGGARWAL *et al.*, 1999). Os genótipos homozigoto selvagem Ins/Ins, heterozigoto

Ins/Del e homozigoto variante Del/Del do polimorfismo *CASP8* -652 6N Ins/Del foram identificados em 53-64%, 32-37% e 10-40% dos indivíduos saudáveis de diferentes populações étnicas, respectivamente (SUN *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2009).

O gene *CASP3* está localizado no cromossomo 4q34 (JANG *et al.*, 2008). O polimorfismo IVS1 G-15T (rs4647601), em região intrônica do gene, caracteriza-se pela substituição do nucleotídeo guanina (G) no alelo selvagem por timina (T) no alelo variante. O alelo T foi associado à redução da apoptose (CHEN *et al.*, 2008). Como a *CASP 3* é fundamental para a ativação da apoptose (BANKI *et al.*, 1998), a redução da expressão da proteína implica em apoptose anormal (AGGARWAL *et al.*, 1999). Os genótipos selvagem GG heterozigoto GT e variante TT foram identificados em cerca de 51-36,8%, 39-46,6% e 10-16,6% respectivamente, dos indivíduos saudáveis de populações diversas (CHEN *et al.*, 2008; ABEDIANKENARI *et al.*, 2013).

6. Polimorfismos gênicos, metabolismo e efeitos da CDDP

Até onde atinge o nosso conhecimento, há apenas um relato sobre o papel de polimorfismos em genes relacionados a apoptose pela via extrínseca da apoptose na toxicidade, resposta terapêutica ou sobrevida em pacientes com tumores diversos tratados com esquemas de quimioterapia baseados em CDDP. Nesse estudo, Quian *et al.* (2012) (QUIAN *et al.*, 2012) observaram que pacientes com o genótipo homozigoto variante para o polimorfismo rs12990906 do gene *CASP8* apresentaram menor toxicidade durante quimioterapia baseada em platina do que os portadores dos demais genótipos. Entretanto, embora o *CASP8* seja um dos genes alvo deste estudo, o polimorfismo avaliado por Quian *et al.* (2012) (QUIAN *et al.*, 2012) não foi incluído em nosso estudo, por ser menos frequente em estudos com câncer. Esse mesmo grupo relata neste artigo ter realizado estudos com o polimorfismo *CASP8* -652 6N Ins/Del e encontrado associação com a resposta ao fármaco e toxicidade grave em subgrupos de pacientes com câncer de pulmão (segundo o autor, o artigo submetido à apreciação).

Considerando que não foram estabelecidos os papéis de polimorfismos em genes que atuam na via extrínseca da apoptose na resposta terapêutica e toxicidade em pacientes com CCECP tratados com CDDP associado à RT, foram definidos os objetivos deste estudo.

Objetivos

Avaliar, de forma prospectiva, pacientes com CCECP atendidos nos ambulatórios de Oncologia Clínica do Hospital de 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 *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1-15G>T estão associados à taxa de resposta ao esquema terapêutico de CDDP associada à RT,
- Verificar se os polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T estão associados à toxicidade do esquema CDDP associada à RT e,
- Verificar se os polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T estão associados à concentração de CDDP urinária.

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/m²/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 (ClCr > 50 mL/min/1,73 m²) 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 (ClCr < 50 mL/min/1,73 m²) 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 de cada polimorfismo gênico em portadores de câncer de indivíduos de outras populações (SUN *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2005; BEL HADJ JRAD *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2006; CHEN *et al.*, 2008; TER-MINASSIAN *et al.*, 2008; CHATTERJEE *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2010; UMAR *et al.*, 2011). O tamanho amostral foi calculado conforme descrição prévia (BEIGUELMAN, 1995), para garantir que os três possíveis genótipos (homozigoto selvagem, heterozigoto e homozigoto variante) estivessem representados (**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 extrínseca de apoptose em câncer

olimorfismo (referência)	Pacientes n total	Genótipos			Tamanho amostral	Tipo de câncer	Referência
		Selvagem n (%)	Heterozigoto n (%)	Variante n (%)			
		CC	CT	TT			
FASL C-844T (rs763110)	721	323 (44,8)	316 (43,8)	82 (11,4)	85	Cabeça e pescoço	ZANG <i>et al.</i> , 2006
	103	2 (2,0)	31 (30,0)	70 (68,0)	8	Cervical	CHATTERJEE <i>et al.</i> , 2009
	1490	576 (39,0)	684 (46,0)	230 (15,0)	68	Pulmão	TER-MINASSIAN <i>et al.</i> , 2008
	1000	612 (61,2)	324 (34,4)	64 (6,4)	146	Pulmão	ZANG <i>et al.</i> , 2005
	314	193 (61,5)	111 (35,3)	10 (3,2)	161	Cervical	SUN <i>et al.</i> , 2005
		GG	GA	AA			
FAS G-1377A (rs2234767)	721	562 (77,9)	142 (19,7)	17 (2,4)	307	Cabeça e pescoço	ZHANG <i>et al.</i> , 2006
	1000	413 (41,3)	433 (43,3)	154 (15,4)	72	Pulmão	ZHANG <i>et al.</i> , 2005
	314	144 (45,9)	144 (45,9)	26 (8,2)	94	Cervical	SUN <i>et al.</i> , 2005
		AA	AG	GG			
FAS A-670G (rs1800682)	721	191 (26,5)	363 (50,3)	167 (23,2)	45	Cabeça e pescoço	ZANG <i>et al.</i> , 2006
	314	138 (43,9)	144 (45,9)	32 (10,2)	86	Cervical	SUN <i>et al.</i> , 2005
	170	28 (16,5)	91 (53,5)	51 (30,0)	32	Cabeça e pescoço	BEL HADJ JRAD <i>et al.</i> , 2006
		Ins/Ins	Ins/Del	Del/Del			
CASP8 -652 6N Ins/Del (rs3834129)	1023	311 (30,4)	456 (44,6)	256 (25,0)	48	Cabeça e pescoço	LI <i>et al.</i> , 2010
	365	238 (65,2)	115 (31,5)	12 (3,3)	181	Bexiga	WANG <i>et al.</i> , 2009a
	259	139 (53,7)	103 (39,8)	17 (6,6)	118	Esôfago	UMAR <i>et al.</i> , 2011
		GG	GT	TT			
CASP3 IVS1-15G>T (rs4647601)	930	314 (33,8)	435 (46,8)	181 (19,4)	57	Cabeça e pescoço	CHEN <i>et al.</i> , 2008

1. Aspectos clínicos e do tumor

Os dados relativos à identificação, idade, sexo, raça, 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 drink 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 acentuado

(*) 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 fumados. Baseado nos valores de IT, os pacientes foram classificados em não tabagista, tabagista discreto, tabagista moderado e tabagista acentuado (**Tabela 3**).

Tabela 3. Classificação de indivíduos por hábito do tabagismo

Índice de tabagismo	Classificação*
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 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 da p16, a presença do DNA do HPV foi investigada por hibridização *in situ* com sonda de largo espectro, no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UNICAMP, por profissionais da 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, subglote).

O estágio do tumor foi identificado por exame clínico, incluindo a nasofibrolaringoscopia direta, tomografia computadorizada (CT) do pescoço, radiografia do tórax (ou CT 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 do Hospital de Clínicas da UNICAMP e os resultados interpretados pelo Prof. Dr. João Maurício Carrasco Altemani.

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 de acordo com o procedimento padrão (MENDENHALL *et al.*, 2011). Para avaliar a função renal pré-tratamento, os pacientes foram também submetidos à taxa de filtração glomerular (TFG) com ácido etilenodiamino-tetracético marcado com cromó-⁵¹(EDTA-⁵¹Cr), no Serviço de Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas da UNICAMP, sob a coordenação 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, por profissionais da equipe do Prof. Dr. Carlos Takahiro Chone.

2. Terapêutica de pacientes com CCECP

Os pacientes receberam terapêutica de suporte padronizada no Serviço de Oncologia. De forma sucinta, os pacientes receberam hidratação (3.000 mL de soro fisiológico 0,9%, 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; KRIS *et al.*, 2011). Em caso de diarreia, 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/m²/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/m²/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 7.000cGy 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, CT do pescoço, do tórax (se metástase pulmonar anterior) e abdominal (se metástase hepática anterior).

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 ClCr, TFG com EDTA-⁵¹Cr e audiometria tonal limiar para avaliação da toxicidade da CDDP renal 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 *FASL* C-844T (ZHANG *et al.*, 2005), *FAS* G-1377A (ZHANG *et al.*, 2005), *FAS* A-670G (HUANG *et al.*, 1999), *CASP8* -652 6N Ins/Del (SON *et al.*, 2006) e *CASP3* IVS1-15G>T (CHEN *et al.*, 2008) foram amplificadas por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando misturas de H₂O estéril, tampão com (NH₄)₂SO₄ (10x), MgCl₂ (25 mM), dNTP (40mM), iniciadores (10 pmoles/μL), enzima *Taq* DNA polimerase (2,5 u) e DNA (50 ng). Os produtos das amplificações por PCR foram submetidos à digestão enzimática,

conforme técnicas previamente descritas acima. Controles positivo (DNA genômico de indivíduos saudáveis, com genótipos já estabelecidos) e negativo (água estéril) foram colocados em todas as reações de genotipagem.

Os produtos da digestão enzimática foram visualizados em gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo, 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 as 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.

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

Tabela 4. Condições para genotipagem dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/del e *CASP3* IVS1-15G>T

Polimorfismo	Sequências de iniciadores	Reação	PCR (pb)	Enzima	Produtos (pb)	Genótipos
<i>FASL</i> C-844T rs763110	5'CAGCTACTCGGAGGCCAAG3' 5'GCTCTGAGGGGAGAGACCAT3'	94°C – 5 min (1x)	401	<i>BsrDI</i>	228 e 173 401, 228 e 173 401	CC
		94°C – 30 seg (35x)				CT
		60°C – 55 seg (35x)				TT
		72°C – 55 seg (35x)				
		72°C – 10 min (1x)				
<i>FAS</i> G-1377A rs2234767	5'TGTGTGCACAAGGCTGGCGC3' 5'TGCATCTGTCACTGCACTTACCACCA3'	94°C – 5 min (1x)	122	<i>Bstul</i>	102 e 20 122, 102 e 20 122	GG
		94°C – 30 seg (35x)				GA
		62°C – 55 seg (35x)				AA
		72°C – 55 seg (35x)				
		72°C – 10 min (1x)				
<i>FAS</i> A-670G rs1800682	5'CTACCTAAGAGCTATCTACCGTTC3' 5'GGCTGTCCATGTTGTGGCTGTC3'	94°C – 5 min (1x)	331	<i>MvaI</i>	233 e 98 233, 189, 98 e 44 189, 98 e 44	AA
		94°C – 30 seg (35x)				AG
		60°C – 55 seg (35x)				GG
		72°C – 55 seg (35x)				
		72°C – 10 min (1x)				
<i>CASP8</i> -652 6N ins/del rs3834129	5'ACTCTGCATGCCAGGAGCTAAG3' 5'CCATAGTAATTCTTGCTCTGCCC(A→C)3'	94°C – 5 min (1x)	179 (Ins) 173 (Del)	<i>PvuII</i>	149 e 30 173, 149 e 30 173	Ins/Ins
		94°C – 30 seg (35x)				Ins/Del
		57°C – 30 seg (35x)				Del/Del
		72°C – 30 seg (35x)				
		72°C – 10 min (1x)				
<i>CASP3</i> IVS1-15G>T rs4647601	5'GCGGTAGCGCCGTCCGTTGC3' 5'ACCGAGCTCCGAGGGCGGGAG3'	94°C – 5 min (1x)	103	<i>Hpych4V</i>	103 103, 84 e 19 84 e 19	GG
		96°C – 45 seg (45x)				GT
		60°C – 40 seg (45x)				TT
		72°C – 30 seg (45x)				
		72°C – 5 min (1x)				

5. Taxa de resposta ao tratamento

As taxas de resposta à terapêutica com CDDP associada à RT foram avaliadas 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. As taxas de resposta após terapêutica foram identificadas pelo Prof. Dr. João Maurício Carrasco Altemani.

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 10mm foi considerado não patológico, aquele com eixo curto maior ou igual a 10mm 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 5**).

Tabela 5. Tipos de resposta à terapêutica de acordo com RECIST 1.1*

Lesões alvo	Lesões não alvo	Novas lesões	Resposta global
Resposta completa	Resposta completa	Não	Resposta completa
Resposta completa	Não resposta completa Não doença progressiva	Não	Resposta parcial
Resposta completa	Não de todo avaliado	Não	Resposta parcial
Resposta parcial	Não doença progressiva Não de todo avaliado	Não	Resposta parcial
Doença estável	Não doença progressiva 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

6. Toxicidade ao esquema terapêutico

6.1. 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 6**) e mielossupressão (**Tabela 7**) 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 1 ponto representa adesão baixa, 2 a 3 pontos adesão média, 4 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, 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 6. 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; indicadas 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, 2009; (NA) não se aplica

Tabela 7. 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	< 10 – 8 g/dL	< 8 - 6,5 g/dL	Risco de morte
Leucócitos	10000/mm ³	< LIN-3000/mm ³	< 3000 - 2000/mm ³	< 2000 - 1000/mm ³	< 1000 mm ³
Neutrófilos	2000-8000/mm ³	< LIN-1500/mm ³	< 1500 - 1000/mm ³	< 1000 - 500/mm ³	< 500 mm ³
Linfócitos	1000-4000/mm ³	< LIN-800/mm ³	< 800 - 500/mm ³	< 500 - 200/mm ³	< 200 mm ³
Plaquetas	150000-400000/mm ³	< LIN-75000/mm ³	< 75000 - 50000/mm ³	< 50000 - 25000/mm ³	< 25000 mm ³

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

6.2. 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 fones de ouvido modelo TDH 39 na via aérea, utilizando a técnica descendente-ascendente para apresentação 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 8**).

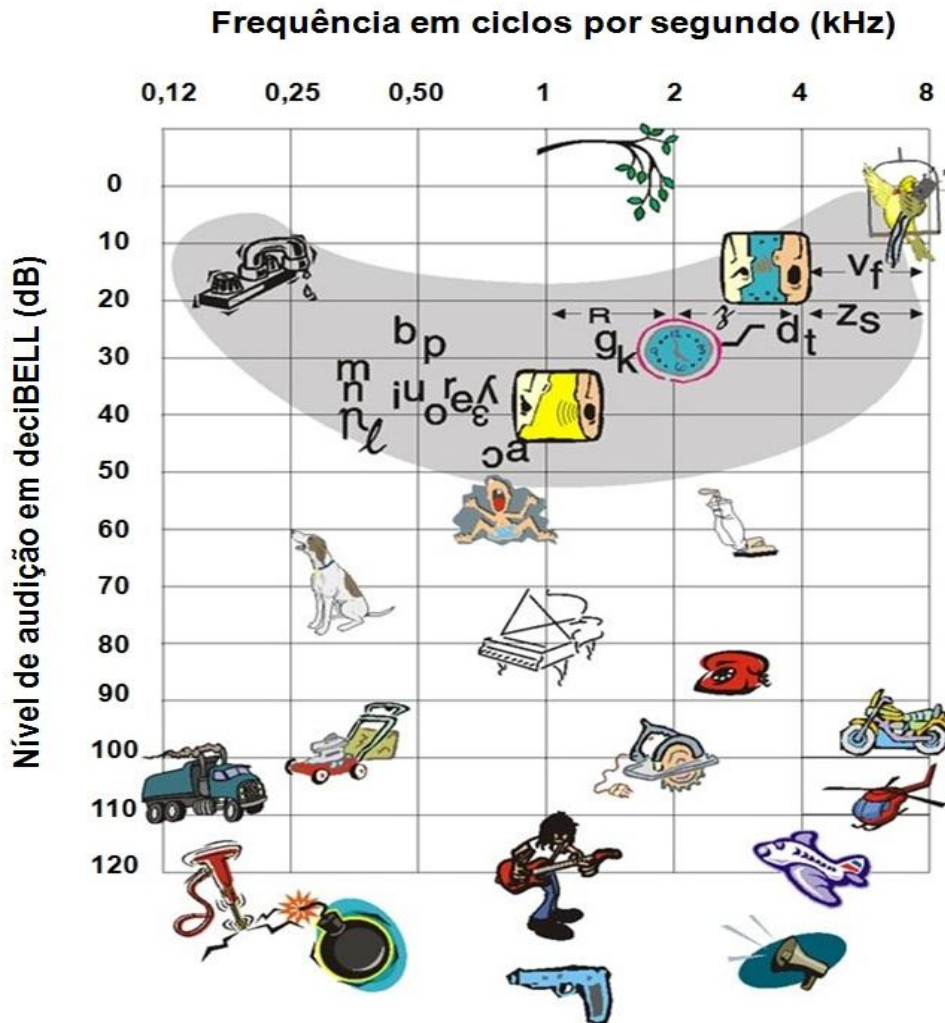


Figura 3. Audiograma de sons familiares. No Audiograma ilustrado, pode-se observar que do lado esquerdo estão as frequências baixas/graves (0,25 e 0,50 kHz), no meio estão as frequências médias (1, 2 e 3 kHz) e do lado direito as frequências altas/agudas (4, 6 e 8 kHz). Para cada frequência, existe um 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 8. Graus de ototoxicidade segundo critérios do *National Cancer Institute**

Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4
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 2kHz e acima)

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

6.3. Nefrotoxicidade

6.3.1. 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 e 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 por meio da equação $\text{ClCr} = [140 - \text{idade (anos)}] \times \text{peso (kg)} / \text{Cr plasmática (mg/dL)} \times 72$ ($\times 0,85$ se mulher) (COCKCROFT & GAULT, 1976).

6.3.2. Taxa de filtração glomerular com EDTA-⁵¹Cr

A TFG com EDTA-⁵¹Cr 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-⁵¹Cr 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, 1972).

7. Quantificação da CDDP urinária

Foram coletadas amostras de urina dos pacientes, em garrafas de polipropileno de 2,5 L, por micção voluntária no período de 0 a 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; VOUILLAMOZ-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).

7.1. Procedimentos pré-analíticos

7.1.1. Construção da curva padrão

Foi coletada urina de um voluntário sadio (Cr e ClCe em valores dentro 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 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 cisplatina 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.

7.1.2. 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 NiCl₂ (solução de 300 µg/mL), como padrão interno (PI) e 1000 µL de 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 3.500 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 dez minutos. Ao término da centrifugação, os sobrenadantes foram desprezados e as fases clorofórmicas foram transferidas para tubos de HPLC para posterior determinação analítica.

7.2. Procedimentos analíticos

7.2.1. 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 μ 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/minuto. O volume de injeção foi de 10 μ L e o tempo total de corrida foi de 10 minutos. Após a corrida cromatográfica, as amostras foram analisadas e quantificadas utilizando-se softwares do equipamento.

7.2.2. 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.

7.2.3. 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.

7.2.4. 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.

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 (χ^2). A regressão logística múltipla foi feita para obter a razão das chances (ORs) ajustadas por eventuais diferenças específicas para cada variável categórica (raça, sexo, hipertensão arterial, diabetes mellitus, etilismo, tabagismo, adesão ao tratamento antiemético, localização, estágio e grau de diferenciação do tumor, taxa de resposta, náuseas, vômitos, anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia, plaquetopenia e ototoxicidade) e contínua (idade, índice de massa corpórea, dose de CDDP acumulada), considerando um intervalo de confiança (IC) de 95%. A ANOVA foi realizada para medidas repetidas, ajustadas por eventuais diferenças específicas para cada variável contínua (ClCr, TFG com EDTA-⁵¹Cr, 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).

Resultados

1. Casuística

As distribuições individualizadas dos 145 pacientes com CCECP consecutivos, convidados inicialmente para o estudo, de acordo com a situação final e as causas 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 (%)
Permaneceram no estudo	90 (62,1)
Excluídos	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 não puderam ser inseridos no estudo, devido principalmente a redução de função renal ou do KPS que ocorreram entre o primeiro atendimento e o início da terapêutica. 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, de acordo com a idade, o sexo, a raça, o índice de massa corpórea, a presença de hipertensão arterial e diabetes mellitus e os padrões de etilismo e de tabagismo estão apresentadas no **Anexo 8**. As distribuições individualizadas dos mesmos, de acordo com a localização, o estágio, o grau de diferenciação do tumor e a presença do HPV estão apresentadas no **Anexo 9**. Já as frequências das distribuições dos 90 pacientes, de acordo com 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 raça, as comorbidades e o padrão de etilismo e tabagismo

Variáveis	Número de pacientes (%)
Idade mediana (anos)	
< 56	43 (47,8)
≥ 56	47 (52,2)
Idade média (desvio padrão)	
55 (±8,87) anos	
Sexo	
Masculino	83 (92,2)
Feminino	7 (7,8)
Raça	
Caucasóide	83 (92,2)
Negróide	7 (7,8)
Índice de massa corpórea	
< 18,5	43 (47,8)
≥ 18,5	47 (52,2)
Hipertensão arterial	
Sim	24 (26,7)
Não	66 (73,3)
Diabetes mellitus	
Sim	10 (11,1)
Não	80 (88,9)
Etilismo	
Abstêmio	7 (7,8)
Discreto	4 (4,4)
Moderado	15 (16,7)
Acentuado	26 (28,9)
Mais que acentuado	38 (42,2)
Tabagismo	
Não tabagista	2 (2,2)
Discreto	1 (1,1)
Moderado	8 (8,9)
Acentuado	79 (87,8)

Tabela 11. Frequência 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

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

O número de pacientes analisados por imunohistoquímica (n= 57) difere do total inserido no estudo (n= 90) devido a falta de fragmentos do tumor para análise

Observamos que cerca de metade da nossa casuística foi constituída por pacientes com idade maior do que 56 anos e com índice inadequado 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 (79,5%), apresentou tumor moderadamente diferenciado. Observamos que a maioria dos nossos pacientes avaliados para extensão do tumor (77,8), apresentou tumor de estágio avançado. Também observamos que o HPV não foi identificado em fragmentos do tumor de nenhum dos casos em que a avaliação foi possível.

