



**LEISA LOPES AGUIAR**

**“POLIMORFISMOS EM GENES DE REPARO DE DNA POR EXCISÃO DE  
NUCLEOTÍDEOS 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**

**LEISA LOPES AGUIAR**

**“POLIMORFISMOS EM GENES DE REPARO DE DNA POR EXCISÃO DE  
NUCLEOTÍDEOS 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 ao Programa de Pós Graduação em  
Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade  
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestra em Ciências

**Este exemplar corresponde à versão final da dissertação de mestrado  
defendida pela aluna Leisa Lopes Aguiar  
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

L881p      Lopes Aguiar, Leisa, 1989-  
Polimorfismos em genes de reparo de DNA por  
excisão de nucleotídeos na farmacogenética da  
cisplatina associada à radioterapia em portadores de  
carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço /  
Leisa Lopes Aguiar. -- 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. 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 nucleotide excision DNA repair genes in cisplatin  
harmacogenetics 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

**Área de concentração:** Fisiopatologia Médica

**Titulação:** Mestra em Ciências

**Banca examinadora:**

Carmen Silvia Passos Lima [Orientador]

Luiz Paulo Kowalski

Claudia Vianna Maurer Morelli

**Data de defesa:** 25-08-2014

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

# BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE MESTRADO

LEISA LOPES AGUIAR

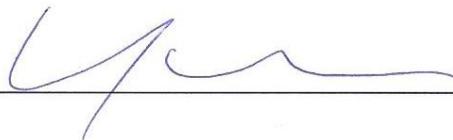
Orientador (a) PROF(A). DR(A). CARMEN SILVIA PASSOS LIMA

## MEMBROS:

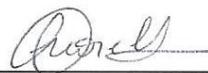
1. PROF(A). DR(A). CARMEN SILVIA PASSOS LIMA



2. PROF(A). DR(A). LUIZ PAULO KOWALSKI



3. PROF(A). DR(A). CLAUDIA VIANNA MAURER MORELLI



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

Data: 25 de agosto de 2014



## **Dedicatória**

*Dedico este trabalho integralmente aos  
pacientes e seus familiares que tanto me  
ensinaram e, principalmente, me motivaram  
a seguir em frente nesta etapa tão  
importante da minha vida*



## **Epígrafe**

*“A doença é a zona noturna da  
vida, uma cidadania mais  
onerosa.*

*Todos que nascem têm dupla  
cidadania, no reino dos sãos e no  
reino dos doentes.*

*Apesar de todos preferirmos só  
usar o passaporte bom, mais  
cedo ou mais tarde nos vemos  
obrigados, pelo menos por um  
período, a nos identificarmos  
como cidadãos desse outro  
lugar.”*

**Susan Sontag**



## **Agradecimentos**

À minha orientadora Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima, por me ensinar os primeiros passos da ciência oncológica, por me motivar a produzir com qualidade e, acima de tudo, a ser uma pesquisadora honesta e dedicada. Generosa, prestativa e ao mesmo tempo exigente, esteve ao meu lado nos momentos que mais precisei.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela concessão da bolsa de mestrado (nº 2011/15089-1) e auxílio pesquisa (nº 2012/01807-2) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio pesquisa (nº 401262/2013-8), fundamentais para a realização deste trabalho.

Aos pacientes e acompanhantes, que de forma tão humilde, muito me ensinaram sobre a vida. Irei levá-los sempre em meu coração.

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 dos “cisplatinos”, conhecidos nos quatro cantos do Hospital de Clínicas da UNICAMP. Ericka, Guilherme, Marília, Éder e Tathi, esse trabalho não existiria sem vocês. Cada um, da sua forma, contribuiu integralmente para que tudo saísse (aos trancos e barrancos) da melhor maneira possível.

À equipe da Oncologia, Roseli, Rosângela, Eliseu, Naiara, Ricardo, Dona Edna, Ana Paula, Maristela, Stella, Júlio, Dr. Vinícius Conceição, Dr. José Augusto Rinck Júnior e demais funcionários, residentes e internos, muito obrigada por confiar no meu trabalho e auxiliar no contato com os pacientes.

À equipe da Quimioterapia, Sheila, Melia, Carlão, Jailde, Dona Maria, Olímpia e demais enfermeiras, pela paciência e também pelas inúmeras coletas de sangue dos pacientes inseridos no estudo.

Às fonoaudiólogas, Luciane Calonga, Daniela Calil, Daniele Jerônimo e Silvia Curi, por encontrarem espaços nas suas agendas para realizar as audiometrias dos nossos pacientes.



Aos funcionários da Medicina Nuclear, Doni, Kely, Carlos, Bárbara, Geraldo e Cristiane Midinutti, pela preocupação, dedicação e interesse no trabalho.

À equipe da Otorrino, Radiologia e Radioterapia, muitíssimo obrigada por tudo!

À equipe de farmacêuticas, Marília, Bruna, Rafaela, Anna Paula, Cinthia, Grazielle, Isabella, Laís e Luciana, que praticamente me alfabetizaram no mundo tão encantador dos fármacos.

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 parceiros do Laboratório de Genética do Câncer (LAGECA), Gustavo, Cristiane, Gabriela, Angelo, Camila, Carla e Erikinha, que contribuíram direta ou indiretamente para a melhoria deste trabalho.

Aos meu amigos e companheiros de jornada, Ericka Francislaine Dias Costa e Guilherme Augusto da Silva Nogueira, nesta etapa vocês foram (e ainda são) meu braço direito.