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 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/m², 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 *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T estão apresentados nas **Figuras 4, 5, 6, 7 e 8**, respectivamente.

As frequências das distribuições dos 90 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T estão apresentadas na **Tabela 12**

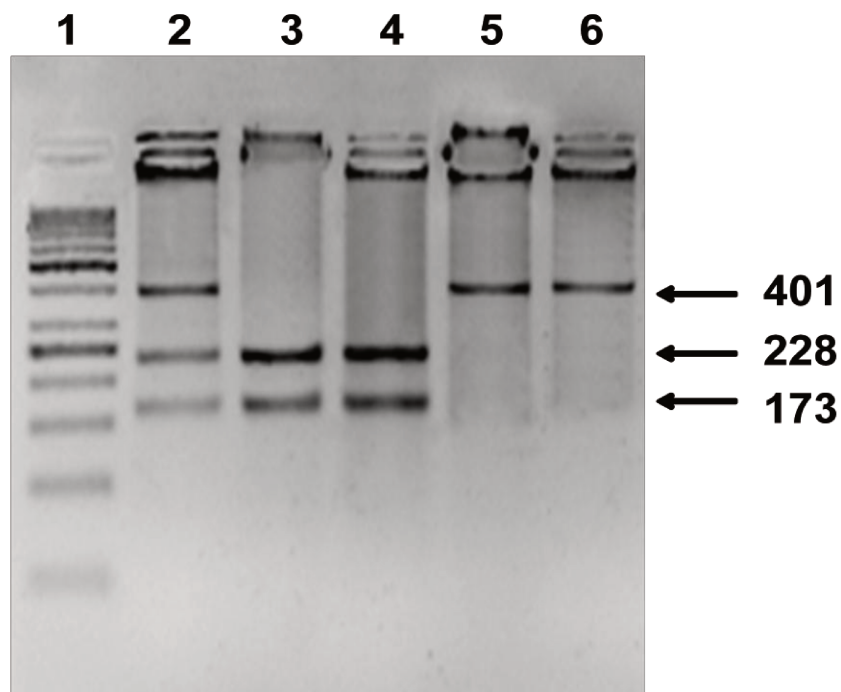


Figura 4. Produtos da digestão com a enzima *BsrDI* de fragmentos de interesse do gene *FASL* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo C-844T em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo. Fragmentos de 228 e 173 pares de bases (pb) correspondem ao alelo selvagem C. Fragmentos de 401 pb correspondem ao alelo variante T. O marcador do tamanho do DNA, ladder 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduo com o genótipo heterozigoto CT está representado na coluna 2. Indivíduos com o genótipo homozigoto selvagem CC estão representados nas colunas 3 e 4. Indivíduos com o genótipo homozigoto variante TT estão representados na coluna 5 e 6

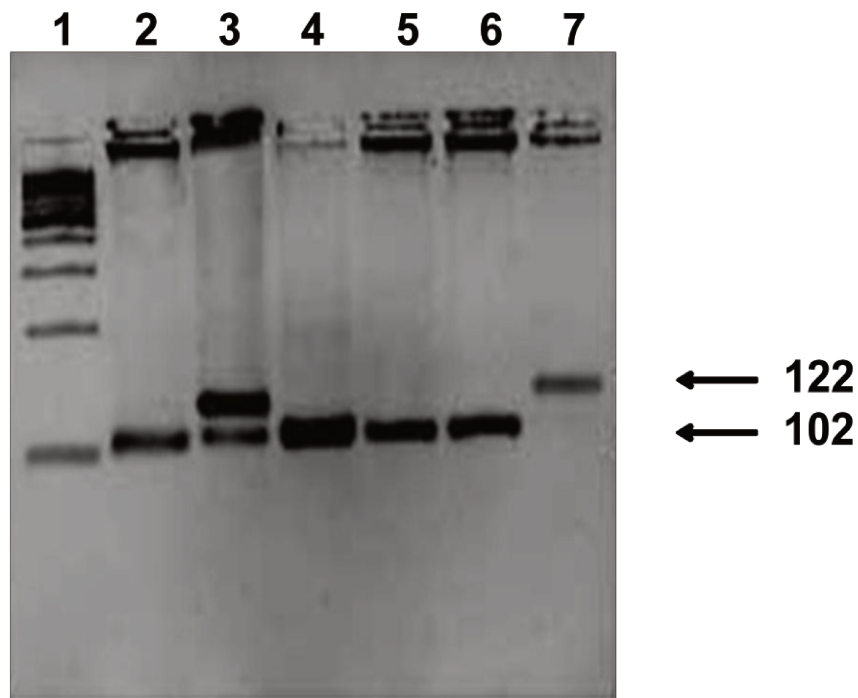


Figura 5. Produtos da digestão com a enzima *Bst*UI de fragmentos de interesse do gene *FAS* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo G-1377A em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo. Fragmentos de 102 e 20 pares de bases (pb) (não visualizado) correspondem ao alelo selvagem G. Fragmentos de 122 pb correspondem ao alelo variante A. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo selvagem GG estão representados nas colunas 2, 4, 5, 6. Indivíduo com o genótipo heterozigoto GA está representado na colunas 3. Indivíduo com o genótipo homozigoto variante AA está representado na coluna 7

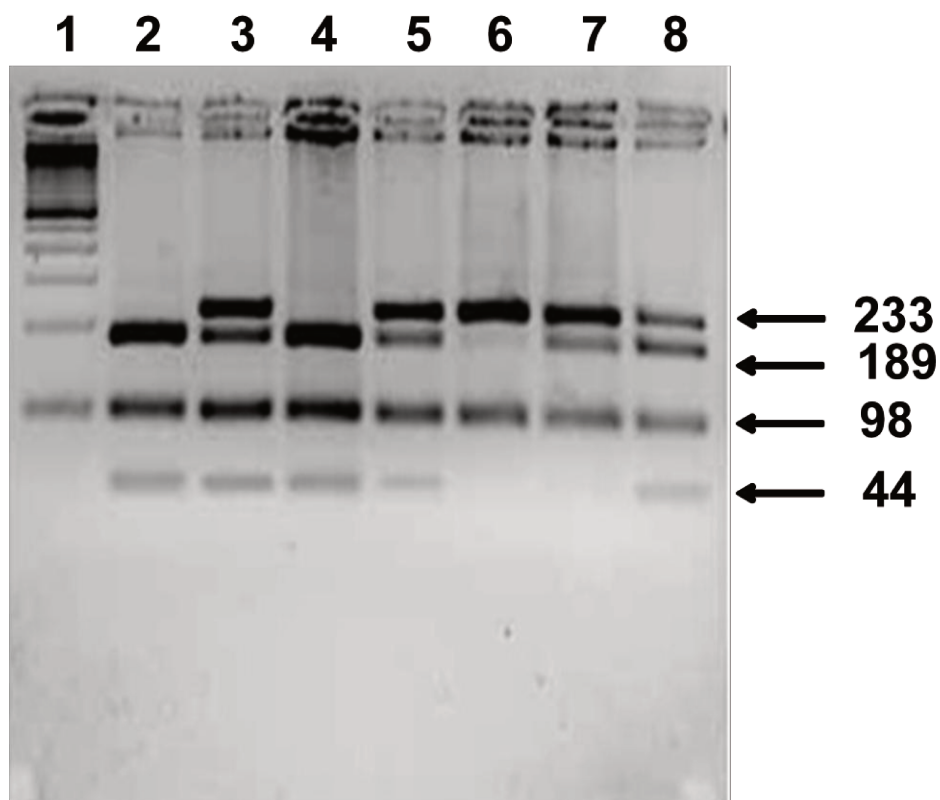


Figura 6. Produtos da digestão com a enzima *MvaI* de fragmentos de interesse do gene *FAS* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo A-670G em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo. Fragmentos de 233 e 98 pares de bases (pb) correspondem ao alelo selvagem. Fragmentos de 189, 98 e 44 pb correspondem ao alelo variante G. O marcador do tamanho do DNA, ladder 100 pb, está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo homozigoto variante GG estão representados nas colunas 2 e 4. Indivíduos com os genótipos heterozigoto AG estão representados nas colunas 3, 5, 7 e 8. Indivíduo com o genótipo homozigoto selvagem AA está representado na coluna 6

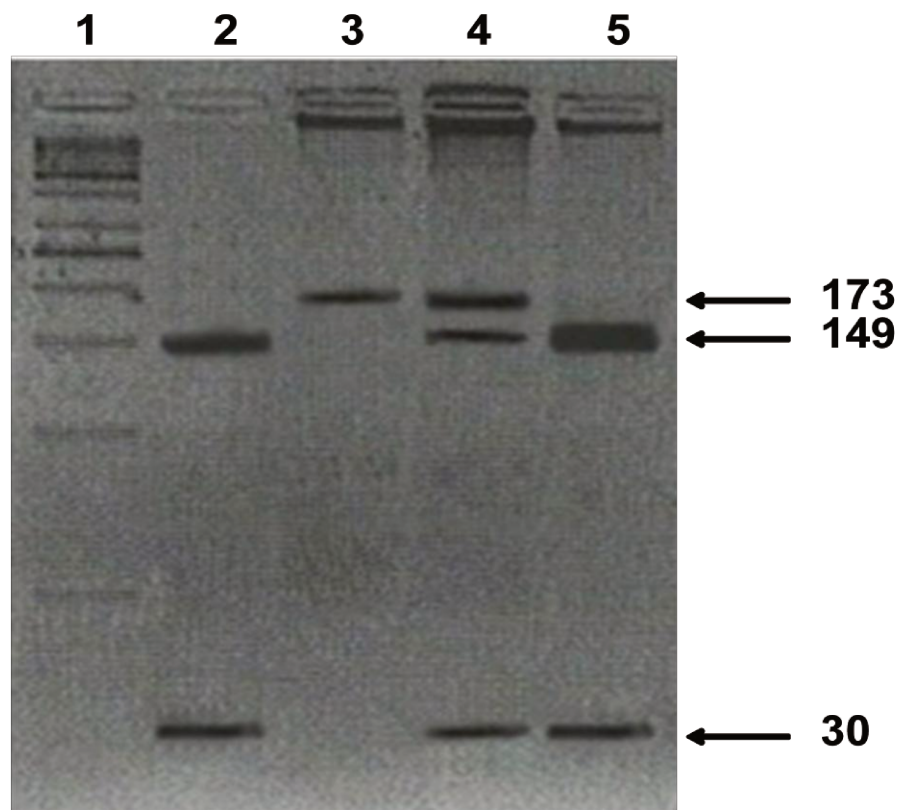


Figura 7. Produtos da digestão com a enzima *PvuII* de fragmentos de interesse do gene *CASP8* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo -652 6N Ins/del em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo. Fragmentos de 149 e 30 pares de bases (pb) correspondem ao alelo selvagem Ins. Fragmento de 173 pb corresponde ao alelo variante Del. O marcador do tamanho do DNA, ladder 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo homozigoto selvagem Ins/Ins estão representados nas colunas 2 e 5. Indivíduo com o genótipo homozigoto variante Del/Del está representado na coluna 3. indivíduo com o genótipo heterozigoto Ins/Del está representado na coluna 4

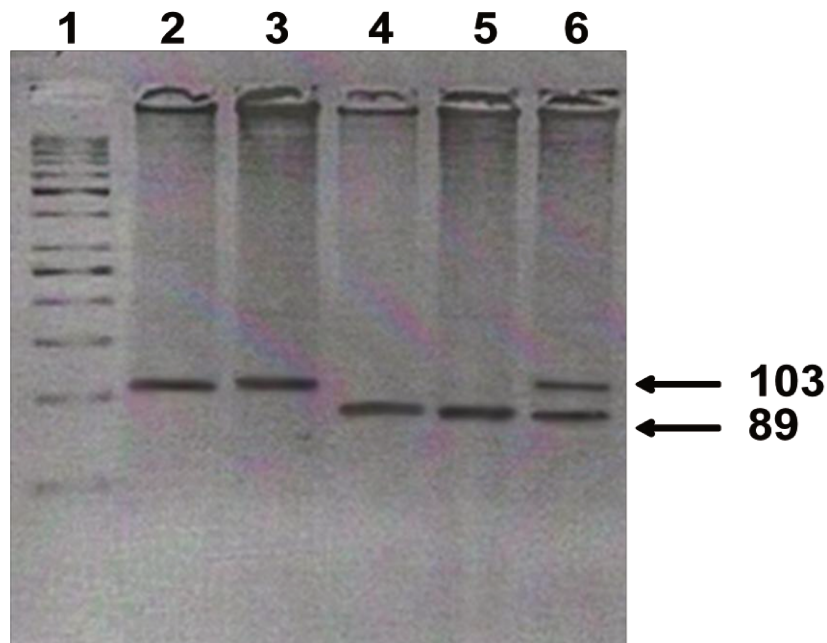


Figura 8. Produtos da digestão com a enzima *Hpych4V* de fragmentos de interesse do gene *CASP3* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo C118T *IVS1-15G>T* em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo. Fragmentos de 103 pares de bases (pb) corresponde ao alelo selvagem C. Fragmentos de 84 e 19 pb (não visualizados) correspondem ao alelo variante T. O marcador do tamanho do DNA, ladder 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo homozigoto selvagem GG estão representados nas colunas 2 e 3. Indivíduos com o genótipo homozigoto variante TT estão representados na coluna 4 e 5. Indivíduos com o genótipo heterozigoto GT estão representados na coluna 6

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 *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T

Genótipos (referência)	Número de pacientes (%)
<i>FASL</i> C-844T rs763110	
CC	26 (28,9)
CT	44 (48,9)
TT	20 (22,2)
Alelo C	96 (53,3)
AleloT	84 (47,7)
<i>FAS</i> G-1377A rs2234767	
GG	65 (72,2)
GA	18 (20,0)
AA	7 (7,8)
Alelo G	148 (82,2)
Alelo A	32 (12,8)
<i>FAS</i> A-670G rs1800682	
AA	30 (33,3)
AG	39 (43,3)
GG	21 (23,4)
Alelo A	99 (55)
Alelo G	81 (45)
<i>CASP8</i> -652 6N INS/Del rs13834129	
Ins/Ins	72 (80,0)
Ins/Del	16 (17,8)
Del/Del	2 (2,2)
Alelo Ins/Ins	160 (88,9)
Alelo Del/Del	20 (11,1)
<i>CASP3</i> IVS1 -15G>T rs4647601	
GG	30 (33,4)
GT	48 (53,3)
TT	12 (13,3)
Alelo GG	108 (60)
Alelo TT	72 (40)

FASL C-844T: (CC) homozigoto selvagem, (CT) heterozigoto, (TT) homozigoto variante; *FAS* G-1377A: (GG) homozigoto selvagem, (GA) heterozigoto, (AA) homozigoto variante; *FAS* A-670G: (AA) homozigoto selvagem, (AG) heterozigoto, (GG) homozigoto variante; *CASP8* -652 6N Ins/Del: (Ins/Ins) homozigoto selvagem, (Ins/Del) heterozigoto, (Del/Del) homozigoto variante e *CASP3* IVS1 -15G>T: (GG) homozigoto selvagem, (GT) heterozigoto, (TT) homozigoto variante

As amostras dos pacientes avaliados estiveram em equilíbrio de Hardy-Weinberg para os loci *FASL* C-844T ($\chi^2 = 0,09$, $P = 0,76$), *FAS* A-670G ($\chi^2 = 1,39$, $P = 0,23$), *CASP8* -652 6N Ins/ Del ($\chi^2 = 0,90$, $P = 0,34$), e *CASP3* IVS1 -15G>T ($\chi^2 = 1,11$, $P = 0,29$). As amostras dos pacientes avaliados estiveram em desequilíbrio no locus do polimorfismo *FAS* G-1377A ($\chi^2 = 8,98$, $P < 0,01$)

Os genótipos *FASL* -844CC, *FAS* -1377GG, *FAS* -670AA, *CASP8* -652 6N Ins/Ins e *CASP3* IVS1 -15GG, descritos como os que preservam a função de apoptose de células com lesão de DNA (WU *et al.*, 2003; SUN *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2008; YIN *et al.*, 2010; CATUCCI *et al.*, 2011) foram considerados como referências na avaliação da influência dos polimorfismos na toxicidade, concentração de CDDP urinária e taxa de resposta à terapêutica com CDDP e RT. Já os genótipos *FASL* -844TT, *FAS* -1377AA, *FAS* -670GG, *CASP8* -652 6N Del/Del e *CASP3* IVS1 -15TT, descritos como associados a apoptose anormal (WU *et al.*, 2003; SUN *et al.*, 2005; ZHANG *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2008; YIN *et al.*, 2010; CATUCCI *et al.*, 2011), foram considerados os objetos de teste no estudo. Os genótipos heterozigotos foram avaliados em associação aos primeiros e aos últimos genótipos para verificar onde teriam impacto para a variável em questão.

5. Taxa de resposta ao tratamento

As frequências das distribuições dos 72 pacientes de acordo com as taxas de respostas ao tratamento estão apresentadas na **Tabela 13**.

Informamos que não foi possível avaliar a taxa de resposta de 18 pacientes (casos 1, 6, 23, 40, 46, 48, 50, 60, 93, 98, 106, 125, 126, 130, 132, 140, 143 e 145), pois alguns evoluíram para o óbito ($n = 10$), e outros não realizaram o exame ($n = 8$).

Tabela 13. Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por taxas de resposta à terapêutica 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 realizou exame de imagem ao término da terapêutica

Observamos que cerca de 70% dos nossos pacientes 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 9**. A resposta completa identificada por TC do pescoço em paciente com CCECP de laringe (caso 17) tratado com CDDP associada à RT está apresentada na **Figura 10**.

As frequências das distribuições dos 72 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e os tipos de resposta obtidas com o tratamento estão apresentadas na **Tabela 14**.



Figura 9. 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 tratamento com cisplatina associada à radioterapia, pode ser vista nas figuras (C) e (D)

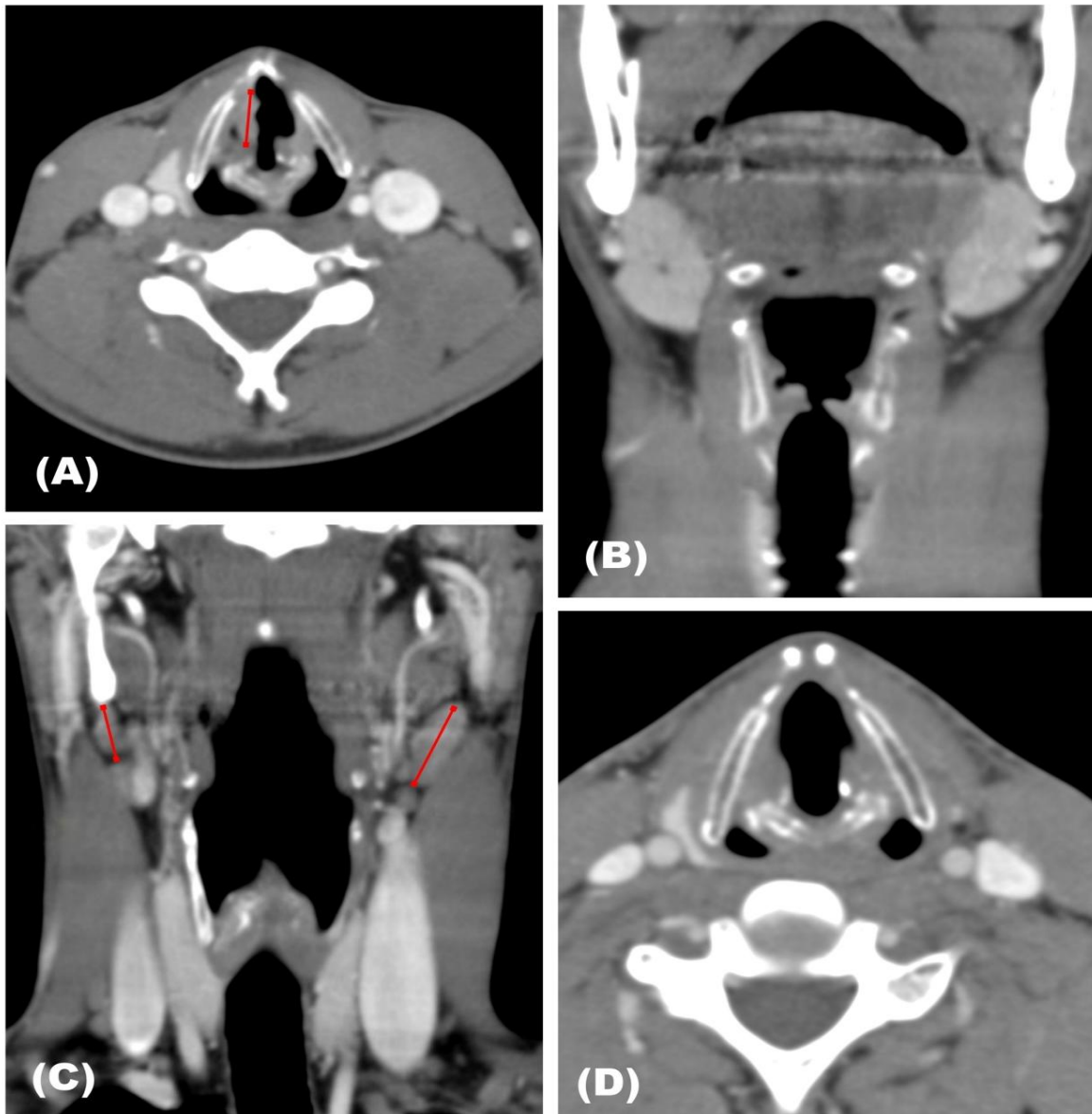


Figura 10. Imagens obtidas antes e após o tratamento de paciente com carcinoma de células escamosas de laringe em cortes axiais e coronais de tomografia computadorizada de pescoço com contraste intravenoso (caso 17). Em imagens obtidas antes do tratamento, lesão vegetante levemente hipercaptante (11,24mm de altura) em corda vocal direita pode ser vista nas figuras (A) e (B) e linfonodomegalia cervical bilateral (14,19mm e 23,15mm) na figura (C). Estrutura laríngea preservada, após tratamento com cisplatina associada à radioterapia, pode ser vista na figura (D)