E por fim, só que não menos importante, um agradecimento mais que especial à minha tão amada família. Meus pais, Vitor Soares Aguiar e Roseli Lopes Aguiar, por constituírem o meu alicerce de vida e contribuírem para minha formação educacional e humana. E também agradeço a paciência e a força nos momentos difíceis. Ao meu irmão Cleiton e à minha cunhada Gisele, pelo carinho, atenção e interesse na minha carreira de pesquisadora. E, principalmente, ao meu namorado Horácio Busolin Júnior, pelo amor e por estar ao meu lado e me apoiar 25 horas por dia e 366 dias por ano. Sem contar que ele praticamente cedeu seu notebook para que eu pudesse finalizar o trabalho.



## Lista de abreviaturas

CCE	Carcinoma de células escamosas
CCECP	Carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço
CDDP	Cisplatina
CICSHCP	Sistema <i>online</i> do Hospital de Clínicas
CICre	Clearance de creatinina estimado
Cr	Creatinina
CT	Tomografia computadorizada
CTZ	Zona de gatilho quimiorreceptora
CV	Centro do vômito
dB	DeciBELL
DDTC	Dietilditiocarbamato
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dNTP	Desoxirribonucleotídeo trifosfato
DP	Desvio padrão
EDTA- <sup>51</sup> Cr	Ácido etilenodiamino-tetracético marcado com cromo- <sup>51</sup>
<i>ERCC1</i>	Gene <i>excision repair cross-complementation group 1</i>
Gy	Gray
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência
HPV	Papilomavírus humano
HW	Hardy-Weinberg
IC	Intervalo de confiança
IMC	Índice de massa corpórea
IT	Índice de tabagismo
kHz	Quilohertz
KPS	<i>Karnofsky performance status</i>



M	Molar
MBq	Megabequerel
MgCl <sub>2</sub>	Cloreto de magnésio
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mM	Milimolar
NaOH	Hidróxido de sódio
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NER	Reparo de DNA por excisão de nucleotídeos
ng	Nanograma
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de amônio
NiCl <sub>2</sub>	Cloreto de níquel
nm	Nanomolar
OR	Razão das chances
pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PI	Padrão interno
pmoles	Picomoles
p16	Proteína 16
QT	Quimioterapia
RECIST 1.1	<i>Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1</i>
rpm	Rotação por minuto
rs	Número de referência do polimorfismo gênico
RT	Radioterapia
TFG	Taxa de filtração glomerular



<i>Taq</i>	Enzima polimerase <i>Termus aquaticus</i>
U	Unidade
$\chi^2$	Qui-quadrado
<i>XPC</i>	Gene <i>xeroderma pigmentosum complementation group C</i>
<i>XPD</i>	Gene <i>xeroderma pigmentosum complementation group D</i>
<i>XPF</i>	Gene <i>xeroderma pigmentosum complementation group F</i>
$\mu\text{L}$	Microlitro
$\mu\text{M}$	Micromolar



## Lista de figuras

	<b>Página</b>
<b>Figura 1.</b> Metabolismo da cisplatina .....	46
<b>Figura 2.</b> Mecanismo de reparo do genoma global por excisão de nucleotídeos .....	47
<b>Figura 3.</b> Audiograma de sons familiares .....	69
<b>Figura 4.</b> Secções de carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço incluídos em parafina para pesquisa de HPV .....	80
<b>Figura 5.</b> Genótipos do polimorfismo Lys939Gln do gene <i>XPC</i> .....	82
<b>Figura 6.</b> Genótipos do polimorfismo Asp312Asn do gene <i>XPB</i> .....	83
<b>Figura 7.</b> Genótipos do polimorfismo Lys751Gln do gene <i>XPB</i> .....	84
<b>Figura 8.</b> Genótipos do polimorfismo T30028C do gene <i>XPD</i> .....	85
<b>Figura 9.</b> Genótipos do polimorfismo C118T do gene <i>ERCC1</i> .....	86
<b>Figura 10.</b> Paciente com carcinoma de células escamosas de faringe antes e após o tratamento .....	90
<b>Figura 11.</b> Imagens obtidas antes e após o tratamento de paciente com carcinoma de células escamosas de laringe em cortes axiais e coronais de tomografia computadorizada de pescoço com contraste intravenoso .....	91
<b>Figura 12.</b> Cromatograma de urina adicionada de padrão de cisplatina e padrão interno .....	119
<b>Figura 13.</b> Apresentação gráfica da curva padrão desenvolvida, da equação da curva e do $r^2$ .....	120
<b>Figura 14.</b> Cromatograma e dados utilizados para quantificação da cisplatina na urina .....	121



## Lista de tabelas

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1.</b> Frequências dos genótipos distintos de polimorfismos gênicos relacionados com o reparo por excisão de nucleotídeos em câncer .....	54
<b>Tabela 2.</b> Classificação de indivíduos por hábito de ingerir bebidas alcoólicas .....	56
<b>Tabela 3.</b> Classificação de indivíduos por hábito do tabagismo .....	57
<b>Tabela 4.</b> Condições para genotipagem dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPD10</i> Asp312Asn, <i>XPD23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T .....	61
<b>Tabela 5.</b> Tipos de resposta à terapêutica de acordo com RECIST 1.1 ..	64
<b>Tabela 6.</b> Graus de náuseas e vômitos medidos por critérios do <i>National Cancer Institute</i> .....	66
<b>Tabela 7.</b> Graus de mielossupressão medidos por critérios do <i>National Cancer Institute</i> .....	67
<b>Tabela 8.</b> Graus de ototoxicidade segundo critérios do <i>National Cancer Institute</i> .....	70
<b>Tabela 9.</b> Frequências das distribuições dos 145 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço, de acordo com a situação final e as causas de exclusão do estudo .....	75
<b>Tabela 10.</b> Frequências das distribuições dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com a idade, o sexo, a etnia, o índice de massa corpórea, as comorbidades e o padrão de etilismo e tabagismo .....	77



<b>Tabela 11.</b>	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 .....	78
<b>Tabela 12.</b>	Frequências das distribuições dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com os genótipos e alelos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T .....	87
<b>Tabela 13.</b>	Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por tipos de resposta à terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	88
<b>Tabela 14.</b>	Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e os tipos de resposta à terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	92
<b>Tabela 15.</b>	Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por graus de náuseas e vômitos e adesão aos antieméticos durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia ..	95
<b>Tabela 16.</b>	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 .....	96



<b>Tabela 17.</b>	Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e graus de náuseas e vômitos durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	97
<b>Tabela 18.</b>	Frequências das distribuições dos 84 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e graus de mielossupressão durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	99
<b>Tabela 19.</b>	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha direita e orelha esquerda, nas frequências 0,25, 0,50, 1, 2, 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	103
<b>Tabela 20.</b>	Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por graus de ototoxicidade por via aérea, medidos antes e após a terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	104
<b>Tabela 21.</b>	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e 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 .....	105



<b>Tabela 22.</b>	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e 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 .....	107
<b>Tabela 23.</b>	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e 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 .....	109
<b>Tabela 24.</b>	Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia .....	111
<b>Tabela 25.</b>	Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e graus de ototoxicidade após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia .....	113



<b>Tabela 26.</b>	Distribuições dos 70 e 69 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e valores de clearance de creatinina estimado e taxa de filtração glomerular com EDTA- <sup>51</sup> Cr, respectivamente, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia ...	117
<b>Tabela 27.</b>	Distribuições dos 58 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T e valores de cisplatina urinária, medidos durante o tratamento com cisplatina associada à radioterapia .....	122
<b>Tabela 28.</b>	Associações dos polimorfismos <i>XPC</i> Lys939Gln, <i>XPB10</i> Asp312Asn, <i>XPB23</i> Lys751Gln, <i>XPF</i> T30028C e <i>ERCC1</i> C118T com resposta e toxicidade à cisplatina associada à radioterapia em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço .....	125



## Sumário

	<b>Página</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	xv
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xxi
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	xxiii
<b>RESUMO</b> .....	xxxix
<b>ABSTRACT</b> .....	xli
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	43
1. Considerações gerais .....	43
2. Fatores predisponentes para o CCECP .....	43
3. Terapêutica para portadores de CCECP .....	44
4. Cisplatina .....	44
5. Polimorfismos em genes que atuam no metabolismo da CDDP .....	49
5.1. <i>XPC, XPD, XPF, ERCC1</i> e via NER de reparo de lesões de DNA ....	49
6. Polimorfismos gênicos, metabolismo e efeitos da CDDP .....	50
<b>OBJETIVOS</b> .....	52
<b>CASUÍSTICA E MÉTODOS</b> .....	53
1. Aspectos clínicos e do tumor .....	56
2. Terapêutica de pacientes com CCECP .....	58
3. Seguimento de pacientes com CCECP .....	59
4. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos .....	59
5. Taxa de resposta ao tratamento .....	63
6. Toxicidade ao esquema terapêutico .....	64
6.1. Náuseas, vômitos e mielossupressão .....	64
6.2. Ototoxicidade .....	68



6.3. Nefrotoxicidade .....	70
6.3.1. Creatinina sérica e clearance de creatinina estimado .....	70
6.3.2. Taxa de filtração glomerular com EDTA- <sup>51</sup> Cr .....	70
7. Quantificação da CDDP urinária .....	71
7.1. Procedimentos pré-analíticos .....	71
7.1.1. Construção da curva padrão .....	71
7.1.2. Preparo da urina dos pacientes e da curva padrão .....	71
7.2. Procedimentos analíticos .....	72
7.2.1. Condições da cromatografia líquida de alta eficiência .....	72
7.2.2. Construção da curva padrão com urina de controle .....	72
7.2.3. Quantificação da cisplatina nas urinas dos pacientes .....	72
7.2.4. Correções aplicadas nas amostras de urina .....	73
8. Aspectos éticos .....	73
9. Análise estatística .....	73
<b>RESULTADOS</b> .....	75
1. Casuística .....	75
2. Aspectos clínicos e do tumor .....	75
3. Terapêutica de pacientes com CCECP .....	81
4. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos .....	81
5. Taxa de resposta ao tratamento .....	88
6. Toxicidade ao esquema terapêutico .....	94
6.1. Náuseas, vômitos e mielossupressão .....	94
6.2. Ototoxicidade .....	101
6.3. Nefrotoxicidade .....	116
7. Quantificação da CDDP urinária .....	119
7.1. Padronização da técnica .....	119



7.2. Concentração de CDDP urinária .....	121
8. Resumo dos resultados .....	124
<b>DISCUSSÃO</b> .....	126
1. Aspectos clínicos e do tumor .....	126
2. Taxa de resposta ao tratamento .....	129
3. Toxicidade ao esquema terapêutico .....	131
3.1. Náuseas e vômitos .....	131
3.2. Mielossupressão .....	134
3.3. Ototoxicidade .....	135
3.4. Nefrotoxicidade .....	138
4. Concentração de CDDP urinária .....	140
<b>CONCLUSÕES</b> .....	143
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	144
<b>ANEXOS</b> .....	167