Tabela 14. Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G> e tipos de resposta à terapêutica com CDDP associada à RT

Variáveis	N	Taxa de resposta	
		Resposta completa	Resposta parcial + Doença estável
		N (%)	N (%)
FASL C-844T			
CC+CT*	56	12 (21,5)	44 (78,5)
TT	16	3 (18,8)	13 (81,2)
Valor de <i>P</i>		0,44	
OR (IC 95%)		1,92 (0,37-9,94)	
CC*	22	2 (9,1)	20 (90,9)
CT+TT	50	13 (26,0)	37 (74,0)
Valor de <i>P</i>		0,24	
OR (IC 95%)		0,36 (0,06-2,00)	
FAS G-1377^a			
GG+GA*	66	12 (18,2)	54 (81,8)
AA	6	3 (50,0)	3 (50,0)
Valor de <i>P</i>		0,13	
OR (IC 95%)		0,21 (0,03-1,61)	
GG*	49	8 (16,3)	41 (83,7)
GA+AA	23	7 (30,4)	16 (69,6)
Valor de <i>P</i>		0,09	
OR (IC 95%)		0,30 (0,07-1,21)	
FAS A-670G			
AA+AG*	55	12 (21,8)	43 (78,2)
GG	17	3 (17,6)	14 (82,4)
Valor de <i>P</i>		0,69	
OR (IC 95%)		1,39 (0,28-6,91)	
AA*	24	6 (25,0)	18 (75,0)
AG+GG	48	9 (18,8)	39 (81,3)
Valor de <i>P</i>		0,53	
OR (IC 95%)		1,53 (0,39-6,03)	
CASP8 -6526N Ins/Del			

Ins/Ins+Del/Del*	70	15 (21,4)	55 (78,6)
Del/Del	2	0 (0,0)	2 (100,0)
Valor de <i>P</i>			0,99
OR (IC 95%)			NA
Ins/Ins*	59	14 (23,7)	45 (76,3)
Ins/Del+Del/Del	13	1 (7,7)	12 (92,3)
Valor de <i>P</i>			0,34
OR (IC 95%)			2,96 (0,31-27,88)
CASP3 IVS1 -15G>T			
GG+GT*	62	13 (21,0)	49 (79,0)
TT	10	2 (20,0)	8 (80,0)
Valor de <i>P</i>			0,84
OR (IC 95%)			0,83 (0,13-5,31)
GG*	27	3 (11,1)	24 (88,8)
GT+TT	46	12 (26,7)	33 (73,3)
Valor de <i>P</i>			0,07
OR (IC 95%)			0,21 (0,03-1,18)

(N) número de pacientes; (*) genótipo referência; (OR) razão das chances ajustadas por idade, dose de cisplatina acumulada, índice de massa corpórea, localização e grau de 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 genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observadas em pacientes estratificados por tipos de resposta à terapêutica.

6. Toxicidade ao esquema terapêutico

6.1. 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 15**. As frequências das distribuições dos 84 pacientes de acordo com 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 15. 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

Variáveis	Número de pacientes (%)
Náuseas	
Grau 0	15 (17,0)
Grau 1	22 (25,0)
Grau 2	40 (45,5)
Grau 3	11 (12,5)
Vômitos	
Grau 0	38 (43,2)
Grau 1	21 (23,9)
Grau 2	19 (21,5)
Grau 3	10 (11,4)
Grau 4	0 (0,0)
Adesão ao tratamento	
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 16. Frequência 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

Variáveis	Número de pacientes (%)
Anemia	
Grau 0	2 (2,4)
Grau 1	35 (41,7)
Grau 2	32 (38,1)
Grau 3	15 (17,8)
Grau 4	0 (0,0)
Leucopenia	
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)
Neutropenia	
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)
Linfopenia	
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)
Plaquetopenia	
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

A maior parte dos pacientes com sintomas de êmese apresentou náuseas e vômitos dos graus 1 e 2 (70,5% e 45,4%, respectivamente) e alta adesão aos antieméticos (72,7%). A maior parte dos pacientes com anormalidades hematológicas apresentou anemia e leucopenia dos graus 1 e 2 (79,8% e 59,8%, respectivamente), neutropenia dos graus 1, 2 e 3 (54,7%), linfopenia dos graus 2 e 3 (89,2%) e plaquetopenia do grau 1 (32,1%).

As frequências das distribuições dos 88 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e os graus de náuseas, vômitos com o tratamento estão apresentadas na **Tabela 17**. As frequências das distribuições dos 84 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e e os graus de mielossupressão com o tratamento estão apresentadas na **Tabela 18**.

Tabela 17. Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T 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 (%)
FASL C-844T				
CC+CT*	29 (42,6)	39 (57,4)	48 (70,6)	20 (29,4)
TT	8 (40,0)	12 (60,0)	11 (55,0)	9 (45,0)
Valor de <i>P</i>	0,81		0,43	
OR (IC 95%)	1,14 (0,39-3,36)		1,54 (0,53-4,50)	
CC*	11 (42,3)	15 (57,7)	19 (73,0)	7 (27,0)
CT+TT	26 (41,9)	36 (58,1)	40 (64,5)	22 (35,5)
Valor de <i>P</i>	0,85		0,68	
OR (IC 95%)	1,10 (0,41-2,95)		1,25 (0,43-3,62)	
FAS G-1377				
GG+GA*	35 (42,6)	47 (57,4)	54 (65,8)	28 (34,2)
AA	2 (33,3)	4 (66,7)	5 (83,3)	1 (16,7)
Valor de <i>P</i>	0,93		0,18	
OR (IC 95%)	1,09 (0,17-6,90)		5,07 (0,46-55,40)	
GG*	27 (42,2)	37 (57,8)	42 (65,6)	22 (34,4)
GA+AA	10 (41,6)	14 (58,7)	17 (70,8)	7 (29,2)
Valor de <i>P</i>	0,64		0,34	
OR (IC 95%)	1,27 (0,47-3,48)		1,69 (0,58-4,97)	
FAS A-670G				
AA+AG*	24 (35,8)	43 (64,2)	43 (64,2)	24 (35,8)
GG	13 (61,9)	8 (38,1)	16 (76,2)	5 (23,8)
Valor de <i>P</i>	0,03		0,25	
OR (IC 95%)	0,30 (0,11-0,88)		2,00 (0,62-6,46)	
AA*	13 (43,3)	17 (56,7)	18 (60,0)	12 (40,0)
AG+GG	24 (41,4)	34 (58,6)	41 (70,7)	17 (29,3)
Valor de <i>P</i>	0,94		0,25	
OR (IC 95%)	1,04 (0,41-2,64)		1,78 (0,67-4,71)	
CASP8 -6526NIns/Del				

Ins/Ins+Ins/Del*	37 (43,0)	49 (57,0)	57 (66,3)	29 (33,7)
Del/Del	0 (0,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	0 (0,0)
Valor de <i>P</i>	0,99		0,99	
OR (IC 95%)	NA		NA	
Ins/Ins*	32 (45,7)	38 (54,3)	46 (65,7)	24 (34,3)
Ins/Del+Del/Del	5 (27,7)	13 (72,3)	13 (72,3)	5 (27,7)
Valor de <i>P</i>	0,10		0,80	
OR (IC 95%)	2,81 (0,83-9,52)		1,17 (0,35-3,85)	
CASP3 IVS1-15G>T				
GG+GT*	31 (40,8)	45 (59,2)	51 (67,1)	25 (32,9)
TT	6 (50,0)	6 (50,0)	8 (66,7)	4 (33,3)
Valor de <i>P</i>	0,59		0,79	
OR (IC 95%)	1,43 (0,39-5,17)		1,21 (0,31-4,72)	
GG*	10 (34,5)	19 (65,5)	19 (65,5)	10 (34,5)
GT+TT	27 (45,8)	32 (54,2)	40 (67,8)	19 (32,2)
Valor de <i>P</i>	0,51		0,82	
OR (IC 95%)	1,38 (0,53-3,64)		1,12 (0,42-3,00)	

(G0) grau; (*) genótipo referência; (OR) razão das chances ajustadas por idade, dose de cisplatina acumulada e adesão ao tratamento; (IC) intervalo de confiança; (NA) diferença não avaliada. 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 18. Frequências das distribuições dos 84 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e C118T e graus de mielossupressão durante terapêutica

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 (%)
FASL C-844T										
CC+CT*	33 (50,7)	32 (49,3)	56 (86,2)	9 (13,8)	49 (75,4)	16 (24,6)	33 (50,1)	32 (49,9)	38 (58,5)	27 (41,5)
TT	4 (21,1)	15 (78,9)	18 (94,7)	1 (5,3)	18 (94,7)	1 (5,3)	9 (47,3)	10 (52,6)	16 (84,2)	3 (15,8)
Valor de <i>P</i>	0,04		0,31		0,07		0,84		0,07	
OR (IC 95%)	3,87 (1,10-13,57)		3,07 (0,35-26,76)		0,14 (0,02-1,16)		1,12 (0,39-3,23)		0,29 (0,08-1,12)	
CC*	8 (33,3)	16 (66,7)	22 (91,6)	2 (8,4)	18 (75,0)	6 (25,0)	16 (66,7)	8 (33,3)	13 (54,2)	11 (45,8)
CT+TT	29 (48,3)	31 (51,7)	52 (86,6)	8 (13,4)	49 (81,6)	11 (18,3)	26 (43,3)	34 (56,6)	41 (68,3)	19 (31,6)
Valor de <i>P</i>	0,17		0,53		0,39		0,06		0,31	
OR (IC 95%)	2,08 (0,74-5,83)		1,70 (0,32-8,91)		0,60 (0,18-1,94)		2,69 (0,98-7,42)		060 (0,22-1,60)	
FAS G-1377										
GG+GA*	35 (44,9)	43 (55,1)	69 (88,5)	9 (11,5)	64 (82,0)	14 (18,0)	39 (50,0)	39 (50,0)	50 (64,1)	28 (35,9)
AA	2 (33,3)	4 (66,7)	5 (83,3)	1 (16,7)	3 (50,0)	3 (50,0)	3 (50,0)	3 (50,0)	4 (66,6)	2 (33,3)
Valor de <i>P</i>	0,72		0,77		0,09		0,93		0,94	
OR (IC 95%)	1,40 (0,23-8,56)		1,41 (0,14-14,56)		4,69 (0,80-27,43)		0,93 (0,17-5,08)		1,07 (0,18-6,44)	
GG*	26 (43,3)	34 (56,7)	53 (88,3)	7 (11,7)	49 (81,7)	11 (18,3)	29 (48,3)	31 (51,7)	37 (61,7)	23 (38,3)
GA+AA	11 (45,8)	13 (54,2)	21 (87,5)	3 (12,5)	18 (75,0)	6 (25,0)	13 (54,2)	11 (45,8)	17 (70,8)	7 (29,2)
Valor de <i>P</i>	0,58		0,99		0,49		0,53		0,55	
OR (IC 95%)	1,32 (0,49-3,58)		1,01 (0,23-4,46)		1,50 (0,47-4,84)		0,73 (0,28-1,95)		0,73 (0,25-2,07)	
FAS A-670G										
AA+AG*	33 (51,6)	31 (48,4)	55 (85,9)	9 (14,1)	52 (81,3)	12 (18,7)	36 (56,3)	28 (43,7)	43 (67,2)	21 (32,8)
GG	4 (20,0)	16 (80,0)	19 (95,0)	1 (5,0)	15 (22,4)	5 (29,4)	6 (30,0)	14 (70,0)	11 (55,0)	9 (45,0)
Valor de <i>P</i>	0,01		0,32		0,49		0,03		0,24	

OR (IC 95%)	4,88 (1,39-17,16)		0,33 (0,04-2,88)		0,81 (0,14-4,74)		3,24 (1,07-9,81)		1,88 (0,65-5,40)	
AA*	14 (48,3)	15 (51,7)	22 (75,9)	7 (24,1)	21 (72,4)	8 (27,6)	20 (69,0)	9 (31,0)	19 (65,5)	10 (34,5)
AG+GG	23 (35,4)	32 (64,6)	52 (94,5)	3 (5,5)	46 (83,6)	9 (16,4)	22 (40,0)	33 (60,0)	35 (63,6)	20 (36,7)
Valor de <i>P</i>	0,58		0,02		0,09		0,01		0,79	
OR (IC 95%)	1,30 (0,51-3,28)		0,18 (0,04-0,76)		4,69 (0,80-27,43)		3,41 (1,30-8,94)		1,14 (0,44-2,96)	
CASP8 6N Ins/Del										
Ins/Ins+Ins/Del*	37 (44,6)	46 (55,4)	73 (87,9)	10 (12,1)	66 (79,5)	17 (20,5)	42 (50,6)	41 (49,4)	53 (63,8)	30 (36,2)
Del/Del	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100,0)	1 (100,0)	0 (0,0)
Valor de <i>P</i>	0,99		0,99		0,99		0,99		0,99	
OR (IC 95%)	NA		NA		NA		NA		NA	
Ins/Ins*	28 (41,8)	39 (58,2)	1 (100,0)	0 (0,0)	55 (82,1)	12 (17,9)	32 (47,8)	35 (52,2)	45 (67,2)	22 (32,8)
Ins/Del+Del/Del	9 (53,0)	8 (47,0)	59 (88,1)	8 (12,9)	12 (70,6)	5 (29,4)	10 (58,8)	7 (41,2)	9 (52,9)	8 (47,1)
Valor de <i>P</i>	0,46		0,99		0,25		0,43		0,34	
OR (IC 95%)	1,51 (0,51-4,52)		1,01 (0,19-5,31)		2,07 (0,60-7,16)		1,55 (0,52-4,61)		1,70 (0,57-5,07)	
CASP3 IVS1-15G>T										
GG+GT*	32 (44,4)	40 (55,6)	65 (90,3)	7 (9,7)	58 (80,5)	14 (19,5)	37 (51,4)	35 (48,6)	49 (68,1)	23 (31,9)
TT	5 (41,6)	7 (58,4)	9 (75,0)	3 (25,0)	9 (75,0)	3 (25,0)	5 (41,6)	7 (58,4)	5 (41,7)	7 (58,4)
Valor de <i>P</i>	0,82		0,14		0,57		0,52		0,11	
OR (IC 95%)	1,16 (0,33-4,13)		3,23 (0,68-15,23)		1,53 (0,36-6,56)		1,50 (0,43-5,25)		2,80 (0,79-9,90)	
GG*	14 (51,9)	13 (48,1)	25 (92,6)	2 (7,4)	19 (70,4)	8 (29,6)	15 (55,5)	12 (44,5)	19 (70,4)	8 (29,6)
GT+TT	23 (40,4)	34 (59,6)	49 (86,0)	8 (14,0)	48 (84,2)	9 (15,8)	27 (47,4)	30 (52,6)	35 (61,4)	22 (38,6)
Valor de <i>P</i>	0,22		0,37		0,17		0,44		0,57	
OR (IC 95%)	1,84 (0,70-4,85)		2,14 (0,41-11,14)		2,19 (0,71-6,76)		1,46 (0,57-3,75)		1,34 (0,49-3,68)	

(G0) grau; (N) número de pacientes; (*) genótipo referência; (OR) razão das chances ajustadas por idade e dose de cisplatina acumulada; (IC) intervalo de confiança; (NA) diferença não avaliada. 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

Os pacientes com o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G apresentaram menos náuseas acentuadas (graus 2 ou grau 3) do que os pacientes com genótipo -670AA ou o genótipo -670AG (38,1% *versus* 64,2%, $P= 0,03$). Pacientes com o genótipo *FAS* -670GG tiveram chance 0,30 (IC 95%: 0,11-0,88) vezes menor de apresentar náuseas dos graus 2 ou 3 durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -670AA ou o genótipo -670AG. Já os pacientes com o genótipo -670AA ou o genótipo -670AG do polimorfismo *FAS* A-670G apresentaram mais frequentemente náuseas acentuadas (graus 2 ou grau 3) do que os pacientes com genótipo -670GG (64,2% *versus* 38,1%, $P= 0,03$). Pacientes portadores do alelo A (genótipo -670AA ou genótipo -670AG) tiveram risco 3,29 (IC 95%: 1,14-9,49) vezes maior de apresentar náuseas acentuadas (graus 2 ou grau 3) durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -670GG.

Frequências similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observadas em pacientes com CCECP estratificados por graus de náuseas e vômitos.

Os pacientes com o genótipo -844TT do polimorfismo *FASL* C-844T apresentaram mais frequentemente anemia dos graus 2, 3 ou 4 do que os pacientes com o genótipo -844CC ou o genótipo -844CT (78,9% *versus* 49,3%, $P= 0,04$). Os pacientes com o genótipo *FASL* -844TT tiveram chance 3,87 (IC 95%: 1,10-13,57) vezes maior de apresentar anemia dos graus 2, 3 ou 4 durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -844CC ou o genótipo -844CT.

Os pacientes com o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G apresentaram mais frequentemente anemia dos graus 2, 3 ou 4 do que os pacientes com genótipo -670AA ou o genótipo -670AG (80,0% *versus* 48,4%, $P= 0,01$). Pacientes com o genótipo *FAS* -670GG tiveram chance 4,88 (1,39-17,16) vezes maior de apresentar anemia dos graus 2, 3 ou 4 durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -670AA ou o genótipo -670AG.

Frequências similares dos polimorfismos *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observadas em pacientes com CCECP estratificados por graus de anemia.

Os pacientes com o genótipo -670AG ou o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G apresentaram menos leucopenia dos graus 3 ou 4 do que os pacientes com genótipo -670AA (5,5% *versus* 24,1%, $P= 0,02$). Os pacientes portadores do alelo G

(genótipo -670AG ou genótipo -670GG) tiveram risco 0,18 (0,04-0,76) vezes menor de apresentar leucopenia acentuada durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -670AA. Já os pacientes com o genótipo -670AA do polimorfismo *FAS* A-670G apresentaram mais leucopenia dos graus 3 ou 4 do que os pacientes com o genótipo *FAS* -670AG ou o genótipo -670GG (24,1% *versus* 5,5%, $P= 0,02$). Os pacientes com o genótipo *FAS* -670AA tiveram risco 5,57 (1,30-23,82) vezes maior de apresentar leucopenia acentuada durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -670AG ou o genótipo -670GG.

Frequências similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observadas em pacientes com CCECP estratificados por graus de leucopenia.

Frequências similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observados em pacientes com CCECP estratificados por graus de neutropenia.

Os pacientes com o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G apresentaram linfopenia dos grau 3 ou 4 mais frequentemente do que os pacientes com genótipo -670AA ou -670AG (70,0% *versus* 43,7%, $P= 0,03$). Os pacientes com o genótipo *FAS* -670GG tiveram chance 3,24 (1,07-9,81) vezes maior de apresentar linfopenia acentuada (grau 3 ou 4) durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -670AA ou o genótipo -670AG.

Os pacientes com o genótipo -670AG e os pacientes com o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G apresentaram linfopenia dos grau 3 ou 4 mais frequentemente do que os pacientes com genótipo -670AA (60,0% *versus* 31,0%, $P= 0,01$). Os pacientes portadores do alelo G (genótipo -670AG ou genótipo -670GG) tiveram chance 3,41 vezes maior (1,30-8,94) de apresentar linfopenia acentuada (grau 3 ou 4) durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -670AA.

Frequências similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observados em pacientes estratificados por graus de linfopenia.

Frequências similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observadas em pacientes estratificados por graus de plaquetopenia.

6.2. Ototoxicidade

As distribuições dos 70 pacientes, de acordo com valores de limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelhas direita e esquerda, obtidos antes e após o tratamento e as frequências dos graus de ototoxicidade após o tratamento estão apresentadas nas **Tabelas 19 e 20**, respectivamente.

Informamos que não foi possível avaliar os parâmetros auditivos e, conseqüentemente, os graus de ototoxicidade de 20 pacientes (casos 1, 6, 23, 36, 40, 46, 48, 50, 98, 102, 106, 115, 116, 125, 127, 130, 132, 140, 143 e 145), pois alguns evoluíram para o óbito (n= 13), e outros não realizaram o exame (n= 7).