## 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 no reparo de lesões do DNA, mediadas pelas enzimas ERCC1, XPC, XPD e XPF, alteram os efeitos terapêuticos, colaterais e a concentração de CDDP urinária em pacientes com CCECP. Foram avaliados, de forma prospectiva, pacientes consecutivos com CCECP do Hospital de Clínicas da UNICAMP, que receberam terapêutica com CDDP associada à RT. Os genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T 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 meio de exame clínico e por tomografia computadorizada do pescoço. Os efeitos colaterais ao tratamento foram graduados por meio de questionário e exames laboratoriais. As toxicidades renal e auditiva foram avaliadas por meio do clearance de creatinina estimado, da taxa de filtração glomerular com EDTA-<sup>51</sup>Cr 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 pelos testes da probabilidade exata de Fisher ou qui-quadrado, regressão logística múltipla e ANOVA. Portadores do alelo Gln do polimorfismo *XPC* Lys939Gln estiveram sob chance de 0,11 vezes (intervalo de confiança [IC] 95%: 0,03-0,40) menor de ototoxicidade. Pacientes com o alelo Asn e com o genótipo Asn/Asn do polimorfismo *XPD10* Asp312Asn estiveram sob chance de 0,38 vezes (IC 95%: 0,14-0,99) menor de náuseas, e 8,50 (IC 95%: 1,02-70,70) e 12,29 vezes (IC 95%: 1,19-126,04) maior de resposta completa ao tratamento e ototoxicidade, respectivamente. Portadores do genótipo CC do polimorfismo *XPF* T30028C estiveram sob chance de 0,13 (IC 95%: 0,02-0,74) e 0,06 vezes (IC 95%: 0,007-0,67) menor de náuseas e vômitos, respectivamente. E, pacientes com o alelo T do polimorfismo *ERCC1* C118T estiveram sob chance de 0,33 vezes (IC 95%: 0,11-0,97) menor de vômitos. Concluimos que estes polimorfismos desempenham papéis importantes na obtenção de resposta à terapêutica e na ocorrência de efeitos colaterais. Acreditamos que estes resultados possam constituir a base preliminar para 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 assess if inherited ability to repair DNA damage, mediated by ERCC1, XPC, XPD and XPF enzymes change the therapeutic side effects and urinary concentration of CDDP in HNSCC patients. We evaluated prospectively, 90 consecutive HNSCC patients of UNICAMP's Hospital, who received CDDP associated RT as neoadjuvant, definitive or palliative treatment. Genotypes of *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C and *ERCC1* C118T polymorphisms were analyzed by polymerase chain reaction and restriction enzyme digestion of peripheral blood DNA. Treatment response was assessed by clinical examination and computed tomography of neck. Treatment side effects were ranked through questionnaire and laboratory tests. Renal and hearing toxicities were assessed using, respectively, estimated creatinine clearance and glomerular filtration <sup>51</sup>Cr-EDTA and pure tone threshold 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, logistic regression and ANOVA. Carriers of Gln allele of *XPC* Lys939Gln polymorphism had a 0.11-fold (95% confidence interval [CI]: 0.03-0.40) decreased risk of ototoxicity. Patients with Asn allele and Asn/Asn genotype of *XPD10* Asp312Asn polymorphism had a 0.38-fold (95% CI: 0.14-0.99) decreased risk of nausea, and had a 8.50 (95% CI: 1.02-70.70) and 12.29-fold (95% CI: 1.19-126.04) increased risks of complete response to treatment and ototoxicity, respectively. Carriers of CC genotype of *XPF* T30028C polymorphism had a 0.13 (95% CI: 0.02-0.74) e 0.06-fold (95% CI: 0.007-0.67) decreased risks of nausea and vomiting, respectively. And, patients with T allele of *ERCC1* C118T polymorphism had a 0.33-fold (95% CI: 0.11-0.97) decreased risk of vomiting. We concluded that these genetic polymorphisms have important roles in complete response rate and in occurrence of side effects. We believe that this data may constitute preliminary basis of 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 estágios 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 quando em estágios iniciais (91%), e menores em tumores de hipofaringe (31%) (MENDENHALL *et al.*, 2011).

### **2. Fatores predisponentes para o CCECP**

Os principais fatores envolvidos com a origem do CCECP são o tabagismo e o etilismo crônicos (YANG *et al.*, 2009a; 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% dos 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.*, 2009a; MOORE *et al.*, 2010; MENDENHALL *et al.*, 2011; REED, 2011).

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

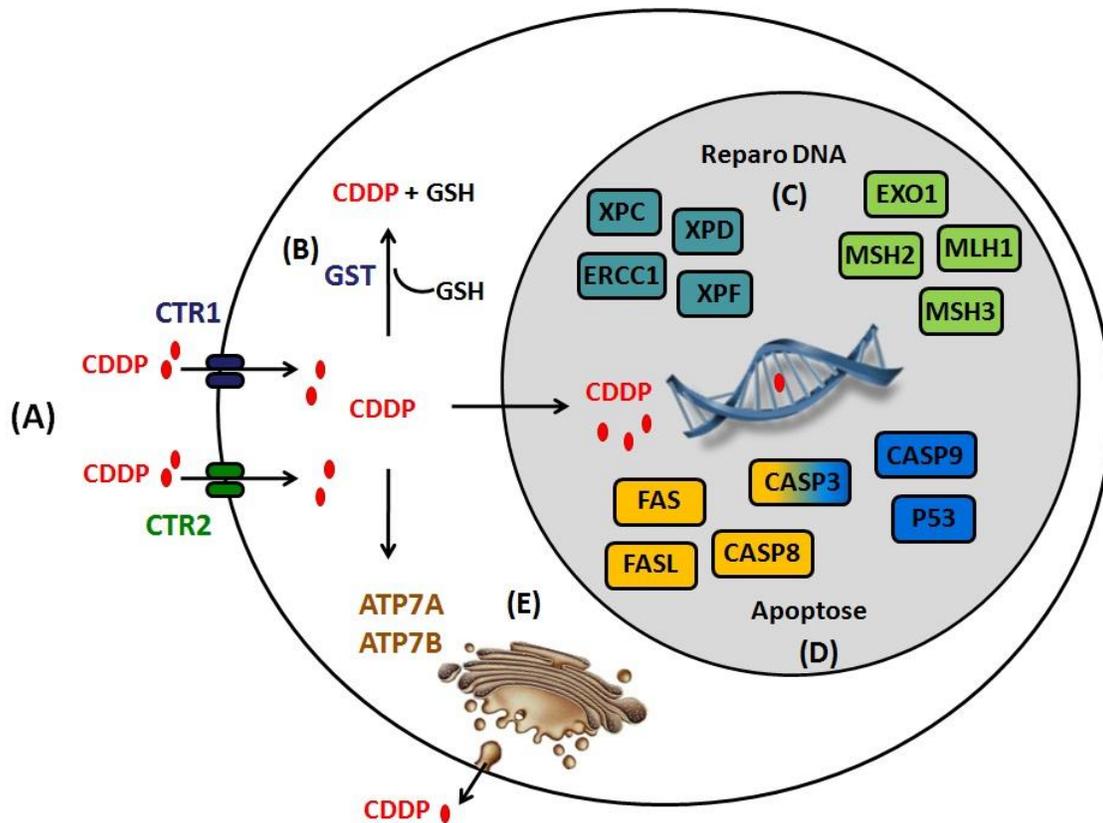
identificada na urina 24 horas após a infusão do quimioterápico e somente uma pequena porcentagem é excretada pela bile (JOHNSON & O'DWYER, 2005).

A CDDP induz a formação de radicais livres, que lesam o DNA de células tumorais, com conseqüente destruição das mesmas por apoptose (QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006).

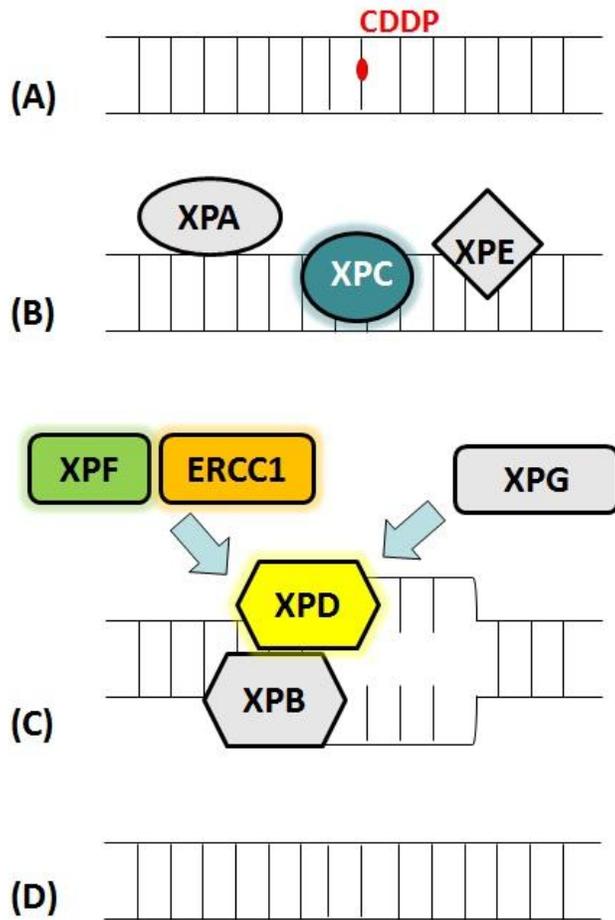
Entretanto, a principal atividade antitumoral da CDDP é atribuída à ligação ao DNA, com a formação de adutos (DNA-platina) inter e intracadeias, que induzem a parada do ciclo celular (GUMINSKI *et al.*, 2002; JOHNSON & O'DWYER, 2005; WANG & LIPPARD, 2005), com conseqüente inibição da transcrição e replicação,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

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

As proteínas codificadas pelos genes *xeroderma pigmentosum*, *complementation group A (XPA)*, *B (XPB)*, *C (XPC)*, *D (XPD)*, *F (XPF)*, *G (XPG)* e *excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1)* participam do reconhecimento, demarcação e remoção de adutos de DNA induzidos pela CDDP, por meio da via de reparo por excisão de nucleotídeos (NER), possibilitando o reparo da molécula (LI *et al.*, 1996; KHAN *et al.*, 2000; CHIPCHASE & MELTON, 2002; GOODE *et al.*, 2002; LEHMANN, 2003; BACCARELLI *et al.*, 2004; COSTA & MENCK, 2004; HAN *et al.*, 2005; GILLET & SCHÄRER, 2006; CLINGEN *et al.*, 2007; LAINÉ *et al.*, 2007; ZHU *et al.*, 2008; DE CASTRO *et al.*, 2011; REED, 2011) (**Figura 2**).