Tabela 19. Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha direita, nas frequências 0,25, 0,50, 1, 2, 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina e radioterapia

Frequência (kHz)	Orelha direita		Orelha esquerda	
	Antes do tratamento	Após o tratamento	Antes do tratamento	Após o tratamento
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
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

(DP) desvio padrão. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em deciBELs (dBs). 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 parte dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia. Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dBs estão associados à redução da acuidade auditiva

Tabela 20. 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

Grau de ototoxicidade	Número de pacientes (%)
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 parte dos nossos casos não realizaram audiometria ao término da terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Reduções da acuidade auditiva aconteceram predominantemente nas frequências sonoras de 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 apresentaram ototoxicidade de grau 3.

As distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1-15G>T e limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha direita, estão apresentadas nas **Tabelas 21 e 22**. As distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha esquerda, estão apresentadas nas **Tabelas 23 e 24**.

As distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e os graus de ototoxicidade após a terapêutica com cisplatina associada à radioterapia estão apresentadas na **Tabela 25**.

Tabela 21. Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e os limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha direita, nas frequências 0,25, 0,50, 1 e 2 kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	0,25kHz		0,50kHz		1kHz		2kHz	
		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
FASL C-844T									
CC+CT*	54	17,87 ± 1726	17,69 ± 15,89	16,02 ± 18,59	16,57 ± 17,51	14,54 ± 18,59	16,02 ± 18,13	16,56 ± 19,58	25,19 ± 22,21
TT	16	14,06 ± 7,12	13,44 ± 5,98	12,19 ± 5,76	13,75 ± 9,40	12,50 ± 10,17	15,00 ± 10,95	12,50 ± 10,80	17,50 ± 16,83
Valor de P		0,94		0,83		0,77		0,18	
CC*	21	15,48 ± 8,56	17,86 ± 7,69	13,10 ± 9,15	16,19 ± 9,39	8,81 ± 7,89	12,86 ± 11,07	11,90 ± 10,43	20,71 ± 16,15
CT+TT	49	17,65 ± 17,17	16,22 ± 14,31	16,02 ± 18,74	15,82 ± 16,56	16,33 ± 19,52	17,04 ± 18,69	17,86 ± 20,44	23,78 ± 23,14
Valor de P		0,30		0,43		0,20		0,47	
FAS G-1377 ^a									
GG+GA*	65	10,00 ± 7,91	13,00 ± 12,55	9,00 ± 6,52	11,00 ± 11,40	10,00 ± 6,12	13,00 ± 14,40	12,00 ± 13,51	16,00 ± 13,87
AA	5	17,54 ± 15,91	17,00 ± 14,49	15,62 ± 17,06	16,31 ± 16,30	14,38 ± 17,53	16,00 ± 16,94	15,92 ± 18,33	24,00 ± 21,67
Valor de P		NA		NA		NA		NA	
GG*	49	14,29 ± 16,29	13,33 ± 16,29	11,90 ± 14,88	14,29 ± 17,32	10,48 ± 16,58	15,00 ± 17,62	15,00 ± 17,62	16,03 ± 17,14
GA+AA	21	18,16 ± 17,70	18,16 ± 16,16	16,63 ± 18,82	15,61 ± 18,15	8,57 ± 8,52	13,57 ± 12,82	7,86 ± 7,56	31,43 ± 30,37
Valor de P		0,63		0,62		0,17		0,40	
FAS A-670G									
AA+AG*	52	17,60 ± 16,90	16,73 ± 15,87	15,00 ± 17,55	15,48 ± 16,90	13,08 ± 17,38	15,48 ± 17,99	15,77 ± 19,26	23,56 ± 22,06
GG	18	15,28 ± 11,30	16,67 ± 9,00	15,56 ± 14,09	17,22 ± 13,71	16,94 ± 16,40	16,67 ± 12,98	15,28 ± 15,19	23,06 ± 19,57

Valor de <i>P</i>		0,51		0,90		0,43		0,90	
AA*	24	14,17 ± 6,37	12,92 ± 6,24	11,67 ± 7,02	11,46 ± 6,83	10,83 ± 7,89	12,71 ± 10,21	14,71 ± 12,31	21,67 ± 20,47
AG+GG	46	18,48 ± 18,56	18,70 ± 16,81	16,96 ± 19,68	18,26 ± 18,77	15,76 ± 20,05	17,39 ± 19,14	16,40 ± 20,37	24,35 ± 21,80
Valor de <i>P</i>		0,37		0,41		0,69		0,14	
CASP8 6N Ins/Del									
Ins/Ins+Ins/Del*	68	16,69 ± 15,68	16,62 ± 14,52	14,71 ± 16,61	15,74 ± 16,14	14,12 ± 17,19	15,44 ± 16,68	15,29 ± 18,26	22,79 ± 21,20
Del/Del	2	27,50 ± 3,54	20,00 ± 0,00	30,00 ± 7,07	22,50 ± 10,60	12,50 ± 10,60	27,50 ± 17,68	27,50 ± 3,54	45,17 ± 7,07
Valor de <i>P</i>		NA		NA		NA		NA	
Ins/Ins*	59	17,03 ± 16,59	16,69 ± 15,33	15,34 ± 17,56	16,10 ± 17,20	14,83 ± 18,10	15,93 ± 17,77	15,17 ± 18,64	23,47 ± 21,88
Ins/Del+Del/Del	11	16,82 ± 17,99	16,82 ± 17,43	14,09 ± 19,73	15,00 ± 18,66	10,00 ± 20,48	16,00 ± 19,12	18,18 ± 22,08	23,18 ± 18,34
Valor de <i>P</i>		0,94		0,75		0,16		0,41	
CASP3 -15G>T									
GG+GT*	60	17,92 ± 16,45	17,33 ± 15,20	16,00 ± 17,68	16,67 ± 17,07	14,50 ± 17,94	16,42 ± 17,32	15,75 ± 19,11	23,33 ± 21,66
TT	10	11,50 ± 63,69	13,00 ± 6,32	10,00 ± 5,27	11,50 ± 5,30	11,50 ± 9,73	12,00 ± 12,29	15,00 ± 11,06	24,00 ± 19,55
Valor de <i>P</i>		0,76		0,81		0,39		0,60	
GG*	25	17,60 ± 13,24	16,20 ± 8,69	15,80 ± 13,74	16,00 ± 11,90	15,00 ± 15,14	15,40 ± 10,70	17,80 ± 14,94	23,00 ± 18,71
GT+TT	45	16,67 ± 16,85	17,00 ± 16,73	14,78 ± 18,12	15,89 ± 17,97	13,56 ± 18,08	16,00 ± 19,35	14,44 ± 19,72	23,67 ± 22,72
Valor de <i>P</i>		0,75		0,71		0,60		0,38	

(DP) desvio padrão; (*) genótipo referência; (NA) diferença não avaliada. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em deciBELs (dBs). 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 dBs estão associados a redução da acuidade auditiva

Tabela 22. Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e os limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha direita, nas frequências 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	3kHz		4kHz		6kHz		8kHz	
		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
FASL C-844T									
CC+CT*	54	26,94 ± 24,33	43,70 ± 25,01	37,69 ± 25,45	55,56 ± 22,92	41,11 ± 26,13	64,17 ± 22,31	41,30 ± 28,12	64,72 ± 21,88
TT	16	21,56 ± 17,86	30,00 ± 21,98	30,00 ± 17,13	36,88 ± 23,44	30,00 ± 17,98	45,94 ± 24,10	28,13 ± 18,34	51,25 ± 20,70
Valor de P		0,10		0,04		0,28		0,84	
CC*	21	20,48 ± 13,12	41,43 ± 24,91	34,52 ± 17,17	53,81 ± 21,15	33,81 ± 16,95	59,05 ± 21,94	32,86 ± 22,67	61,90 ± 19,27
CT+TT	49	27,96 ± 25,92	40,20 ± 25,12	36,53 ± 26,42	50,20 ± 25,51	40,61 ± 27,44	60,41 ± 28,11	40,61 ± 28,11	61,53 ± 23,55
Valor de P		0,38		0,56		0,42		0,16	
FASG-1377A									
GG+GA*	65	13,00 ± 13,96	24,00 ± 18,51	19,00 ± 18,51	34,00 ± 23,29	24,00 ± 18,51	46,00 ± 31,70	30,00 ± 31,02	47,00 ± 36,50
AA	5	26,69 ± 23,34	41,85 ± 24,68	37,23 ± 23,90	52,62 ± 23,92	39,69 ± 25,01	61,08 ± 23,09	38,92 ± 26,48	62,77 ± 20,75
Valor de P		NA		NA		NA		NA	
GG*	49	20,95 ± 15,62	33,10 ± 21,48	30,00 ± 15,81	45,95 ± 22,67	35,95 ± 24,32	57,86 ± 25,56	39,29 ± 25,67	60,95 ± 25,67
GA+AA	21	27,76 ± 25,39	43,78 ± 25,75	38,47 ± 26,38	53,57 ± 24,69	39,69 ± 26,88	60,92 ± 23,82	37,86 ± 27,39	61,94 ± 20,84
Valor de P		0,61		0,77		0,78		0,79	

FAS A-670G									
AA+AG*	52	25,96 ± 24,11	40,10 ± 26,13	36,06 ± 25,17	50,77 ± 26,04	38,46 ± 25,87	59,81 ± 24,09	37,60 ± 27,68	61,25 ± 21,89
GG	18	25,00 ± 20,73	41,94 ± 21,73	35,56 ± 20,99	52,78 ± 18,87	38,89 ± 22,67	60,56 ± 22,27	40,28 ± 24,59	62,78 ± 22,43
Valor de <i>P</i>		0,42		0,35		0,51		0,67	
AA*	24	18,13 ± 14,36	33,54 ± 22,96	27,50 ± 14,60	44,79 ± 22,82	32,08 ± 21,05	53,54 ± 22,82	33,33 ± 20,47	57,50 ± 21,67
AG+GG	46	25,67 ± 25,68	44,24 ± 25,30	40,33 ± 26,65	54,67 ± 24,44	41,96 ± 26,17	63,37 ± 23,90	40,87 ± 29,27	63,80 ± 22,41
Valor de <i>P</i>		0,94		0,75		0,59		0,92	
CASP8 6N Ins/Del									
Ins/Ins+ Ins/Del*	68	25,29 ± 23,07	40,15 ± 25,11	35,66 ± 23,83	50,59 ± 24,18	38,24 ± 25,06	59,12 ± 23,55	37,57 ± 26,56	60,96 ± 22,01
Del/Del	02	40,00 ± 21,21	55,00 ± 7,07	45,00 ± 35,36	75,00 ± 7,07	50,00 ± 14,14	90,00 ± 14,14	62,50 ± 24,75	85, ± 21,21
Valor de <i>P</i>		NA		NA		NA		NA	
Ins/Ins+Ins/Del*	59	26,10 ± 24,02	42,20 ± 25,33	37,12 ± 24,66	52,71 ± 24,48	39,41 ± 26,08	60,25 ± 24,38	38,56 ± 27,37	61,95 ± 23,03
Del/Del	11	23,50 ± 17,17	40,00 ± 18,56	29,00 ± 17,61	50,50 ± 18,48	27,00 ± 19,47	58,50 ± 21,74	29,50 ± 23,74	50,50 ± 14,15
Valor de <i>P</i>		0,28		0,84		0,53		0,99	
CASP3 -15G>T									
GG+GT*	60	26,08 ± 23,94	40,67 ± 25,91	37,08 ± 24,74	51,42 ± 25,15	40,50 ± 25,24	60,25 ± 24,33	39,75 ± 27,03	62,17 ± 23,33
TT	10	23,50 ± 17,17	40,00 ± 18,56	29,00 ± 17,61	50,50 ± 18,48	27,00 ± 19,47	58,50 ± 21,74	29,50 ± 23,74	50,50 ± 14,15
Valor de <i>P</i>		0,88		0,41		0,23		0,64	
GG*	25	29,40 ± 22,00	38,20 ± 23,40	38,60 ± 24,13	46,60 ± 22,25	39,00 ± 21,36	56,00 ± 22,64	38,20 ± 24,91	55,80 ± 23,17
GT+TT	45	23,67 ± 23,53	41,89 ± 25,83	34,44 ± 23,94	53,89 ± 25,07	38,33 ± 26,80	62,22 ± 24,44	38,33 ± 27,88	64,89 ± 21,23
Valor de <i>P</i>		0,10		0,15		0,47		0,34	

(DP) desvio padrão; (*) genótipo referência; (NA) diferença não avaliada. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em decibELLS (dBs).

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 dBs estão associados a redução da acuidade auditiva

Tabela 23. Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e os limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 0,25, 0,50, 1 e 2 kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	0,25kHz		0,50kHz		1kHz		2kHz	
		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
FASL C-844T									
CC+CT*	54	15,00 ± 8,56	18,33 ± 17,10	15,09 ± 14,97	17,31 ± 18,63	14,44 ± 14,94	17,31 ± 18,63	16,11 ± 14,76	26,11 ± 21,95
TT	16	12,81 ± 7,56	14,38 ± 5,74	12,81 ± 7,30	16,56 ± 7,69	12,19 ± 9,99	15,63 ± 9,64	12,81 ± 10,16	24,06 ± 23,40
Valor de P		0,80		0,70		0,21		0,80	
CC*	21	15,48 ± 11,17	17,86 ± 14,63	13,10 ± 10,16	16,19 ± 14,99	8,81 ± 7,23	12,86 ± 11,35	16,48 ± 14,65	26,62 ± 22,23
CT+TT	49	14,69 ± 13,28	17,65 ± 15,58	14,90 ± 14,12	18,27 ± 16,91	14,49 ± 14,87	17,65 ± 18,68	17,04 ± 15,41	27,24 ± 23,76
Valor de P		0,70		0,77		0,96		0,56	
FAS G-1377A									
GG+GA*	65	13,00 ± 18,91	18,00 ± 14,83	16,00 ± 16,36	14,00 ± 15,57	12,37 ± 13,04	9,00 ± 12,45	11,00 ± 13,87	15,00 ± 20,00
AA	5	14,62 ± 12,12	17,38 ± 15,46	14,46 ± 13,50	17,38 ± 16,89	14,08 ± 14,08	17,54 ± 17,99	15,69 ± 13,89	26,46 ± 22,39
Valor de P		NA		NA		NA		NA	
GG*	49	13,57 ± 12,26	15,48 ± 9,21	14,05 ± 13,47	17,38 ± 12,41	12,14 ± 9,43	16,67 ± 10,65	13,33 ± 9,92	25,71 ± 18,39
GA+AA	21	14,90 ± 12,81	18,27 ± 17,31	14,80 ± 13,77	17,04 ± 18,37	14,69 ± 15,49	17,04 ± 20,10	16,22 ± 15,23	25,61 ± 23,73
Valor de P		0,55		0,55		0,07		0,14	

FAS A-670G									
AA+AG*	52	15,38 ± 13,64	17,40 ± 16,01	14,81 ± 14,14	15,96 ± 16,57	14,01 ± 15,08	16,35 ± 18,45	15,67 ± 14,89	24,62 ± 22,88
GG	18	11,94 ± 8,83	17,50 ± 13,93	13,89 ± 12,53	20,56 ± 17,46	13,61 ± 10,34	18,61 ± 15,90	14,44 ± 10,61	28,61 ± 20,19
Valor de <i>P</i>		0,39		0,39		0,66		0,22	
AA*	24	13,54 ± 7,44	13,33 ± 5,65	12,50 ± 8,34	11,88 ± 7,49	12,08 ± 7,79	13,54 ± 11,47	13,96 ± 9,89	20,00 ± 19,73
AG+GG	46	15,00 ± 14,61	19,57 ± 18,16	15,65 ± 15,62	19,89 ± 19,42	14,89 ± 16,24	18,70 ± 20,12	16,09 ± 22,94	28,59 ± 22,94
Valor de <i>P</i>		0,23		0,23		0,29		0,03	
CASP8 6N Ins/Del									
Ins/Ins+Ins/Del*	68	14,12 ± 12,49	17,43 ± 15,54	14,19 ± 13,43	17,06 ± 16,87	13,60 ± 14,01	16,84 ± 17,95	15,00 ± 13,88	25,22 ± 22,17
Del/Del	2	13,28 ± 10,61	17,50 ± 3,54	27,50 ± 17,68	20,00 ± 14,14	25,00 ± 0,0	20,00 ± 7,07	27,50 ± 3,54	40,00 ± 21,21
Valor de <i>P</i>		NA		NA		NA		NA	
Ins/Ins*	59	13,28 ± 10,63	16,21 ± 15,10	14,48 ± 12,05	16,90 ± 15,83	12,76 ± 10,40	16,21 ± 17,25	15,17 ± 10,22	24,48 ± 21,60
Ins/Del+ Del/Del	11	15,37 ± 13,85	18,29 ± 15,60	14,63 ± 14,72	17,32 ± 17,50	14,76 ± 16,04	17,44 ± 18,24	15,49 ± 16,04	26,46 ± 22,73
Valor de <i>P</i>		0,99		0,99		0,92		0,76	
CASP3 -15G>T									
GG+GT*	60	14,75 ± 13,08	17,97 ± 16,38	14,75 ± 13,97	17,46 ± 17,30	14,24 ± 14,70	17,63 ± 18,92	15,34 ± 14,59	26,27 ± 23,41
TT	10	13,18 ± 9,82	14,55 ± 7,23	13,64 ± 11,85	15,45 ± 13,68	12,27 ± 9,05	13,18 ± 8,459	15,45 ± 9,34	22,27 ± 13,67
Valor de <i>P</i>		0,64		0,64		0,67		0,77	
GG*	25	15,08 ± 13,32	18,08 ± 16,26	15,08 ± 14,48	18,00 ± 17,74	14,50 ± 14,49	17,33 ± 18,17	15,42 ± 14,18	25,75 ± 22,51
GT+TT	45	11,00 ± 5,68	13,50 ± 6,69	11,50 ± 5,30	12,00 ± 6,67	10,50 ± 9,85	14,50 ± 15,36	15,00 ± 12,25	25,00 ± 20,87
Valor de <i>P</i>		0,94		0,94		0,30		0,74	

(DP) desvio padrão; (*) genótipo referência; (NA) diferença não avaliada. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em decibells (dBs).

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 dBs estão associados a redução da acuidade auditiva

Tabela 24. Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e os limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 3, 4, 6 e 8kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	3kHz		4kHz		6kHz		8kHz	
		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
FASL C-844T									
CC+CT*	54	25,37 ± 17,93	43,70 ± 22,82	35,93 ± 20,07	55,09 ± 22,79	40,46 ± 22,56	65,83 ± 23,12	38,33 ± 26,92	66,11 ± 20,96
TT	16	20,31 ± 14,43	37,81 ± 30,38	29,06 ± 13,93	45,94 ± 26,15	31,88 ± 16,92	52,19 ± 28,98	30,31 ± 21,09	52,19 ± 26,01
Valor de <i>P</i>		0,66		0,66		0,41		0,35	
CC*	21	25,65 ± 17,74	40,85 ± 25,27	36,49 ± 19,22	51,81 ± 23,60	40,32 ± 22,61	59,79 ± 25,60	37,45 ± 26,70	61,91 ± 23,63
CT+TT	49	25,61 ± 18,92	43,37 ± 26,35	34,59 ± 19,81	52,65 ± 24,88	40,82 ± 23,35	64,39 ± 26,09	39,80 ± 26,85	53,31 ± 39,28
Valor de <i>P</i>		0,71		0,53		0,37		0,10	
FAS G-1377A									
GG+GA*	65	20,00 ± 18,37	29,00 ± 25,84	21,00 ± 8,22	36,00 ± 18,17	30,00 ± 16,58	50,00 ± 36,57	23,00 ± 27,06	46,00 ± 40,84
AA	5	24,54 ± 17,25	43,38 ± 24,45	35,38 ± 19,21	54,31 ± 23,70	39,15 ± 21,89	37,54 ± 25,60	37,54 ± 25,60	64,23 ± 20,77
Valor de <i>P</i>		NA		NA		NA		NA	
GG*	49	21,90 ± 12,30	45,69 ± 23,40	36,67 ± 18,63	56,39 ± 22,35	40,42 ± 23,25	64,86 ± 22,50	39,86 ± 27,58	65,28 ± 20,97
GA+AA	21	21,62 ± 16,50	56,43 ± 32,24	30,00 ± 13,54	67,14 ± 24,81	35,71 ± 18,80	77,14 ± 27,21	35,00 ± 29,72	75,00 ± 18,93
Valor de <i>P</i>		0,66		0,18		0,73		0,73	

FAS A-670G									
AA+AG*	52	24,90 ± 18,72	39,23 ± 24,12	35,19 ± 20,89	50,58 ± 24,00	38,17 ± 22,90	60,67 ± 24,01	35,87 ± 26,45	62,12 ± 22,80
GG	18	22,22 ± 11,66	51,39 ± 22,22	31,94 ± 12,38	60,00 ± 22,38	39,44 ± 18,33	68,61 ± 27,84	38,33 ± 24,40	65,28 ± 20,92
Valor de <i>P</i>		0,009		0,01		0,22		0,56	
AA*	24	20,63 ± 15,34	32,71 ± 23,31	28,96 ± 17,00	42,29 ± 20,38	32,08 ± 17,13	53,33 ± 22,30	31,25 ± 27,75	54,38 ± 20,66
AG+GG	46	26,09 ± 18,01	47,39 ± 24,03	37,17 ± 19,51	58,59 ± 23,61	41,85 ± 23,05	67,61 ± 25,20	39,24 ± 27,28	67,39 ± 22,77
Valor de <i>P</i>		0,09		0,68		0,68		0,25	
CASP8 6N Ins/Del									
Ins/Ins+ Ins/Del*	68	24,04 ± 17,37	42,50 ± 24,81	34,26 ± 18,85	53,09 ± 23,93	38,31 ± 21,73	62,50 ± 25,36	36,18 ± 25,92	62,65 ± 23,06
Del/Del	2	30,00 ± 14,14	37,50 ± 24,75	37,50 ± 31,82	50,00 ± 21,21	45,00 ± 21,21	70,00 ± 7,07	47,50 ± 24,75	72,50 ± 3,54
Valor de <i>P</i>		NA		NA		NA		NA	
Ins/Ins*	59	24,66 ± 16,31	39,14 ± 24,61	32,41 ± 18,55	48,79 ± 23,44	34,66 ± 19,77	60,52 ± 26,90	32,07 ± 24,07	60,34 ± 25,00
Ins/Del+ Del/Del	11	23,90 ± 18,05	44,63 ± 24,71	35,73 ± 19,38	55,98 ± 23,75	41,22 ± 22,63	64,27 ± 23,84	39,63 ± 26,77	64,76 ± 21,21
Valor de <i>P</i>		0,18		0,37		0,76		0,25	
CASP3-15G>T									
GG+GT*	60	24,15 ± 17,96	43,73 ± 25,04	34,15 ± 19,14	53,47 ± 24,16	38,64 ± 22,42	62,71 ± 25,75	36,61 ± 26,66	62,37 ± 23,91
TT	10	24,55 ± 13,31	35,00 ± 21,91	35,45 ± 18,90	50,45 ± 22,07	37,73 ± 17,37	62,73 ± 21,84	35,91 ± 21,54	65,91 ± 15,94
Valor de <i>P</i>		0,37		0,62		0,66		0,48	
GG*	25	23,83 ± 17,38	42,67 ± 25,39	34,58 ± 19,23	54,00 ± 24,00	39,50 ± 22,16	63,58 ± 25,96	38,00 ± 26,36	63,67 ± 24,14
GT+TT	45	26,50 ± 17,00	40,50 ± 20,61	33,00 ± 18,29	47,00 ± 22,14	32,50 ± 17,52	57,50 ± 18,75	25,50 ± 19,64	58,50 ± 11,56
Valor de <i>P</i>		0,64		0,64		0,36		0,30	

(DP) desvio padrão; (*) genótipo referência; (NA) diferença não avaliada. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em decibells (dBs).

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 dBs estão associados a redução da acuidade auditiva

Tabela 25. Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e graus de ototoxicidade após o tratamento com cisplatina e radioterapia

Variáveis	Ototoxicidade					
	G0	G1+G2+G3+G4	G0+G1	G2+G3 +G4	G0+G1+G2	G3+G4
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
FASL C-844T						
CC+CT*	14 (25,9)	40 (74,1)	27 (50,0)	27 (50,0)	36 (66,6)	18 (33,4)
TT	5 (31,3)	11 (68,7)	9 (56,3)	7 (43,7)	12 (75,0)	4 (25,0)
Valor de <i>P</i>	0,63		0,96		0,51	
OR (IC 95%)	1,39 (0,37-5,20)		1,03 (0,31-3,48)		1,56 (0,41-5,91)	
CC*	3 (14,3)	18 (85,7)	11 (52,4)	10 (47,6)	15 (71,4)	6 (28,6)
CT+TT	16 (32,7)	33 (67,3)	25 (51,0)	24 (49,0)	33 (67,3)	16 (32,7)
Valor de <i>P</i>	0,16		0,81		0,58	
OR (IC 95%)	2,69 (0,67-10,82)		1,15 (0,38-3,44)		1,39 (0,44-4,45)	
FAS G-1377^a						
GG+GA*	17 (26,2)	48 (73,8)	33 (60,0)	32 (40,0)	44 (67,7)	21 (32,3)
AA	2 (40,0)	3 (60,0)	3 (60,0)	2 (60,0)	4 (80,0)	1 (20,0)
Valor de <i>P</i>	0,50		0,62		0,62	
OR (IC 95%)	2,01 (0,26-15,51)		1,69 (0,22-13,12)		1,83 (0,17-19,45)	
GG*	14 (28,6)	35 (71,4)	27 (55,1)	22 (44,9)	33 (67,3)	16 (32,7)
GA+AA	5 (23,8)	16 (76,2)	9 (42,9)	12 (57,1)	15 (71,4)	6 (28,6)
Valor de <i>P</i>	0,61		0,24		0,81	
OR (IC 95%)	1,37 (0,40-4,74)		1,96 (0,64-6,01)		1,16 (0,36-3,75)	
FAS A-670G						
AA+AG	15 (28,8)	37 (71,2)	26 (50,0)	26 (50,0)	36 (69,2)	16 (30,8)

GG*	4 (22,2)	14 (77,8)	10 (55,5)	8 (44,5)	12 (66,7)	6 (33,3)
Valor de <i>P</i>	0,36		0,84		0,69	
OR (IC 95%)	1,89 (0,49-7,33)		1,12 (0,36-3,56)		1,28 (0,38-4,30)	
AA	8 (23,5)	26 (76,5)	13 (54,2)	11 (45,8)	17 (70,8)	7 (29,2)
AG+GG*	11 (30,6)	25 (69,4)	23 (50,0)	23 (50,0)	31 (67,4)	15 (32,6)
Valor de <i>P</i>	0,32		0,56		0,73	
OR (IC 95%)	1,78 (0,58-5,48)		1,38 (0,47-4,03)		1,21 (0,40-3,65)	
CASP8 6N ins/Del						
Ins/Ins+Ins/Del*	19 (27,9)	49 (72,1)	35 (51,5)	33 (48,5)	47 (69,1)	21 (30,9)
Del/Del	0 (0,0)	2 (100,0)	1 (50,0)	1 (50,0)	1 (50,0)	1 (50,0)
Valor de <i>P</i>	0,99		0,81		0,69	
OR (IC 95%)	NA		1,42 (0,08-24,87)		1,79 (0,10-31,42)	
Ins/Ins*	16 (27,1)	43 (84,3)	30 (50,9)	29 (49,1)	40 (67,8)	19 (32,2)
Ins/Del+Del/Del	3 (27,3)	8 (72,7)	6 (54,5)	5 (45,5)	8 (72,8)	3 (27,2)
Valor de <i>P</i>	0,86		0,86		0,83	
OR (IC 95%)	1,14 (0,26-5,09)		1,13 (0,29-4,39)		1,18 (0,27-5,12)	
CASP3 I -15G>T						
GG+GT*	16 (26,7)	44 (73,3)	30 (50,0)	30 (50,0)	40 (66,7)	20 (33,3)
TT	3 (15,8)	7 (73,3)	6 (60,0)	4 (40,0)	8 (80,0)	2 (20,0)
Valor de <i>P</i>	0,72		0,38		0,34	
OR (IC 95%)	1,33 (0,28-6,20)		2,00 (0,42-9,47)		2,31 (0,42-12,92)	
GG	7 (28,0)	18 (72,0)	13 (86,7)	12 (13,3)	18 (72,0)	7 (28,0)
GT+TT*	12 (26,7)	33 (73,3)	23 (41,9)	22 (58,1)	30 (66,7)	15 (33,3)
Valor de <i>P</i>	0,89		0,81		0,87	
OR (IC 95%)	1,08 (0,34-3,45)		1,14 (0,39-3,34)		1,10 (0,36-3,37)	

(G0) 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) devido a falta de audiometrias

Menor perda de acuidade auditiva (menores limiares auditivos) após terapêutica com CDDP e RT foi observada em pacientes com o genótipo -844TT do polimorfismo *FASL* C-844T, em orelha direita, na frequência 4 kHz, comparados a pacientes com o genótipo CC ou o genótipo CT ($30,00 \pm 17,13$ para $36,88 \pm 23,44$ *versus* $37,69 \pm 25,45$ para $55,56 \pm 22,92$; $P= 0,04$).

Maior perda da acuidade auditiva (maiores limiares auditivos), após terapêutica com CDDP e RT, foi observada em pacientes com o genótipo -670AG ou o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G, em orelha esquerda, na frequência 2 kHz, comparados a pacientes com o genótipo -670AA ($16,09 \pm 22,94$ para $28,59 \pm 22,94$ *versus* $13,96 \pm 9,89$ $20,00 \pm 19,73$; $P= 0,03$).

Maior perda da acuidade auditiva (maiores limiares auditivos), após terapêutica com CDDP e RT, foi observada em pacientes com o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G, em orelha esquerda, na frequência 3 kHz, comparados a pacientes com o genótipo -670AA ou o genótipo -670AG ($22,22 \pm 11,66$ para $51,39 \pm 22,22$ *versus* $24,90 \pm 18,72$ para $39,28 \pm 24,12$; $P= 0,009$).

Maior perda da acuidade auditiva (maiores limiares auditivos), após terapêutica com CDDP e RT, foi observada em pacientes com o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G, em orelha esquerda, na frequência 4 kHz, comparados a pacientes com o genótipo -670AA ou o genótipo -670AG ($31,94 \pm 12,38$ para $60,00 \pm 22,38$ *versus* $35,19 \pm 20,89$ para $50,58 \pm 24,00$; $P= 0,01$).

Variações similares de acuidade auditiva foram observadas em pacientes com CCECP com os genótipos distintos dos polimorfismos *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T após terapêutica com CDDP e RT.

Frequências similares dos genótipos distintos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observadas em pacientes com CCECP estratificados por graus de ototoxicidade.

6.3. Nefrotoxicidade

Observamos redução das médias $\pm$ DP dos valores de ClCr ($91,1 \pm 27,9$ *versus* $83,4 \pm 20,0$) e de TFG com EDTA-⁵¹Cr ($78,7 \pm 24,2$ *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 ClCr em 20 pacientes (casos 1, 6, 9, 23, 29, 40, 46, 48, 50, 64, 78, 93, 98, 106, 125, 130, 132, 140, 143 e 145) e TFG com EDTA-⁵¹Cr em 21 pacientes (casos 1, 6, 9, 23, 29, 40, 46, 48, 50, 64, 78, 93, 98, 106, 108, 125, 130, 132, 140, 143 e 145), pois

alguns evoluíram para o óbito (n= 11), e outros não realizaram o exame (n= 9 para ClCre e n= 10 para TFG com EDTA-⁵¹Cr).

As distribuições dos 70 e 69 pacientes de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6NIns/Del e *CASP3* IVS1-15G>T e os valores de ClCre e TFG com EDTA-⁵¹Cr, medidos antes e após o tratamento com CDDP associado a RT, estão apresentadas na **Tabela 26**.

Tabela 26. Distribuições dos 70 e 69 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1-15G>T e os valores de ClCre e TFG com EDTA-⁵¹Cr, 928G e valores de clearance de creatinina estimado e filtração glomerular, respectivamente, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	ClCre (mL/min/1,73 m²)		TFG com EDTA- ⁵¹ Cr (mL/min/1,73 m²)	
		Pré tratamento	Pós tratamento	Pré tratamento	Pós tratamento
		Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
FASL C-844T					
CC+CT*	55/54	91,67 ± 28,09	77,31 ± 24,11	83,13 ± 19,82	63,75 ± 21,24
TT	15/15	88,68 ± 28,13	84,02 ± 24,82	84,70 ± 21,47	65,80 ± 20,14
Valor de <i>P</i>			0,16		0,78
CC*	19/18	82,83 ± 22,20	76,69 ± 22,84	77,77 ± 20,02	60,77 ± 19,75
CT+TT	51/51	94,09 ± 29,38	79,51 ± 24,91	85,48 ± 19,85	65,41 ± 21,32
Valor de <i>P</i>			0,26		0,57
FAS G-1377					
GG+GA*	64/63	87,40 ± 18,17	81,02 ± 26,54	80,70 ± 21,15	72,00 ± 32,07
AA	6/6	91,45 ± 28,81	78,67 ± 24,45	84,11 ± 19,50	63,73 ± 20,13
Valor de <i>P</i>			NA		NA
GG*	48/47	93,91 ± 36,09	80,95 ± 23,30	79,12 ± 21,89	63,55 ± 21,74
GA+AA	22/22	89,71 ± 23,59	77,74 ± 24,83	85,51 ± 19,01	64,50 ± 20,69
Valor de <i>P</i>			0,66		0,30
FAS A-670G					
AA+AG*	53/53	93,19 ± 26,62	78,83 ± 21,43	83,34 ± 19,36	64,41 ± 19,28
GG	17/16	84,30 ± 31,65	78,48 ± 32,87	83,90 ± 21,55	63,49 ± 26,18
Valor de <i>P</i>			0,19		0,65
AA*	22/22	92,35 ± 24,83	82,02 ± 22,54	86,91 ± 20,84	65,21 ± 18,37
AG+GG	48/47	90,43 ± 29,45	77,25 ± 25,06	81,86 ± 19,67	63,73 ± 22,13
Valor de <i>P</i>			0,50		0,69
CASP8 6NIns/Del					
Ins/Ins+ Ins/Del	69/68	91,38 ± 27,97	78,84 ± 24,40	83,91 ± 19,84	64,08 ± 21,01
Del/Del*	1/1	66,90 ± 0,00	71,90 ± 0,0	53,50 ± 0,00	72,00 ± 0,0
Valor de <i>P</i>			NA		NA
Ins/Ins*	12/11	89,59 ± 25,83	78,29 ± 24,87	83,23 ± 19,56	63,46 ± 20,51
Ins/Del+ Del/Del	58/58	98,02 ± 36,96	80,93 ± 21,77	84,60 ± 23,04	67,71 ± 23,71
Valor de <i>P</i>			0,70		0,56

CASP3 -15G>T					
GG+GT*	60/59	88,52 ± 26,84	75,96 ± 22,54	82,28 ± 20,66	63,67 ± 19,93
TT	10/10	106,12 ± 30,94	95,46 ± 28,49	90,48 ± 14,80	67,30 ± 26,83
Valor de <i>P</i>		0,48		0,66	
GG*	26/26	92,55 ± 31,91	76,04 ± 19,83	81,16 ± 22,04	62,05 ± 18,84
GT+TT	44/43	90,13 ± 25,63	80,35 ± 26,59	84,87 ± 18,85	65,50 ± 22,13
Valor de <i>P</i>		0,68		0,63	

(ClCr) 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 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 ClCr estimado e/ou a TFG com EDTA-51Cr, respectivamente, ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia

Valores similares de ClCr e TFG com EDTA-⁵¹Cr, medidos antes e após o tratamento com CDDP e RT, foram observados em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1-15G>T.

7. Quantificação da CDDP urinária

7.1. Padronização da técnica

A identificação dos picos de CDDP e PI derivatizados foram realizadas após adição dos respectivos padrões em urinas de voluntários sadios que não fizeram uso de CDDP. Estes picos estão demonstrados na **Figura 11**.

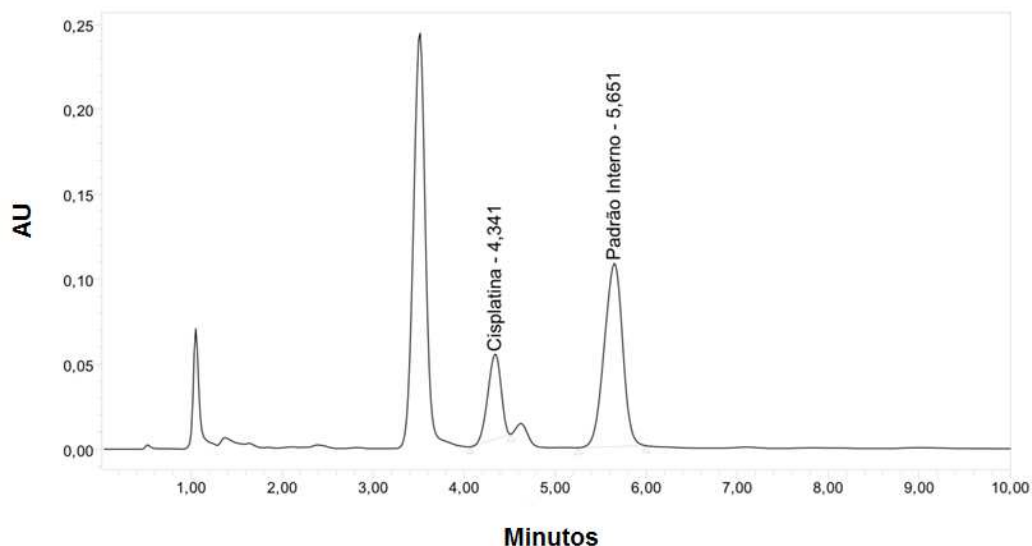


Figura 11. Cromatograma de urina adicionada de padrão de cisplatina (CDDP) e padrão interno (PI). O pico de CDDP apresenta tempo de retenção de aproximadamente 4,3 minutos e o pico de PI apresenta tempo de retenção em aproximadamente 5,6 minutos

Os picos apresentavam uma boa resolução e, portanto, puderam ser utilizados para análise quantitativa de CDDP na urina nos pacientes. Observa-se que o pico que antecede o pico de CDDP é do derivatizante dietilditiocarbamato, e que existe um pico de contaminação subsequente ao pico de CDDP, que também aparece na urina sem cisplatina, 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 (coeficiente de correlação) que foram utilizados para calcular as concentrações de CDDP na urina dos pacientes. Para construção da curva padrão todos

os testes foram realizados em duplicata gerando dois pontos em cada concentração, entretanto na maioria dos casos os resultados foram muito parecidos, por isso parece que temos apenas um ponto só em cada uma delas (**Figura 12**).

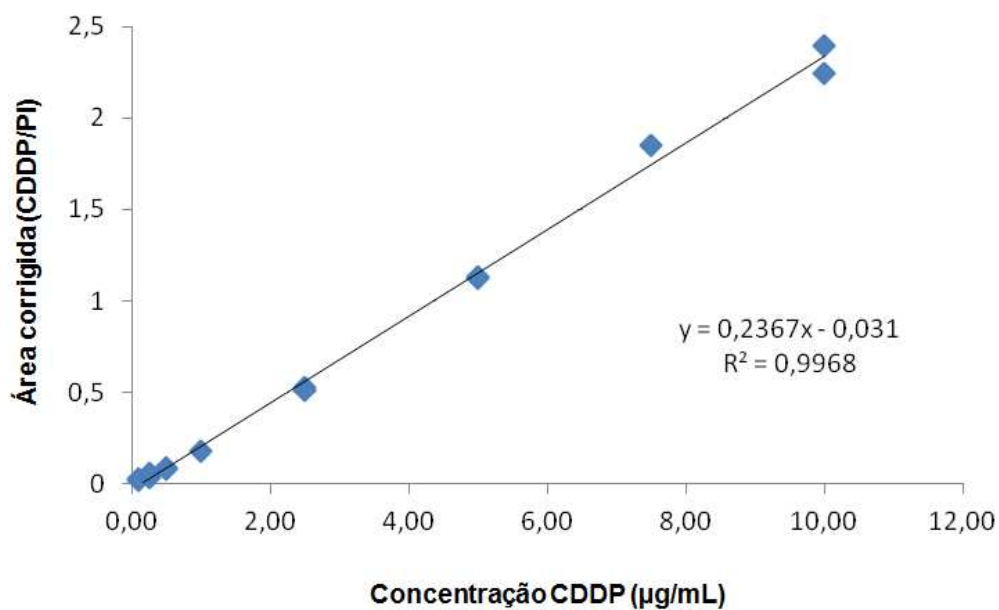
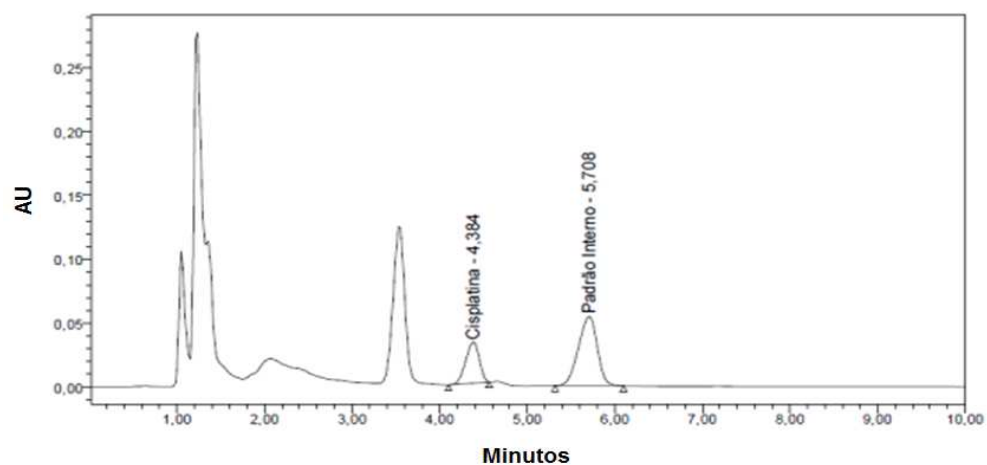


Figura 12. Apresentação gráfica da curva padrão desenvolvida, da equação da curva e do r^2

Após obtenção da curva padrão, as amostras dos pacientes foram processadas, integradas e quantificadas utilizando-se a curva padrão construída. Um exemplo de quantificação da urina de um paciente está representado pela **Figura 13**.



	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 13. Cromatograma e dados utilizados para quantificação da cisplatina (CDDP) na urina

7.2. 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 $237,0 \mu\text{g}/\text{mg} \pm 116,2$. 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. Identificamos erros na coleta de amostras no momento da entrega quando os pacientes relataram o esquecimento de coletar a urina em algum momento, terem misturado os frascos, terem invertido a ordem dos frascos de coleta, ou quando entregaram um baixo volume de urina.

As frequências das distribuições dos 58 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T e os valores de CDDP na urina, medidos durante o tratamento com CDDP e RT, estão apresentadas na **Tabela 27**.