**Figura 1.** Metabolismo da cisplatina (CDDP). **(A)** Influxo da CDDP, através dos receptores de influxo de cobre CTR1 e CTR2. **(B)** As glutiona S-transferases (GSTs) mu1 (GSTM1), theta1 (GSTT1) e Pi1 (GSTP1) conjugam a CDDP com glutiona (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.** Mecanismo de reparo do genoma global por excisão de nucleotídeos (NER). A via de reparo de DNA por excisão de nucleotídeos (NER) é importante para manter a estabilidade do material genético. **(A)** A atividade antitumoral da cisplatina (CDDP) é atribuída à ligação ao DNA, com a formação de adutos (DNA-platina) inter e intracadeias. **(B)** O reconhecimento da lesão pela via NER e o recrutamento da maquinaria de reparo para o sítio lesado é feito pelas proteínas XPA, XPC e, provavelmente com a ajuda da XPE. **(C)** Demarcação da lesão e separação da fita dupla do DNA são feitas pelas proteínas XPB e XPD, que tem função de DNA helicase. A incisão e remoção do sítio lesado são realizadas pelas endonucleases XPF, ERCC1 e XPG. **(D)** Após a incisão e remoção do fragmento anormal, uma enzima DNA polimerase sintetiza a nova fita de DNA utilizando como molde a fita intacta (Adaptado de CANEVARI & ROGATTO, 2004)

Os efeitos colaterais da CDDP são variáveis em indivíduos diversos e doses únicas de 50 mg/m<sup>2</sup> podem gerar efeitos colaterais significantes, como náuseas, vômitos, mielossupressão, mucosite (quando a CDDP é associada à RT), nefrotoxicidade, ototoxicidade e neuropatia periférica, com conseqüente morbidade e comprometimento da qualidade de vida em alguns indivíduos, mas doses maiores são necessárias para determinar os mesmos efeitos em outros indivíduos 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. Já, inúmeras proteínas que atuam no influxo e efluxo (FUKUSHIMA-UESAKA *et al.*, 2009; XU *et al.*, 2012a; XU *et al.*, 2012b) e na detoxificação da CDDP (OLDENBURG *et al.*, 2007; RUWALI *et al.*, 2009; KHRUNIN *et al.*, 2010), no reparo de lesões de DNA induzida por CDDP (CAMPS *et al.*, 2003; QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006; MATAKIDOU *et al.*, 2007; CARONIA *et al.*, 2009; KHRUNIN *et al.*, 2010) e na indução de células por ela lesadas à apoptose (HAN *et al.*, 2008; KIM *et al.*, 2009; SHIRAISHI *et al.*, 2010) são codificadas por genes polimórficos.

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

### 5.1. *XPC*, *XPD*, *XPF*, *ERCC1* e via NER de reparo de lesões de DNA

O polimorfismo *XPC* A2920C ou Lys939Gln (rs2228001), no éxon 15 do gene, caracteriza-se por alelos selvagem e variante com as bases nitrogenadas adenina (A) e citosina (C) e aminoácidos lisina (Lys) e glutamina (Gln), respectivamente. A proteína codificada pelo alelo variante pode estar relacionada com menor capacidade de reparo de DNA do que a codificada pelo alelo selvagem (ZHU *et al.*, 2008). Os genótipos Lys/Lys, Lys/Gln e Gln/Gln foram identificados em 32-44%, 46-55% e 7-18% de indivíduos saudáveis de populações variadas, respectivamente (SHEN *et al.*, 2005; LI *et al.*, 2006; MILLIKAN *et al.*, 2006; AN *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2008; ABBASI *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

O polimorfismo *XPD* G23591A ou Asp312Asn (rs1799793), no éxon 10 do gene, caracteriza-se por alelos selvagem e variante com as bases nitrogenadas guanina (G) e adenina (A) e aminoácidos aspartato (Asp) e asparagina (Asn), respectivamente. A proteína codificada pelo alelo variante pode estar relacionada com menor capacidade de reparo de DNA do que a codificada pelo alelo selvagem (QIAO *et al.*, 2002). Os genótipos selvagem Asp/Asp e variantes Asp/Asn e Asn/Asn foram identificados em 40-50%, 39-47% e 11-17% dos indivíduos saudáveis de populações diversas (LI *et al.*, 2006; MILLIKAN *et al.*, 2006; ZIENOLDDINY *et al.*, 2006; AN *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2007; ABBASI *et al.*, 2009). Outro polimorfismo *XPD* A35931C ou Lys751Gln (rs13181), no éxon 23 do gene, caracteriza-se por alelos selvagem e variante com as bases nitrogenadas adenina (A) e citosina (C) e aminoácidos lisina (Lys) e glutamina (Gln), respectivamente. A proteína codificada pelo alelo variante pode estar relacionada com menor capacidade de reparo de DNA do que a codificada pelo alelo selvagem (QIAO *et al.*, 2002). Os genótipos selvagem Lys/Lys, Lys/Gln e Gln/Gln foram identificados em 39-47%, 40-47% e 10-18% de indivíduos saudáveis de populações diversas (LI *et al.*, 2006; MILLIKAN *et al.*, 2006; AN *et al.*, 2007; POVEY *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2007; ABBASI *et al.*, 2009).

O polimorfismo *XPF* T30028C ou Ser835Ser (rs1799801), no éxon 11 do gene, caracteriza-se por alelos selvagem e variante com as bases nitrogenadas timina (T) e citosina (C) e aminoácidos serina (Ser), respectivamente. Os diferentes alelos não acarretam alterações na proteína codificada, entretanto o alelo variante pode influenciar na estabilidade ou estrutura do RNA mensageiro, afetar os níveis de expressão da proteína e, ainda, pode estar relacionado com menor capacidade de reparo de DNA

(WINSEY *et al.*, 2000). Porém, estudos adicionais são necessários para comprovar tais achados. Os genótipos TT, TC e CC foram identificados em 51-66%, 29-41% e 8-10% de indivíduos saudáveis de várias populações (SHEN *et al.*, 2005; POVEY *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2013).