Tabela 27. Distribuições dos 58 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1-15G>T e os valores de cisplatina urinária, medidos durante o tratamento com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	Cisplatina urinária (µg/mg)
		Média ± Desvio Padrão
FASL C-844T		
CC+CT	44	237,00 ± 116,30
TT*	14	240,40 ± 136,90
Valor de P		0,42
CC	26	222,80 ± 100,70
CT+TT*	40	243,40 ± 123,30
Valor de P		0,22
FAS G-1377A		
GG+GA	53	241,50 ± 115,20
AA*	5	188,90 ± 129,70
Valor de P		NA
GG	41	246,10 ± 115,50
GA+AA*	17	215,00 ± 118,60
Valor de P		0,51
FAS A-670G		
AA+AG	40	239,00 ± 114,80
GG*	18	232,50 ± 122,60
Valor de P		0,51
AA	20	258,50 ± 99,90
AG+GG*	38	225,70 ± 123,70
Valor de P		0,17
CASP8 -652 6N Ins/Del		
Ins/Ins+Ins/Del	57	237,60 ± 117,20
Del/Del*	0	200,30 ± 0,00
Valor de P		NA
Ins/Ins	48	237,50 ± 112,60
Ins/Del+Del/Del*	9	234,50 ± 139,30

Valor de <i>P</i>		0,80
<i>CASP3 IVS1-15G>T</i>		
GG+GT	52	231,10 ± 109,50
TT*	6	288,40 ± 167,90
Valor de <i>P</i>		0,31
GG	21	226,80 ± 108,70
GT+TT*	37	242,80 ± 121,40
Valor de <i>P</i>		0,63

(*) genótipo referência; (NA) não avaliado. Valores ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada 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 com CDDP e RT, foram observados em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6NIns/Del e *CASP3* IVS1-15G>T

8. Resumo dos resultados

As associações dos polimorfismos *FASL* C-844T e *FAS* A-670G com toxicidades atribuídas à CDDP associada à RT no tratamento de nossos pacientes com CCECP estão apresentadas na **Tabela 28**.

Tabela 28. Associações dos polimorfismos *FASL* C-844T e *FAS* A-670G com toxicidades atribuídas à cisplatina associada à radioterapia em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço

Genótipos (número de referência)	Resumo dos resultados
<i>FASL</i> C-844T (rs763110)	
TT	Maior frequência de anemia dos graus 2, 3 ou 4 Menor perda da acuidade auditiva em orelha direita na frequênciasde 2kHz
<i>FAS</i> A-670G (rs1800682)	
GG	Menor frequência de náuseas dos graus 2 ou 3 Maior frequência de anemia dos graus 2, 3 ou 4 Maior frequência de linfopenia dos graus 3 ou 4 Maior perda da acuidade auditiva nas frequências de 3 e 4kHz em orelha esquerda
AG+GG	Menor frequência de leucopenia dos graus 3 ou 4 Menor frequência de linfopenia dos graus 3 ou 4 Maior perda da acuidade auditiva na frequência de 2kHz em orelha esquerda

Discussão

Avaliamos neste estudo os papéis dos polimorfismos dos genes *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T, relacionados a apoptose pela via extrínseca, na taxa de resposta e toxicidade ao esquema terapêutico de CDDP associada à RT em pacientes com CCECP. Os papéis dos referidos polimorfismos foram também avaliados na excreção urinária do fármaco.

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 resposta e toxicidade do esquema terapêutico nesses pacientes.

Optamos por dividir a discussão em tópicos para facilitar a leitura do texto, particularmente por alunos de graduação e pós-graduação que venham a consultar o nosso trabalho. Esperamos atingir o nosso propósito.

1. Aspectos clínicos e do tumor

Ao observarmos as distribuições dos nossos pacientes por idade, sexo e raça, verificamos que metade deles tinha idade maior que 56 anos e que maioria deles era do sexo masculino e caucasóides, de forma semelhante às 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 também 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). De fato, o tabagismo e a exposição ao álcool atuam de forma sinérgica no risco de desenvolvimento ao CCECP (LAMBERT *et al.*, 2011) e 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 tumor.

A distribuição dos nosso pacientes por localização, grau de diferenciação e estágio do tumor mostrou predominância do tumor em faringe, particularmente em orofaringe, de tumor moderadamente diferenciado e do estágio IV. De acordo com estudos prévios, os CCECP mais prevalentes são aqueles moderadamente diferenciados e do estágio IV (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). Em contrapartida, a maior prevalência entre os CCECP é de cavidade oral e não de faringe (DÖBROSSY, 2005; ALVARENGA *et al.*, 2008; CASATI *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012; INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014). Os tumores de cavidade oral tem a ressecção cirúrgica como conduta terapêutica de primeira linha, podendo ser seguida da RT isolada ou da combinação de QT e RT. 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; e 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.

O HPV do tipo 16 não foi identificado em qualquer dos nossos casos, mas foi identificado em cerca de 25% de todos os CCECP em outros países (STELOW *et al.*, 2010; MENDENHALL *et al.*, 2011). A explicação para as diferenças da presença de HPV do tipo 16 em CCECP em pacientes de diversas partes do mundo não é clara. Acredita-se que a disparidade entre os resultados obtidos em estudos diversos possa ser atribuída a diferenças no comportamento sexual de indivíduos de diversas partes do mundo, principalmente na prática do sexo oral, que aumenta a exposição das mucosas da região da cabeça e pescoço à infecção pelo HPV do tipo 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 nossa amostra (quatro pacientes tinham idade menor ou igual a 40 anos), e nem nesses casos o HPV 16 pode ser identificado.

A imunohistoquímica com o anticorpo anti-p16 é uma técnica de triagem amplamente empregada para detecção do vírus HPV do subtipo 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. Cerca de 15-20% dos casos de tumores de orofaringe p16 positivos são de fato HPV16 negativos, com o uso técnicas mais sensíveis, como a hibridização *in situ* (SINGHI & WESTRA, 2010; ROBINSON *et al.*, 2012). A técnica hibridização *in situ* é considerada, no momento, a 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 (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) ou por imunohistoquímica e hibridização *in situ* (SINGHI & WESTRA, 2010; ROBINSON *et al.*, 2012). Nós investigamos a presença do HPV do tipo 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. Taxa de resposta ao tratamento

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 baixa 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), 22,7-79,1% e 24,0-40,9% na Índia (ASIF *et al.*, 2003; VIVEK *et al.*, 2006; MITRA 2011 *et al.*, 2011; DUTTA *et al.*, 2013), 60,0% e 23,0% no Egito

(RAAFAT *et al.*, 2012), 20,0-40,2% e 60,0% nos Estados Unidos (MORTIMER *et al.*, 1988; ADELSTEIN *et al.*, 2003; MARTINS *et al.*, 2013), 66,0% e 22,0%, 45,0% e 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 ou com QT baseada em CDDP. Assim, os resultados encontrados em nosso estudo são superponíveis a outros descritos em nosso país e em outros países.

Frequências similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observados em pacientes com CCECP estratificados por taxa de resposta ao tratamento. Até onde atinge o nosso conhecimento, não há dados na literatura que associaram os referidos polimorfismos gênicos com resposta terapêutica à terapêutica com CDDP e RT em pacientes com câncer.

Seria esperado que as respostas ao tratamento com CDDP e RT fosse alterada pelos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T, mas tais resultados não foram observados em nosso estudo. É possível que a magnitude do comprometimento da apoptose de células tumorais lesadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos não tenha sido suficiente para determinar diferenças mensuráveis de respostas ao tratamento na amostra avaliada. Embora número de pacientes próximo ao tamanho amostral desejado tenha sido inserido no estudo, 90 de 100 pacientes, apenas 72 pacientes puderam ter as respostas ao tratamento avaliadas. A amplitude dos intervalos de confiança obtidos em nossos resultados da associação dos referidos polimorfismos gênicos com resposta terapêutica (**Tabela 14**) sugere que estudos com casuísticas maiores são necessários para que se possa obter conclusões consistentes sobre este assunto.

3. Toxicidade ao esquema terapêutico

3.1. Náuseas e vômitos

Quando avaliamos os efeitos colaterais, observamos que cerca de 70% e 45% dos nossos pacientes apresentaram graus 1 ou 2 de náuseas e vômitos, respectivamente. Semelhante aos nossos achados, DE CASTRO *et al.* (2007) observaram náuseas e

vômitos dos graus 1 ou 2 em 47,0% e 57,0% dos pacientes com CCECP tratados com CDDP.

De fato, náuseas e vômitos são eventos comuns relacionados ao uso de quimioterápicos. A CDDP, em altas doses, tem grande poder emetogênico, sendo capaz de promover êmese em cerca de 90% dos pacientes que não façam uso de antieméticos, como metoclopramida, ondansetrona, dexametasona, tropisetrona, antagonista de neurocinina, metilprednisolona, entre outros (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. A CDDP causa danos nas células enterocromafins do intestino delgado, promovendo a liberação de serotonina. Este neurotransmissor ativa os receptores de serotonina, gerando um estímulo aferente que transmite o sinal para a zona de gatilho quimiorreceptora (CTZ) no centro do vômito, localizada no bulbo, próximo ao núcleo do trato solitário. Posteriormente, a via eferente é acionada gerando o reflexo do vômito. Outros neurotransmissores e seus receptores também estão envolvidos; a êmese aguda é estimulada principalmente por serotonina, mas a êmese tardia é desencadeada por dopamina, histamina, prostaglandina e substância P (HESKETH *et al.*, 2003). Além desse mecanismo principal, os radicais livres gerados pela CDDP, que determinam apoptose das células, também têm papel importante na etiologia de náuseas e vômitos induzidos pelo fármaco (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.*, 2003).

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-êemese 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 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 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 metoclopramida, dexametasona e ondansetrona, respectivamente. No presente estudo identificamos náuseas 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 de certa forma adequada.

Verificamos que os pacientes que apresentaram o genótipo *FAS* -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G, associado a menor apoptose por via extrínseca, apresentaram náuseas dos graus 2 ou 3 menos frequentemente do que os pacientes com o genótipo -670AG ou o genótipo AA. Pacientes com o genótipo *FAS* -670GG tiveram chance 0,30 vezes menor de apresentar náuseas do que os demais e, portanto, não necessitam de atenção especial na administração de antieméticos. Já os pacientes portadores do alelo A (genótipo AG ou genótipo AA) do polimorfismo *FAS* A-670G, associado a apoptose padrão, tiveram chance 3,29 vezes maior de apresentar náuseas intensas do que os pacientes com o genótipo -670GG.

Não foram encontrados na literatura relatos de estudos de associação do polimorfismo com episódios de náuseas. Entretanto, sabe-se que a CDDP induz náuseas e vômitos por apoptose em células entecromafins do intestino, com a consequente liberação de serotonina e estímulo do CTZ (SCHWÖRER *et al.*, 1991; HESKETH *et al.*, 2003; HESKETH, 2008). A apoptose de células lesadas pela CDDP, por via extrínseca, depende da proteína *FAS* (SIDDIK, 2003). O polimorfismo *FAS* A-670G é associado com produção variável da proteína *FAS* (SUN *et al.*, 2005; BEN ALEYA *et al.*, 2009; NUNOBIKI *et al.*, 2011). Assim, o alelo G, relacionado à menor produção da proteína, pode induzir menor apoptose de células entecromafins do intestino, menor liberação de serotonina e estímulo do CTZ e menor ocorrência de náuseas. Já o oposto seria esperado para portadores do alelo A do polimorfismo *FAS* A-670G.

Frequências similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observados em pacientes com CCECP estratificados por graus de náuseas e frequências similares dos polimorfismos *FASL* C-

844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observados em pacientes com CCECP estratificados por graus de vômitos. Como CDDP atua tanto em células tumorais como normais, seria esperado que os polimorfismos gênicos analisados em nosso estudo também alterassem os graus de náuseas e vômitos causada pelo fármaco. Entretanto, essas associações não foram observadas em nosso estudo. É possível que a magnitude do comprometimento da apoptose de células entecromafins do intestino lesadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos gênicos não tenha sido suficiente para determinar diferenças mensuráveis de náuseas e vômitos na amostra avaliada. Embora número de pacientes próximo ao tamanho amostral desejado tenha sido inserido no estudo, 84 de 100 pacientes, a amplitude dos intervalos de confiança obtidos em nossos resultados da associação dos referidos polimorfismos gênicos com graus de náuseas e vômitos (tabela 16) sugere que estudos com casuísticas maiores são necessários para que se possa obter conclusões consistentes sobre este assunto.

3.2. Mielossupressão

Observamos que cerca de 80%, 60%, 40%, 90% e 35% dos nossos pacientes apresentaram graus 1 ou 2 de anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia e plaquetopenia, respectivamente. Já DE CASTRO *et al.* (2007) verificaram que 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, apresentaram graus 1 ou 2 de anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia e plaquetopenia, respectivamente. Assim, aparentemente, maior mielossupressão foi observada em nossos casos.

É possível que estas diferenças de resultados entre estudos possam ser explicadas, ao menor em parte, por deficiência nutricional em nossos pacientes. A deficiência nutricional pode levar a uma série de alterações hematológicas, como leucopenia e hipoplasia medular, devido a carência de fatores obtidos na alimentação, como proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais, essenciais para a produção, diferenciação e maturação celular durante a hematopoiese (BORELLI *et al.*, 2004). De fato, metade de nossa casuística apresentou IMC insatisfatório (<18,5), o que indica graus variados de desnutrição (WORLD HEALTH ORGANISATION, 2003), estiveram presentes em nossos casos.

Mielossupressão também se mostra ser efeito comum após a aplicação de 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), sendo anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia e plaquetopenia os efeitos observados após aplicação de doses maiores que 50mg/m² (BC CANCER AGENCY CANCER DRUG MANUAL, 1994; DE CASTRO *et al.*, 2007; CHU *et al.*, 2013). Entretanto, a CDDP não está associada com a maioria dos casos de mielossupressão grave (RABIK & DOLA, 2007). Anemia associada ao uso de CDDP pode ser desencadeada por diversos mecanismos, como aplasia medular, deficiência de eritropoietina secundária a nefrotoxicidade e 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). A leucopenia e plaquetopenia estão relacionadas diretamente com aplasia medular (LINK, 2012).

Antineoplásicos como a CDDP afetam as células neoplásicas e normais de divisão rápida como as linhagens de células produzidas pela medula levando as células a apoptose (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014). No caso da anemia, a nefrotoxicidade causada por esse quimioterápico determina a redução de eritropoetina, inibindo assim a maturação de células de linhagem eritróide na medula óssea (ABELS *et al.*, 1996; HAYES, 2007). A CDDP gera também radicais livres (KASSE *et al.*, 2008), que levam a anemia por hemólise (GAO *et al.*, 2013).

Observamos que os pacientes com o genótipo *FASL* -844TT do polimorfismo *FASL* C-844T e o genótipo *FAS* -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G, relacionados com menor apoptose, apresentaram anemia dos graus 2, 3 ou 4 mais frequentemente do que os pacientes com os genótipos *FASL* -844CC ou *FASL* -844CT e *FAS* -670AA e *FAS* -670AG, respectivamente. Os pacientes com o genótipo *FASL* -844TT e o genótipo *FAS* -670GG tiveram riscos 3,87 e 4,88 vezes maiores de apresentar anemia moderada ou acentuada do que os demais, respectivamente. Estes resultados parecem de fato caracterizar pacientes da nossa amostra, uma vez que os intervalos de confiança obtidos nestas avaliações foram aceitáveis (**Tabela 18**).

Até onde atinge o nosso conhecimento, não há estudos sobre a avaliação da associação desses polimorfismos gênicos com anemia durante o tratamento com CDDP. A associação do genótipo *FAS* -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G com anemia foi descrita em pacientes com reumatismo (KOUBAK *et al.*, 2012), mas nenhuma explicação para tal associação foi aventada no estudo.

Sendo assim a explicação para estes resultados não é clara. Não parece resultar de apoptose de células precursoras da medula óssea pela via extrínseca, uma vez que o alelo T do polimorfismo *FASL* C-844T e o alelo G do polimorfismo *FAS* A-670G foram associados à menor apoptose de células lesadas pela CDDP (SUN *et al.*, 2005; BEN ALEYA *et al.*, 2009; NUNOBIKI *et al.*, 2011; de CARVALHO-NETO *et al.*, 2013). Foi observado que ratos com perda da função do gene *FASL* e do gene *FAS* apresentaram aumento mais lento de eritropoetina sérica após a aplicação de eritropoetina humana, e também do hematócrito, sugerindo que reduções das proteínas FAS e FASL podem de fato estar associadas a anemia (KOULNIS *et al.* 2011).

Frequências similares dos polimorfismos *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observados em pacientes com CCECP estratificados por graus de anemia em nosso estudo. É possível que a magnitude do comprometimento da apoptose em células da medula óssea lesadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos gênicos não foi suficiente para determinar diferenças de intensidades da anemia na amostra avaliada. Embora número de pacientes próximo ao tamanho amostral desejado tenha sido inserido no estudo, 84 de 100 pacientes, a amplitude dos intervalos de confiança obtidos em nossos resultados da associação dos referidos polimorfismos gênicos com graus de anemia (**Tabela 18**) sugere que estudos com casuísticas maiores são necessários para que se possa obter conclusões consistentes sobre este assunto.

Observamos que os pacientes com o genótipo -670AG ou o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* A-670G, associados a menor apoptose (SUN *et al.*, 2005; BEN ALEYA *et al.*, 2009; NUNOBIKI *et al.*, 2011), apresentaram menos leucopenia dos graus 3 ou 4 do que os pacientes com genótipo -670AA. Os pacientes portadores do alelo G (genótipo -670AG ou genótipo -670GG) tiveram risco 0,18 vezes menor de apresentar leucopenia acentuada durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -670AA. A leucopenia é resultado da aplasia medular, pois a CDDP como descrita anteriormente afetam as linhagens de células produzidas pela medula levando as células a apoptose (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014). Estudos demonstram também que a expressão de FAS aumentada pode causar destruição de linfócitos e neutrófilos (PAPADAKI & ELIOPOULOS, 2003; STRASSER, *et al.*; 2006). Assim, é possível que o nosso resultado possa ser explicado pela menor apoptose de células precursoras de leucócitos na medula óssea em nossos pacientes tratados com CDDP.

Foi também observado em nosso estudo que os pacientes com os genótipos -670AG ou GG e do polimorfismo *FAS* A-670G apresentaram linfopenia dos grau 3 ou 4 mais frequentemente do que os pacientes com o genótipo -670AA.

Os pacientes com os respectivos genótipos tiveram chance cerca de 3,5 vezes maior de apresentar linfopenia acentuada (grau 3 ou 4) durante terapêutica com CDDP e RT do que os pacientes com o genótipo -670AA. Novamente a explicação para este fato não é clara, uma vez que o alelo G do polimorfismo *FAS* A-670G foi associado a menor produção da proteína FAS (SUN *et al.*, 2005; BEN ALEYA *et al.*, 2009; NUNOBIKI *et al.*, 2011), e hipoteticamente, a menor apoptose de precursores linfóides lesados por CDDP na medula óssea, uma vez que a CDDP como descrita anteriormente afetam as linhagens de células produzidas pela medula, incluindo os linfócitos, levando essas células a apoptose (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014). Entretanto, este resultado parece de fato caracterizar a nossa amostra, uma vez que foi obtido em número consistente de pacientes com linfopenia acentuada e de avaliações com intervalo de confiança aceitável (**Tabela 18**). Foi descrito previamente que ratos com inativação do gene *FAS* apresentam diminuição do número de linfócitos T e B nos órgãos linfóides secundários (HAO *et al.*; 2004), sugerindo que a expressão de FAS por células T é necessária para a sobrevivência, proliferação e/ ou ativação dos linfócitos (PETTER, *et al.*; 2007). Assim, é possível que a redução de expressão da proteína FAS possa constituir explicação plausível para a maior linfopenia observada em nossos casos com os genótipos -670AG e o genótipo -670GG do polimorfismo *FAS* -670G em nossos casos.

Frequências similares dos genótipos dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1-15G>T foram observadas em pacientes estratificados por graus de leucopenia e linfopenia em nosso estudo. É possível que a magnitude do comprometimento da apoptose em células da medula óssea lesadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos gênicos não tenha sido suficiente para determinar diferenças de intensidades da leucopenia e linfopenia na amostra avaliada. Embora número de pacientes próximo ao tamanho amostral desejado tenha sido inserido no estudo, 84 de 100 pacientes, a amplitude dos intervalos de confiança obtidos em nossos resultados da associação dos referidos polimorfismos gênicos com graus de leucopenia e linfopenia (tabela 18) sugere que estudos com casuísticas maiores são necessários para que se possa obter conclusões consistentes sobre este assunto.

Frequências similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/ Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observadas também em pacientes estratificados por graus de neutropenia e plaquetopenia. Embora a CDDP como descrita anteriormente afetam as linhagens de células produzidas pela medula, levando essas células a apoptose (INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014). Seria esperado que os polimorfismos gênicos analisados em nosso estudo também alterassem os graus de neutropenia e plaquetopenia. Entretanto, essas associações não foram observadas. É possível que a magnitude do comprometimento da apoptose em células da medula óssea lesadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos gênicos não tenha sido suficiente para determinar diferenças de intensidades da neutropenia e plaquetopenia na amostra avaliada. Neste estudo. Embora número de pacientes próximo ao tamanho amostral desejado tenha sido inserido no estudo, 84 de 100 pacientes, a amplitude dos intervalos de confiança obtidos em nossos resultados da associação dos referidos polimorfismos gênicos com graus de neutropenia e plaquetopenia (**Tabela 18**) sugere que estudos com casuísticas maiores são necessários para que se possa obter conclusões consistentes sobre este assunto.