O polimorfismo *ERCC1* C118T ou Asn118Asn (rs11615), no éxon 4 do gene, caracteriza-se por alelos selvagem e variante com as bases nitrogenadas citosina (C) e timina (T) e aminoácidos asparagina (Asn), respectivamente. Os diferentes alelos não acarretam alterações na proteína codificada, entretanto o alelo variante pode apresentar conseqüente redução nos níveis de RNA mensageiro e proteína e, ainda, pode estar relacionado com menor capacidade de reparo de DNA (YU *et al.*, 2000). Porém, estudos adicionais são necessários para comprovar tais achados. Os genótipos CC, CT e TT foram identificados em 28-42%, 43-51% e 13-20% dos indivíduos saudáveis de populações variadas, respectivamente (ZIENOLDDINY *et al.*, 2006; ABBASI *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2009b).

## **6. Polimorfismos gênicos, metabolismo e efeitos da CDDP**

Há poucos e controversos relatos sobre os papéis de polimorfismos em genes de reparo de DNA com toxicidade, resposta terapêutica e sobrevida em pacientes com tumores diversos tratados com esquemas de QT baseados em CDDP.

Pacientes com câncer de pâncreas (KAMIKOZURU *et al.*, 2008) e câncer de pulmão de células não pequenas (ZHOU *et al.*, 2004; ZHOU *et al.*, 2010; REN *et al.*, 2012), tratados com QT baseada em CDDP e portadores do alelo variante (T) do polimorfismo C118T do gene *ERCC1*, apresentaram maior taxa de resposta ao tratamento e maior sobrevida global e livre de progressão, quando comparados aos pacientes portadores do alelo selvagem (C).

Pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas portadores do alelo variante (Asn) do polimorfismo *XPD10* Asp312Asn e que foram tratados com esquemas quimioterápicos baseados em CDDP apresentaram menor sobrevida global do que os demais (GURUBHAGAVATULA *et al.*, 2004). O genótipo selvagem Lys/Lys do polimorfismo *XPD23* Lys751Gln foi associado a longa sobrevida em pacientes com tumor de células escamosas de pulmão (REN *et al.*, 2012). Portadores de tumor de esôfago com os alelos variantes dos polimorfismos *XPD10* Asp312Asn e *XPD23* Lys751Gln apresentaram maior sobrevida do que aqueles com os demais quando tratados com CDDP (BRADBURY *et al.*, 2009). Ainda, sobrevidas similares foram

observadas em pacientes com câncer de pulmão de células não pequenas, com os genótipos distintos dos polimorfismos *XPB10 Asp312Asn* e *XPB23 Lys751Gln* e que foram tratados com esquemas similares de QT (RYU *et al.*, 2004; WEI *et al.*, 2011). O acúmulo dos alelos variantes dos polimorfismos *XPB10 Asp312Asn* e *XPB23 Lys751Gln* foram relacionados com maior resposta terapêutica do que os demais (QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006).

Considerando que não foram ainda estabelecidos as influências dos polimorfismos em genes de reparo de DNA pela via de NER com toxicidade, resposta terapêutica e sobrevida em pacientes com CECCP tratados com CDDP associado à RT, bem como com a cinética da CDDP, 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 *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPD* T30028C e *ERCC1* C118T estão associados à taxa de resposta ao esquema terapêutico de CDDP associada à RT,
- Verificar se os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPD* T30028C e *ERCC1* C118T estão associados à toxicidade do esquema CDDP associada à RT e,
- Verificar se os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPD* T30028C e *ERCC1* C118T 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/m<sup>2</sup>/dose; D1, D22 e D43) associada à RT (70 Gy; 35 sessões) como tratamento neoadjuvante, definitivo ou paliativo da doença (portadores de tumor não submetidos a ressecção cirúrgica); 3) pacientes com função renal (ClCr  $>$  50 mL/min/1,73m<sup>2</sup>) e condição clínica (*Karnofsky performance status* [KPS]  $>$  que 60%) satisfatórias; 4) pacientes que assinaram o termo de consentimento informado.

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

O tamanho amostral do estudo teve como base as frequências dos genótipos de cada polimorfismo gênico em portadores de câncer de nossa população (DE CASTRO *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2013) e de outras populações (SHEN *et al.*, 2005; ZIENOLDDINY *et al.*, 2006; AN *et al.*, 2007; POVEY *et al.*, 2007; WANG *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2008; ABBASI *et al.*, 2009; YANG *et al.*, 2009b). E, 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 o reparo por excisão de nucleotídeos em câncer