Até onde atinge o nosso conhecimento, não há estudos sobre a avaliação de associações dos referidos polimorfismos gênicos e leucopenia, neutropenia, linfopenia e plaquetopenia durante terapêutica com CDDP. Assim, apenas podemos sugerir que os genótipos *FAS* -670 AG ou GG atuam como protetor contra leucopenia acentuada mas determinam linfopenia acentuada em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT, respectivamente, e que os demais polimorfismos não alteram os graus de leucopenia, neutropenia e plaquetopenia. Novamente, é possível que a magnitude do comprometimento na apoptose das células causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos não tenha sido suficiente para determinar diferenças nos graus de mielossupressão do tratamento. É importante comentar que os resultados foram, em geral, obtidos de avaliações com intervalos de confiança amplos (**Tabela 18**), o que impõe a necessidade de estudos mais robustos para se obter conclusões consistentes sobre o assunto.

3.3. Ototoxicidade

Observamos que a maior parte dos nossos pacientes com CCECP apresentou redução dos limiares auditivos nas frequências 3, 4, 6 e 8kHz, em ambas as orelhas, após

terapêutica com CDDP e RT. Ototoxicidade de graus 1, 2 e 3 foram identificadas em nossa amostra.

A CDDP ocasiona 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), com consequente perda de acuidade auditiva. A formação de radicais livres (HUSAIN *et al.*, 2001), a ativação de vias de apoptose de células (HUANG *et al.*, 2002) e a inibição na transdução dos canais de cálcio (STENGES *et al.*, 1998), são mecanismos que acarretam a ototoxicidade mediada pelo fármaco. Ainda, a RT associada à CDDP tem efeito potencializador, causando maior aumento dos limiares auditivos tonais após o tratamento (DELL'ARINGA *et al.*, 2009).

A ototoxicidade de graus 1, 2 e 3 foi observada em cerca de 70% dos nossos pacientes que puderam ser avaliados após o terapêutica com CDDP e RT. De forma similar, deficiência auditiva, principalmente em frequências sonoras altas (2, 4, 6 e 8kHz) foi também observada em 45-65% dos pacientes com CCECP submetidos a tratamento com CDDP à associada RT em outros estudos (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 3kHz (BESS & HUMES, 1998; FROTA, 2003), sendo a de 3kHz 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, mas que se estende para frequências sonoras baixas (2 e 3kHz), as quais são importantes para a percepção da fala (BIRO *et al.*, 2006).

No presente estudo, observamos que indivíduos que apresentaram o genótipo *FASL* -844 TT do polimorfismo *FASL* C-844T apresentaram menor redução da acuidade auditiva em orelha direita, na frequência 4kHz, sugerindo que atue como protetor de

ototoxicidade em pacientes tratados com CDDP. Sabe-se que portadores do genótipo variante TT têm menor expressão da proteína FAS quando comparada aos demais genótipos (WU *et al.*, 2003; SUN *et al.*, 2005; de Carvalho-Neto *et al.*, 2013) e hipoteticamente menor apoptose de células ciliadas externas cocleares. Assim, este resultado era esperado em nosso estudo. Observamos que os genótipos *FASL* -844CC e o genótipo *FASL* -844CT foram associados a maior ototoxicidade em nosso estudo, e assim, os pacientes portadores desses genótipos parecem merecer terapêutica com otoprotetores, como 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) durante terapêutica com CDDP.

Observamos também que os pacientes portadores do alelo G do polimorfismo *FAS* A-670G (genótipo -670AG ou o -670GG) apresentaram maior perda da acuidade auditiva em orelha direita nas frequências 2k, 3 e 4 kHz. Até onde atinge o nosso conhecimento, não há estudos de associação do polimorfismo *FAS* A-670G na ocorrência de ototoxicidade em pacientes tratados com CDDP. A expressão de FAS foi associada a perda auditiva por ruídos em testes com chinchilas (JAMESDANIEL *et al.*, 2011). De fato, esperávamos que os referidos genótipos fossem associados a menor perda auditiva em nossos casos, uma vez que determinam menor expressão da proteína proapoptótica quando comparada aos demais genótipos (SUN *et al.*, 2005; BEN ALEYA *et al.*, 2009; NUNOBIKI *et al.*, 2011), mas resultados opostos foram obtidos em nosso estudo. A explicação para tal achado é incerta. Tal resultado o parece relevante uma vez que determina perdas auditivas em frequências sonoras que relacionadas com a compreensão da fala. É possível que pacientes com estes genótipos mereçam receber terapêutica com 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) durante terapêutica com CDDP.

Frequências similares dos genótipos dos polimorfismos *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observadas em pacientes estratificados por limiares auditivos em frequências sonoras diversas e graus diversos de ototoxicidade, sugerindo que não alterem a perda auditiva com a pacientes tratados com o fármaco. Até a presente data, desconhecemos estudos que envolvam estes polimorfismos, déficit auditivo e tratamento com CDDP e RT. Como CDDP atua tanto em células tumorais como normais, seria esperado que os polimorfismos gênicos analisados em nosso estudo também alterassem a ototoxicidade causada pelo fármaco. Novamente, é possível que a

magnitude do comprometimento na apoptose das células causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos polimorfismos *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T não tenha sido suficiente para determinar diferenças de ototoxicidade ao tratamento. Outra possibilidade é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar diferenças nos graus de ototoxicidade em pacientes com os genótipos distintos dos referidos polimorfismos gênicos.

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. Além disso, a CDDP induz a produção de fator de necrose tumoral, fato que desencadeia resposta inflamatória e contribui para lesão das células tubulares. Ainda, a CDDP também pode induzir lesão na vasculatura renal, resultando na diminuição do fluxo sanguíneo e lesão isquêmica dos rins. Juntos, estes eventos patológicos culminam na deficiência renal (PABLA & DONG, 2008).

No presente estudo, observamos que as médias de ClCr e da TFG com EDTA-⁵¹Cr dos nossos pacientes, pré e após o tratamento, foram de 91,1 e 78,7 mL/min/1,73m² e 83,4 e 64,2 mL/min/1,73m², respectivamente. Ou seja, o ClCr apontou uma redução de 13,6% e a TFG com EDTA-⁵¹Cr de 23,0%. 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-⁵¹Cr é considerada o método mais preciso para a avaliação efetiva da função renal, sendo provavelmente a maneira mais apropriada de avaliar, com precisão, variações da função renal antes e após o tratamento com CDDP, assim como já demonstrado em outras situações clínicas (BARROS *et al.*, 2006; HARTLEV *et al.*, 2012).

Médias similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T foram observadas em pacientes estratificados por ClCr e TFG com EDTA-⁵¹Cr medidos pré e após o tratamento. Desconhecemos estudos que envolvam estes polimorfismos e nefrotoxicidade após tratamento com CDDP em pacientes com câncer. Entretanto, estudos relatam que a inibição da ativação *FASL-FAS* e a diminuição na expressão de caspase está associada à uma menor nefrotoxicidade (IWAI *et al.*, 2004; KHAN *et al.*, 2013). Assim, era esperado

que os referidos polimorfismos alterassem a função renal de pacientes com CCECP tratados com CDDP.

4. Concentração de CDDP urinária

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).

A média de concentração de CDDP urinária (237,0µg/mg) no período de 0 a 48 horas após a infusão da CDDP, 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 52% da CDDP, é eliminada na urina nos 3 dias subsequentes a sua administração, embora a maior parte é excretada no primeiro dia.

Médias similares dos polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T 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.

Assim, nossos resultados sugerem que os referidos polimorfismos gênicos não alterem a nefrotoxicidade e a concentração urinária de CDDP. Novamente, é possível que a magnitude do comprometimento na apoptose das células causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos polimorfismos *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T não tenha sido suficiente para determinar diferenças de nefrotoxicidade ao tratamento. Outra possibilidade é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar diferenças nos graus de nefrotoxicidade em pacientes com os genótipos distintos dos referidos polimorfismos gênicos.

Acreditamos que os resultados do nosso estudo de farmacogenética possam contribuir para implementação de prescrição individualizada de quimioterápicos como parte de tratamento personalizado em pacientes com CCECP. A farmacogenética já tem importância na prescrição de pacientes com outros tumores, como os de mama. A resposta ao tamoxifeno em tumores de mama foi 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, atuante 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), o gene sendo *CYP2D6* o principal mediador para a produção destes metabólitos (DESTA *et al.*, 2004), que é altamente polimórfico (JIN *et al.*, 2005). Estudos indicam que a presença de polimorfismos nestes gene podem reduzir a metabolização do tamoxifeno, e assim, causar uma pior sobrevida após terapia hormonal (GOETZ *et al.*, 2005). E foi a partir destes achados que houve um grande incentivo para desenvolvimento de testes comerciais para genotipagem destes polimorfismos, embora não tenham ainda alcançado o manejo diário dessas pacientes.

Os resultados neste estudo são apenas preliminares, e sugerem que futuros estudos clínicos podem ser conduzidos com pacientes com os genótipos distintos de polimorfismos que atuam via extrínseca da apoptose, onde pacientes com genótipos que levam a maior mielossupressão, por exemplo, sejam tratados eventualmente com menores doses do fármaco, ou com medicamentos protetores contra mielossupressão, como a amifostina (PIERELLI *et al.*, 1998; KOUVARIUS *et al.*, 2007). A amifostina é um pró-fármaco considerado citoprotetor que é convertido pela fosfatase alcalina e um composto ativo após administrado (YUHAS, 1980; FOSTER-NORA and SIDEN, *et al.*, 1997). O mecanismo citoprotetor da amifostina é complicado, envolvendo a eliminação de radicais livres, proteção do DNA e aceleração de reparo (KOUVARIUS *et al.*, 2007) e também apresenta uma seletividade importante pelo tecido normal quando comparado ao tumor, protegendo as células não cancerosas contra os efeitos citotóxicos de fármacos (YUHAS, 1980; KOUVARIUS *et al.*, 2007). Desta forma acreditamos que de forma semelhante ao tamoxifeno, avaliação de polimorfismos gênicos relacionados a via estrínseca da apoptose poderá ser de grande valor para a personalização de terapias com CDDP para portadores de CCECP no futuro.

Conclusões

- Apenas os polimorfismos *FASL* C-844T e *FAS* A-670G alteram a toxicidade e acuidade auditiva de pacientes com CCECP tratados com RT associada a CDDP em nossa amostra.
- Os polimorfismos *FAS* G-1377A, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1-15G>T não alteram toxicidade e acuidade auditiva em nossa amostra .
- Os polimorfismos *FASL* C-844T, *FAS* G-1377A, *FAS* A-670G, *CASP8* -652 6N Ins/Del e *CASP3* IVS1 -15G>T não alteram as taxas de respostas, grau de ototoxicidade, nefrotoxicidade e a concentração de CDDP urinária em pacientes com CCECP tratados com CDDP associada à RT em nossa amostra.
- Acreditamos que nosso estudo possa servir de base preliminar para implementação de prescrição individualizada em tratamento de CCECP.

Referências Bibliográficas

1. 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.
2. ABEDIANKENARI, S.; SHOKRZADEH, M.; AMINJAN, H. H.; ALIZADEH, A. evaluation of caspase 3 and 9 gene polymorphism in gastric cancer patients in Mazandaran province: a brief report. *Tehran University Medical Journal* , 71:536:540, 2013.
3. 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.
4. AGGARWAL, S.; GOLLAPUDI, S. Increased TNF-alpha-induced apoptosis in lymphocytes from aged humans: changes in TNF-alpha receptor expression and activation of caspases. *The Journal of Immunology*, 162:2154-2161, 1999.
5. ALBES, R. I.; LARHOLT, K. M.; KRANTZ, K. D.; BRYANT, E. C. Recombinant Human Erythropoietin (rHuEPO) for the Treatment of the Anemia of Cancer. *The oncologist*, 1: 140-150, 1996.
6. ASHP Therapeutic Guidelines on the Pharmacologic Management of Nausea and Vomiting in Adult and Pediatric Patients Receiving Chemotherapy or Radiation Therapy or Undergoing Surgery. *Am J Health Syst Pharm*, 56(8):729-64, 1999.
7. ALVARENGA L. M.; RUIZ, M. T.; PAVARINO-BERTELLI, E. C.; RUBACK, M. J.; MANIGLIA, J. V.; GOLONI-BERTOLLO, M. Epidemiologic evaluation of head and neck patients in a university hospital of Northwestern São Paulo State. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 74(1): 68-73, 2008.
8. 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.
9. BANK, K.; HUTTER, E.; GONCHOROFF, N. J.; PERL, A. Molecular ordering in HIV-induced apoptosis. Oxidative stress, activation of caspases, and cell survival are regulated by transaldolase. *The Journal of Biologyc Chemistry*, 273: 11944-11953, 1998.
10. 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.

11. BADELL, M. L.; RAMIN, S. M.; SMITH, J. A. Treatment options for nausea and vomiting during pregnancy. *Pharmacotherapy*, 26(9):1273-1287, 2006.
12. BARROS, F. B.; LIMA, C. S.; SANTOS, A. O.; MAZO-RUIZ, M. F.; LIMA, M. C.; ETCHEBEHERE, E. C.; COSTA, F. F.; SAAD, S. T.; CAMARGO, E. E.; RAMOS, C. D. ⁵¹Cr-EDTA Measurements of the glomerular filtration rate in patients with sickle cell anemia and minor renal damage. *Nuclear Medicine Communications*, 27:959-962, 2006.
13. BC Cancer Agency Cancer Drug Manual©. Monografia da Cisplatina. Disponível em: http://www.bccancer.bc.ca/NR/rdonlyres/DCC88F7E-EDF8-4340-A63A-932144D9E282/64270/Cisplatin_monograph_1June2013_formatted.pdf. Acesso em: 16 de Junho de 2014.
14. 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.
15. BEIGUELMAN, B. Dinâmica dos genes nas famílias e populações. Ribeirão Preto: Brazilian Journal Genetic, 2:1-472, 1995. 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.
16. BEL HADJ JRAD B, MAHFOUTH W, BOUAOUINA N, GABBOUJ S, AHMED SB, LTAÏEF M, JALBOUT M, CHOUCANE L. A polymorphism in FAS gene promoter associated with increased risk of nasopharyngeal carcinoma and correlated with anti-nuclear autoantibodies induction. *Cancer Lett.* 233:21, 2006.
17. BEN ALEYA, W.; SFAR, I.; MOUELHI, L.; AOUADI, H.; MAKHLOUF, M.; AYED-JENDOUBI, S.; MATRI, S.; FILALI, A.; NAJJAR, T.; BEN ABDALLAH, T.; AYED, K.; GORGI, Y. Association of Fas/Apo1 gene promoter (-670 A/G) polymorphism in Tunisian patients with IBD. *World Journal of Gastroenterology*, 15:3643-3648, 2009.
18. 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.
19. 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.
20. 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.

21. BOKEMEYER, C.; BERGER, C. C.; HARTMANN, J. T.; KOLLMANNSSBERGER, 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.
22. 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.
23. 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.
24. BROCHNER-MORTENSEN, J.; GIESE, J.; ROSSING, N. Renal inulin clearance versus total plasma clearance of ⁵¹Cr-EDTA. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 23:301-305, 1969.
25. CARLES, J.; MONZO, M.; AMAT, M.; JANSÁ, 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.
26. 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.
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(4): 186-191, 2012.
28. CATUCCI, I.; VERDERIO, P.; PIZZAMIGLIO, S.; MANOUKIAN, S.; PEISSEL, B.; ZAFFARONI, D.; ROVERSI, G.; RIPAMONTI, C. B.; PASINI, B.; BARILE, M.; VIEL, A.; GIANNINI, G.; PAPI, L.; VARESCO, L.; MARTAYAN, A.; RIBONI, M.; VOLORIO, S.; RADICE, P.; PETERLONGO, P. The CASP8 rs3834129 polymorphism and breast cancer risk in BRCA1 mutation carriers. *Breast Cancer Research and Treatment*, 125:855-860, 2011.
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, 2008.
30. CHATTERJEE, K.; ENGELMARK, M.; GYLLENSTEN, U.; DANDARA, C.; MERWE, L.;

- GALAL, U.; HOFFMAN, M.; WILLIAMSON, A. L. Fas and FasL gene polymorphisms are not associated with cervical cancer but differ among Black and Mixed-ancestry South Africans. *BMC Research Notes*, 2:238, 2009.
31. CHATURVEDI A. K. Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. *Head and Neck Pathology*, 6 Suppl 1:S16-S24, 2012.
 32. CHEN, K.; ZHAO, H.; HU, Z.; WANG, L. E.; ZHANG, W.; STURGIS, E. M.; WEI, Q. CASP3 polymorphisms and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clinical Cancer Research*, 14:6343-9, 2008.
 33. CHOE, W. T.; CHINOSORN VATANA, N.; CHANG, K. W. Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. *Otology & Neurotology*, 25(6):910-915, 2004.
 34. 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 VT. *Physician's Cancer Chemotherapy Drug Manual 2013*. Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers, p.94-98, 2013.
 35. COCKCROFT, D. W.; GAULT, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron Journal*, 16:31-41, 1976.
 36. 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.; MCRAE, J. Optimum anti-emetic therapy for cisplatin induced emesis over repeat courses: Ondansetron plus dexamethasone compared with metoclopramide, dexamethasone plus lorazepam. *Annals of Oncology*, 7:277-282, 1996.
 37. CURADO, M. P.; HASHIBE, M. Recent changes in the epidemiology of head and neck cancer. *Current Opinion in Oncology*, 21: 194–200, 2009.
 38. de CARVALHO-NETO, P. B.; dos SANTOS, M.; de CARVALHO, M. B.; MERCANTE, A. M.; dos SANTOS, V. P.; SEVERINO, P.; TAJARA, E. P.; LOURO, I. D.; da SILVA-CONFORTI, A. M. FAS/FASL expression profile as a prognostic marker in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *PLoS One*, 8: e69024, 2013.
 39. DAVIS, H.; SILVERMAN, S. R. Auditory Test Hearing Aids. In: DAVIS, H.; SILVERMAN, S. R. *Hearing and Deafness*. 3 ed. Holt: Rinehart and Winston, p. 253-279, 1970.
 40. 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.

41. DE CASTRO, G. J.; 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.
42. DE CONTI, R. C.; TOFTNESS, B. R.; LANGE, R. C.; CREASEY, W. A. Clinical and pharmacological studies with cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Research*, 33:1310-1315, 1973.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. DÖBROSSY, L. Epidemiology of head and neck cancer: magnitude of the problem. *Cancer and Metastasis Reviews*, 24(1): 9-17, 2005.
47. 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.
48. 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.
49. EDGE, S. B.; BYRD, D. R.; COMPTON, C. C. editors. *American Joint Committee on Cancer: Cancer Staging Manual*. 7 ed. New York: Springer, 21-97, 2010.
50. 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.
51. 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*, 27:1463-1470, 2003.

52. 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.
53. 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.
54. 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.
55. 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.
56. FOULADI, M.; CHINTAGUMPALA, M.; ASHLEY, D.; KELLIE, S.; GURURANGAN, S.; HASSALL, T.; GRONEWOLD, L.; STEWART, C. F.; WALLACE, D.; BRONISER, 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.
57. 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.
58. FOSTER-NORA, J. A.; SIDEN, R. Amifostine for protection from antineoplastic drug toxicity. *American Journal of Health- System Pharmacy*, 54:787-800, 1997.
59. 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..
60. 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.
61. 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.
62. 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.

63. GENTLEMAN, R. C.; CAREY, V. J.; BATES, D. M.; BOLSTAD, B.; DETTLING, M.; DUDOIT, S.; ELLIS, B.; GAUTIER, L.; GE, Y.; GENTRY, J.; HORNIK, K.; HOTHORN, T.; HUBER, W.; LACUS, S.; IRIZARRY, R.; LEISCH, F.; LI, C.; MARCHLER, M.; ROSSINI, A. J.; SAWITZKI, G.; SMITH, C.; SMYTH, G.; TIERNEY, L.; YANG, J. Y.; ZHANG, J. Bioconductor: open software development for computational biology and bioinformatics. *Genome Biology*, 5:R80, 2004.
64. 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.
65. 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.
66. 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.
67. 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.
68. 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 Nonsmall Cell Lung Cancer. *Cancer*, 113:799-807, 2008.
69. 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*, 20:113-116, 2009.
70. HAO, Z.; HAMPEL, B.; YAGITA, H.; RAJEWSKY, K. T cell-specific ablation of Fas leads to Fas ligand-mediated lymphocyte depletion and inflammatory pulmonary fibrosis. *The Journal of Experimental Medicine*, 199:1355-1365, 2004.
71. HARRIS, J .D.; HAINES, H. L.; MYERS, C. K. The importance of hearing at 3kc understanding speed speech. *Laryngoscope*, 70:131-146, 1960.
72. 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.

73. HAYES, P. C.; BOUCHIER, I. A. D.; BECKETT, G. J. Glutathione S-transferase in humans in healthy and disease. *Gut*, 32:813-818, 1991.
74. HAYES, J. M. Chemotherapy-induced anemia: treating it as a disease, not just a condition. *Advanced Studies in Pharmacy*, 4:125-132, 2007.
75. HECHT, S. S. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3:733-744, 2003.
76. HENRIKSSON, E.; BALDETORP, B.; BORG, A.; KJELLEN, E.; AKERVALL, J.; WENNERBERG, J.; WAHLBERG, P. p53 mutation and cyclin D1 amplification correlate with cisplatin sensitivity in xenografted human squamous cell carcinomas from head and neck. *Acta Oncologica*, 45:300-305, 2006.
77. HESKETH, P.J. Chemotherapy-induced nausea and vomiting. *The New England Journal of Medicine*, 358(23): 2482-2494, 2008.
78. 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(1):103-9, 1997.
79. 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(8):1074-80, 2003.
80. HIMMELSTEIN, K.; PATTON, T.; BELT, R.; TAYLOR, S.; REPTA, A. J.; STERNSON L. A. Clinical kinetics of intact cisplatin and some related species. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 29:658-664, 1981.
81. 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.
82. HILL, G. W.; MOREST, D. K.; PARHAM, K. Cisplatin-induced ototoxicity: effect of intratympanic dexamethasone injections. *Otology & Neurotology*, 29(7):1005-1011, 2008.
83. 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.
84. 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.
85. HO, T.; WEI, Q.; STURGIS, E. M. Epidemiology of carcinogen metabolism genes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head and Neck*, 29:682-699, 2007.

86. 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.
87. HORIGUCHI, H.; OGUMA, E.; KAYAMA, F. Cadmium and cisplatin damage erythropoietin-producing proximal renal tubular cells. *Archives of Toxicology*, 80(10):680-686, 2006.
88. HSU, D. 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.
89. HUANG, Q. R.; DANIS, V.; LASSERE, M.; EDMONDS, J.; MANOLIOS, N. Evaluation of a new Apo-1/Fas promoter polymorphism in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford)*, 38:645-651, 1999.
90. 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.
91. HUSAIN, K.; WHITWORTH, C.; SOMANI, S. M.; RYBAK, L. P. Carboplatin-induced oxidative stress in rat cochlea. *Hearing Research*, 159:14-22, 2001.
92. 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.
93. IWAI, H.; LEE, S.; BABA, S.; TOMODA, K.; INABA, M.; IKEHARA, S.; YAMASHITA, T. Bone marrow cells as na origin of immune-mediated hering loss. *Acta Oto-laryngologica*, 124:8-12, 2004.
94. 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 Capase-3 gene and their association with lung cancer risk. *Molecular Carcinogenesis*, 47:383-390, 2008.
95. JAMESDANIEL, S.; HU, B.; KERMANY, M. H.; JIANG, H.; DING, D.; COLING, D.; SALVI, R. Noise induced changes in the expression of p38/MAPK Signaling proteins in the sensory epithelium of the inner ear. *Journal of Proteomics*, 75:410-124, 2011.
96. 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*, 1:e78, 2010.
97. 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.

98. 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.
99. 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.
100. 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.
101. 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.
102. JUNG, 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 Chimica Acta*, 344:137-148, 2004.
103. 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.
104. KASSE, C. K.; HYPOLITO, M. A.; CRUZ, O. L. M.; OLIVEIRA, J. A. A. Ototoxicidade e otoproteção. *Revista Brasileira de Medicina*, 3: 4-6, 2008.
105. KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 7:573-584, 2007.
106. KHAN, M. A.; LIU, J.; KUMAR, G.; SKAPEK, S., X.; FALCK, J. R.; IMIG, J. D. Novel orally active epoxyeicosatrienoic acid (EET) analogs attenuate cisplatin nephrotoxicity. *FASEB Journal*, 8:2946-2956, 2013.
107. 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.
108. KHRUNIN, A. V.; MOISSEEV, A.; GORBUNOVA, V.; LIMBORSKA, S. Genetic polymorphisms and the efficacy and toxicity of cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *The Pharmacogenomics Journal*, 10:54-61, 2010.

109. 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.
110. KIM, L.; KING, T.; AGULNIK, M. Head and neck cancer: changing epidemiology and public health implications. *Oncology (Williston Park)*, 24:915-919, 2010.
111. KLUSSMANN, J.P.; GÜLTEKIN, E.; WEISSENBORN, 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.
112. 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(7):519-22, 2002.
113. KOUBAK, S.; BERDELI, A. Fas/FasL promoter gene polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Reumatismo*, 64:374-379, 2012.
114. KOULNIS, M.; LIU, Y.;SOCOLOVSKY, M. Negative autoregulation by Fas stabilizes adult erythropoieses and accelerates its stress response. *Plos One*, 6:e21192, 2011.
115. KOUVARIS, J. R.; KOULOULIAS, V. E.; VLAHOS, L. J. Amifostine: the first selective-target and broad-spectrum radioprotector. *The oncologist*, 12:738-747, 2007.
116. 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.
117. KRSTEVSKA, V.; STOJKOVSKI, I.; LUKARSKI, D. Concurrent radiochemotherapy in advanced hypopharyngeal cancer. *Radiation Oncology*, 5:39, 2010.
118. KUO, M. T.; CHEN, H. H.; SONG, IS.; SAVARAJ, N.; ISHIKAWA, T. The roles of copper transporters in cisplatin resistance. *Cancer Metastasis Reviews*, 26:71-83, 2007.
119. 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.
120. 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.

121. 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.
122. LAZARUS, P.; PARK, J. Y. Metabolizing enzyme genotype and risk for upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncology*, 36:421-431, 2000.
123. LEEMANS, C. R.;BRAAKHUIS, B. J.; BRAKENHOFF, R. H. The molecular biology of head and neck cancer. *Nature Reviews Cancer*, 11:9-22, 2011.
124. LEWONTIN, R. C. On measures of gametic disequilibrium. *Genetics*, 120:849-852, 1998.
125. LI, C.; LU, J.; LIU, Z.; WANG, L.E.; ZHAO, H.; EL-NAGGAR, A.K.; STURGIS, E.M.; WEI, Q. The six-nucleotide deletion/insertion variant in the CASP8 promoter region is inversely associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Prevention Research*, 3:246-253, 2010.
126. LI, G.; LIU, Z.; STURGIS, E. M.; SHI, Q.; CHAMBERLAIN, R. M.; SPITZ, M.; WEI, Q. Genetic polymorphisms of p21 are associated with risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis*, 26:1596-1602, 2005.
127. 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.
128. LINK, H. Supportive therapy in medical therapy of head and neck tumors. *GMS Current Topics in Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery*, 22(2):347-355, 2012.
129. 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.
130. 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.
131. 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.
132. 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.
133. LIU, J.; UEMATSU, H.; TSUCHIDA, N.; LKEDA, 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.

134. 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.
135. 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.
136. 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.
137. MARTIN, L. P.; HAMILTON, T. C.; SCHILDER, R. J. Platinum resistance: the role of DNA repair pathways. *Clinical Cancer Research*, 14:1291-1295, 2008.
138. 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.
139. MASUDA, H.; TANAKA, T.; TAKAHAMA, U. Cisplatin generates superoxide anion by interaction with DNA in a cell-free system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 203:1175-1180, 1994.
140. MCALPINE, D.; JOHNSTONE, B. M. The ototoxic mechanism of cisplatin. *Hearing Research*, 47:191-203, 1990. MCDUFFIE, J. E.; SABLAD, M.; MA, J.; SNOOK, S. Urinary parameters predictive of cisplatin-induced acute renal injury in dogs. *Cytokine*, 52:156-162, 2010.
141. 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.
142. 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, p. 729-780, 2011.
143. 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.
144. MICHEAU, O.; SOLARY, E.; HAMMANN, A.; MARTUN, F.; DIMANCHE-BOITREL, M. T. Sensitization of cancer cells treated with cytotoxic drugs to fas-mediated cytotoxicity. *Journal of the National Cancer Institute*, 89:783-789, 1997.

145. 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.
146. 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.
147. MOHAMMADZADEH, A.; POURFATHOLLAH, A.A.; TAHOORI, M.T.; DANESHMANDI, S.; LANGROUDI, L.; AKHLAGHI, M. Evaluation of apoptosis-related gene Fas (CD95) and FasL (CD178) polymorphisms in Iranian rheumatoid arthritis patients. *Rheumatology International*, 2011.
148. 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.
149. 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.
150. 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.
151. MORI S.; NOSE M.; MORIKAWA H.; SATO A.; SAITO T.; SONG S.T.; TANDA N.; TESHIMA T. A novel evaluation system of metastatic potencial of oral squamous cell carcinoma according to the histopathological and histochemical grading. *Oral Oncology*, 34:549-557, 1998.
152. 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.
153. MULLER, M.; WILDER, S.; BANNASCH, D.; ISRAELI, D.; LEHLBACH, K.; LI-WEBER, M.; FRIEDMAN, S. L.; GALLE, P. R.; STREMMEL, W.; OREN, M.; KRAMMER, P. H. p53 activates the CD95 (APO-1/Fas) gene in response to DNA damage by anticancer drugs. *The journal of Experimental Medicine*, 188:2033-2045, 1998.
154. 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.
155. 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.

156. NATIONAL INSTITUTE ON ALCOHOL ABUSE AND ALCOHOLISM (NIAAA) Nº 30 PH 359, 1995. Alcohol Res Health, 24:1-11, 2000. 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.
157. NORTHERN, J. L.; DOWNS, M. P. Hearing in children. 3ed. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 391, 1984.
158. NUNOBIKI, O.; UEDA, M.; TOJI, E.; YAMAMOTO, M.; AKASHI, K.; SATO, N.; IZUMA, S.; TORII, K.; TANAKA, I.; OKAMOTO, Y.; NODA, S. Genetic Polymorphism of Cancer Susceptibility Genes and HPV Infection in Cervical Carcinogenesis. Pathology Research International, 2011:364-369, 2011.
159. 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.
160. 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.
161. 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.
162. 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.
163. 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.
164. PABLA, N.; DONG, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. Kidney International, 73:994-1007, 2008.
165. PAPADAKI, H. A.; ELIOPOULOS, G. D. The role of apoptosis in the pathophysiology of chronic neutropenias associated with bone marrow failure. Cell Cycle, 2:447-451, 2003.
166. 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.
167. PETER, M. E.; BUDD, R. C.; DESBARATS, J.; HEDRICK, S. M.; HUEBER, A. O.; NEWELL, M. K.; OWEN, L. B.; POPE, R. M.; TSCHOPP, J.; WAJANT, H.; WALLACH, D.; ZORNIG, M.; LYNCH, D. M. The CD95 receptor:apoptosis revisited. Cell, 129:447-450, 2007.

168. PIERELLI, L.; SCAMBIA, G.; FATTOROSSO, A.; BONANNO, G.; BATTAGLIA, A.; PERILLO, A.; MENICHELLA, G.; PANICI, P. B.; LEONE, G.; MANCUSO, S. *in vitro* effect of amifostine on haematopoietic progenitors exposed to carboplatin and non-alkylating antineoplastic drugs: haematoprotection acts as a drug-specific progenitor rescue. *British Journal of Cancer*, 78:1024-1029, 1998.
169. QUIAN, J.; QU, H. Q.; YANG, L.; YIN, M.; WANG, Q.; GU, S.; WU, Q.; ZHAO, X.; WU, W., WU, J.; TAN, X.; CHEN, W.; WANG, H.; WANG, J.; FAN, W.; CHEN, H.; HAN, B.; LU, D.; WEI, Q.; JIN, L. Association between CASP8 and CASP10 polymorphisms and toxicity outcomes with platinum-based chemotherapy in Chinese patients with non-small cell lung cancer. *The Oncologist*, 17:1551-1561, 2012.
170. QUINTELA-FANDINO, M.; HITT, R.; MEDINA, P. P.; GAMARRA, S.; MANSO, L.; CORTES-FUNES, H.; SANCHEZ-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-based induction chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 24:4333-4339, 2006.
171. 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.
172. RABIK, C. A.; DOLAN, M. E. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treatment Review*, 33:9-23, 2007.
173. RADES, D.; KRONEMANN, S.; MEYERS, 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.
174. 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.
175. RAMASWAMY, M.; CLELAND, S.Y.; CRUZ, A.C.; SIEGEL, R.M. Many checkpoints on FasL interactions and Fas signaling in peripheral immune immuneresponses. *Results & Problems in Cell Differentiation Journal*, 49:17-47, 2009.
176. 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.

177. REED, E. Cisplatin, Carboplatin, and Oxaliplatin. In: Chabner B, editor. Cancer chemotherapy and biotherapy. Lippincott Williams & Wilkins, 332-343, 2006.
178. 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.
179. 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.
180. 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(1):20-8, 2006.
181. ROSSI, D.; GAIDANO, G. Messengers of cell death: apoptotic signaling in health and disease. Haematologica, 88:212-8, 2003.
182. RUSSO, I. C. P.; BEHLAU, M. Percepção da fala: análise acústica do Português brasileiro. São Paulo: Lovise, p. 57, 1993.
183. 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.
184. SANTOS, R. A.; PORTUGAL, F. B.; FELIX, J. D.; SANTOS, P. M. O.; SIQUEIRA, M. M. Epidemiological Evaluation of Patients with Cancer in the Upper Aerodigestive Tract: Relevance of Alcohol and Tobacco Risk Factors. Revista Brasileira de Cancerologia, 58(1): 21-29, 2012.
185. 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.
186. SCHWÖRER, H.; RACKÉ, K.; KILBINGER, H. Cisplatin increases the release of 5-hydroxytryptamine (5-HT) from the isolated vascularly perfused small intestine of the guinea-pig: involvement of 5-HT₃ receptors. Naunyn-Schmiedeberg's Archives Pharmacology, 344:143-149, 1991.
187. SHEIKH-HAMAD, D. Cisplatin-induced cytotoxicity: is the nucleus relevant? American Journal of Physiology. Renal Physiology, 295:F42-F43, 2008.
188. 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.

189. 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.
190. 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.
191. SIDDIK, Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*, 22:7265-7279, 2003.
192. SIDRANSKY, D. Cancer of the head and neck. In: DE VITA, V. T.; HELLMAN, S.; ROSENBERG, S. A. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 7 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 653-662, 2005.
193. 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.
194. 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.
195. 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.
196. SNOW, A. N.; LAUDADIO, J. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cell carcinomas. *Advances in Anatomic Pathology*, 17:394-403, 2010. 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.
197. SON, J.W.; KANG, H.K.; CHAE, M.H.; CHOI, J.E.; PARK, J.M.; LEE, W.K.; KIM, C.H.; KIM, D.S.; KAM, S.; KANG, Y.M.; PARK, J.Y. Polymorphisms in the caspase-8 gene and the risk of lung cancer. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 169:121-127, 2006. 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.
198. 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.

199. 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.
200. STRASSER, A.; JOST, P. J.; NAGATA, S. The many roles of FAS receptors signaling in the immune system. *Immunity*, 30:180-192, 2009.
201. SUN, T.; ZHOU, Y.; LI, H.; HAN, X.; SHI, Y.; WANG, L.; MIAO, X.; TAN, W.; ZHAO, D.; ZHANG, X.; GUO, Y.; LIN, D. The FASL -844C polymorphism is associated with increased activation-induced T cell death and risk of cervical cancer. *Journal of Experimental Medicine*, 7:967-974, 2005.
202. SUN, T.; GAO, Y.; TAN, W.; MA, S.; SHI, Y.; YAO, J.; GUO, Y.; YANG, M.; ZHANG, X.; ZHANG, Q.; ZENG, C.; LIN, D. A six-nucleotide insertion-deletion polymorphism in the CASP8 promoter is associated with susceptibility to multiple cancers. *Nature Genetics*, 39:605-613, 2007.
203. SYRJANEN, S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *Journal of Clinical Virology*, 32 suppl 1:S59-66, 2005.
204. TER-MINASSIAN, M.; ZHAI, R.; ASOMANING, K.; SU, L.; ZHOU, W.; LIU, G.; HEIST, R.S.; LYNCH, T.J.; WAIN, J.C.; LIN, X.; DE VIVO, I.; CHRISTIANI, D.C. Apoptosis gene polymorphisms, age, smoking and the risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*, 29:2147-2152, 2008.
205. UMAR, M.; UPADHYAY, R.; KUMAR, S.; GHOSHAL, U.C.; MITTAL, B. CASP8 S652 6N del and CASP8 IVS12-19G>A Gene Polymorphisms and Susceptibility/Prognosis of ESCC: A Case Control Study in Northern Indian Population. *Journal of Surgical Oncology*, 103:716-723, 2011.
206. VANDENDRIES, E.R.; DREWS, R.E. Drug-associated disease: hematologic dysfunction. *Critical Care Clinics*, 22(2):347-355, 2006.
207. 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.
208. VIKHANSKAYA, F.; SIDDIQUE, M. M.; KEI LEE, M.; 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.
209. 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.

210. 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.
211. WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4:307-320, 2005.
212. WANG, M.; ZHANG, Z.; TIAN, Y.; SHAO, J.; ZHANG, Z. A six-nucleotide insertion-deletion polymorphism in the CASP8 promoter associated with risk and progression of bladder cancer. *Clinical Cancer Research*, 15:2567-2572, 2009.
213. 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.
214. WERNER, K.; RÜCKERT, F.; SAEGER, H. D.; GRÜTZMANN, R.; PILARSKY, C. Recent patents concerning targeted therapy of apoptosis resistance in pancreatic cancer. *Recent Patents on DNA & Genes Sequences*, 5:28-34, 2011.
215. 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.; FORSMAN, 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.
216. WHITE, R.; BRANDNAM, V. *Handbook of Drug Administration via Enteral Feeding Tubes*. Londres: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2007.
217. 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. WILSON, M. R. Apoptosis: unmasking the executioner. *Cell Death and Differentiation*, 5:646-652, 1998.
218. 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.

219. 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.
220. WOODHEAD, J. L.; FALLON, R.; FIGUEREDO, H.; LANGDALE, J.; MALCOM, A. D. B. Alternative methodology of gene diagnosis. In: DAVIES, K.E. *Human genetic diseases: a practical approach*. Oxford: IRL Press Limited, 51-64, 1986.
221. WORLD HEALTH ORGANISATION. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. WHO technical report series 916, Geneva, 2003.
222. WU, J.; METZ, C.; XU, X.; ABE, R.; GIBSON, A.W.; EDBERG, J.C.; COOKE, J.; XIE, F.; COOPER, G.S.; KIMBERLY, R.P. A novel polymorphic CAAT/enhancer-binding protein beta element in the FasL gene promoter alters Fas ligand expression: a candidate background gene in African American systemic lupus erythematosus patients. *The Journal of Immunology*, 170:132-138, 2003.
223. 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.
224. 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*, 29:49, 2010.
225. 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.
226. YANG, E. S.; MURPHY, B. M.; CHUNGETAL, 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.
227. YIN, M.; YAN, J.; WEI, S.; WEI, Q. CASP8 polymorphisms contribute to cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis of 23 publications with 55 individual studies. *Carcinogenesis*, 31:850-857, 2010.
228. YUHAS, J. M. Active versus passive absorption kinetics as the basis for selective protection of normal tissues by S-2-(3-aminopropylamino)-ethylphosphorothioic acid. *Cancer Research*, 40:1519-1524, 1980.

229. ZHANG, X.; MIAO, X.; SUN, T.; TAN, W.; QU, S.; XIONG, P.; ZHOU, Y.; LIN, D. Functional polymorphisms in cell death pathway genes FAS and FASL contribute to risk of lung cancer. *Journal of Medical Genetics*, 42:479-484, 2005.
230. ZHANG, Z.; WANG, L.E.; STURGIS, E.M.; EL-NAGGAR, A.K.; HONG, W.K.; AMOS, C.I.; SPITZ, M.R.; WEI, Q. Polymorphisms of FAS and FAS Ligand Genes Involved in the Death Pathway and Risk and Progression of Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Clinical Cancer Research*, 12:5596-5602, 2006.
231. 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.

Anexo 1

FORMULÁRIO PARA INVESTIGAR TOXICIDADE DURANTE INFUSÃO DO FÁRMACO

Nome: _____ HC: _____

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 TOXICIDADE APÓS A QUIMIOTERAPIA

Nome: _____ HC: _____

Data: _____

Náusea

	Não	Sim	Conseguiu comer?	Comeu menos?	Não comeu 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

Nome: _____ HC: _____

Data: _____

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	***

Escore: 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-⁵¹Cr) 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 se 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

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 Silvia 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 *Fas* -1377 G>A; *Fas* -670 A>G, *FasL* 844C>T, *CASP3* IVS1-15G>T e o *CASP8* -652 6N ins/del, 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 Tathiane Regine Penna Lima, 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 acompanhados no estudo, de acordo com a situação e a causa de exclusão

Caso	Situação	Causa da exclusão	Caso	Situação	Causa da exclusão
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 raça, o índice de massa corpórea, as comorbidades, a exposição a agentes químicos e os hábitos do etilismo e tabagismo

Caso	Idade (anos)	Sexo	Raça	IMC	HAS	DM	Etilismo	Tabagismo
1	59	M	C	18,2	N	N	EMA	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	EMA	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	EA	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	EA	TA
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; (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, estágio, grau de diferenciação do tumor e os dados da imunohistoquímica da proteína p16 e da hibridização *in situ*

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	N
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	N
94	Faringe	Orofaringe	T4aN0M0	IVa	M	P	N
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	N
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 tivemos dificuldades na obtenção de 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 recebidas em cada infusão e a dose acumulada no tratamento completo

Caso	Quimioterapia com CDDP						
	Primeiro ciclo		Segundo ciclo		Terceiro ciclo		Dose acumulada
	CDDP	CDDP	CDDP	CDDP	CDDP	CDDP	CDDP
	(mg total)	(mg/m ²)	(mg total)	(mg/m ²)	(mg total)	(mg/m ²)	(mg/m ²)
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