Polimorfismo	Número total de pacientes	Genótipos			Tamanho amostral	Tipo de câncer	Referência
		Selvagem N (%)	Heterozigoto N (%)	Variante N (%)			
		<b>Lys/Lys</b>	<b>Lys/Gln</b>	<b>Gln/Gln</b>			
<b>XPC Lys939Gln</b> rs2228001	829	312 (37,7)	399 (48,1)	118 (14,2)	69	Cabeça e pescoço	AN <i>et al.</i> , 2007
	153	66 (43,1)	75 (49,1)	12 (7,8)	90	Cabeça e pescoço	YANG <i>et al.</i> , 2008
	146	59 (40,4)	65 (44,5)	22 (15,1)		Melanoma	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2013
	128	48 (37,5)	58 (45,3)	22 (17,2)	64	Cabeça e pescoço	WANG <i>et al.</i> , 2007
	114	43 (38,0)	50 (44,0)	21 (18,0)	63	Pulmão	SHEN <i>et al.</i> , 2005
		<b>Asp/Asp</b>	<b>Asp/Asn</b>	<b>Asn/Asn</b>			
<b>XPD10 Asp312Asn</b> rs1799793	829	330 (39,8)	395 (47,6)	104 (12,6)	75	Cabeça e pescoço	AN <i>et al.</i> , 2007
	246	93 (38,0)	119 (48,0)	34 (14,0)	70	Cabeça e pescoço	ABBASI <i>et al.</i> , 2009
	275	119 (43,2)	102 (37,1)	54 (19,7)	69	Pulmão	ZIENOLDDINY <i>et al.</i> , 2006
	125	50 (40,0)	59 (47,2)	16 (12,8)	74	Cabeça e pescoço	WANG <i>et al.</i> , 2007
		<b>Lys/Lys</b>	<b>Lys/Gln</b>	<b>Gln/Gln</b>			
<b>XPD23 Lys751Gln</b> rs13181	829	330 (39,8)	394 (47,5)	105 (12,7)	75	Cabeça e pescoço	AN <i>et al.</i> , 2007
	246	95 (39,0)	117 (48,0)	34 (14,0)	71	Cabeça e pescoço	ABBASI <i>et al.</i> , 2009
	144	46 (31,9)	77 (53,5)	21 (14,6)	60	Cabeça e pescoço	WANG <i>et al.</i> , 2007
		<b>TT</b>	<b>TC</b>	<b>CC</b>			
<b>XPF T30028C</b> rs1799801	506	236 (46,6)	233 (46,1)	37 (7,3)	98	Melanoma	POVEY <i>et al.</i> , 2007
	146	74 (50,7)	58 (39,7)	14 (9,6)		Melanoma	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2013
	117	69 (59,1)	40 (34,1)	8 (6,8)	135	Pulmão	SHEN <i>et al.</i> , 2005

		<b>CC</b>	<b>CT</b>	<b>TT</b>			
<b>ERCC1 C118T</b>	248	103 (42,0)	114 (46,0)	31 (13,0)	78	Cabeça e pescoço	ABBASI <i>et al.</i> , 2009
rs11615	267	104 (39,0)	121 (45,3)	42 (15,7)	68	Cabeça e pescoço	YANG <i>et al.</i> , 2009b
	49	18 (37,0)	19 (39,0)	12 (24,0)	55	Cabeça e pescoço	DE CASTRO <i>et al.</i> , 2011

(N) número de pacientes

## 1. Aspectos clínicos e do tumor

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

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

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

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

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

A classificação dos pacientes por hábito de fumar foi realizada com o uso do índice de tabagismo (IT) (JINDAL *et al.*, 1982; SINGH *et al.*, 2011; SINGH *et al.*, 2012). O IT é definido de acordo com o número de cigarros fumados por dia multiplicado pelo número de anos de tabagismo. Baseado 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

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

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

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

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

Os resultados dos exames necessários à localização do tumor foram obtidos das informações médicas e de dados do prontuário de cada paciente. Os pacientes foram classificados como portadores de tumores da cavidade oral (mucosa oral, palato duro, língua e assoalho de boca), faringe (orofaringe e hipofaringe) e laringe (supraglote, glote, 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 pela equipe do 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 e sempre que necessário, de acordo com o procedimento padrão (MENDENHALL *et al.*, 2011). Os pacientes foram submetidos à avaliação de função renal por meio da taxa de filtração glomerular (TFG) com ácido etilendiamino-tetracético marcado com cromo-<sup>51</sup> (EDTA-<sup>51</sup>Cr), no Serviço de Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas da UNICAMP, pela equipe do Prof. Dr. Celso Dario Ramos .

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

## **2. Terapêutica de pacientes com 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, 8 mg 8/8 horas de ondansetrona e 8 mg 12/12 horas de dexametasona; D2, D3, e D4) (Adaptado de CUNNINGHAM *et al.*, 1996 e 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/m<sup>2</sup>/dose nos dias D1, D22 e D43, à pacientes com condição física ideal (KPS entre 80-100%) e sem comorbidades renal, neurológica ou cardiológica. Aqueles com KPS entre 60-70% ou 80-100% com

comorbidade renal, neurológica ou cardiológica, receberam CDDP intravenosa na dose de 80 mg/m<sup>2</sup>/dose nos dias D1, D22 e D43 (MENDENHALL *et al.*, 2011). Hemograma e dosagens de uréia e Cr foram realizadas antes de cada administração de CDDP. Reduções nas doses (75% ou 50%) ou suspensão da CDDP foram realizadas em pacientes com toxicidades graus 3 e 4. A RT com dose de 70 Gy foi fracionada em 35 aplicações diárias de 2 Gy, 5 dias por semana, durante 7 semanas. Os aparelhos utilizados para radiação são o Cobalto-60 (modelo Alcyon 2, GE, França) e Acelerador Linear (6 MV) (modelo 2100, Varian, EUA).

### **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 CIGre, TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr e audiometria tonal limiar por via aérea 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 *XPC* Lys939Gln (LIANG *et al.*, 2007), *XPD*10 Asp312Asn (SPITZ *et al.*, 2001), *XPD*23 Lys751Gln (SPITZ *et al.*, 2001), *XPF* T30028C (POVEY *et al.*, 2007), *ERCC1* C118T (WANG *et al.*, 2006) foram amplificadas por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando uma mistura de água estéril, tampão com (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10x), MgCl<sub>2</sub> (25 mM), dNTP (40 mM), iniciadores (10 pmoles/μL), enzima *Taq* DNA polimerase (2,5 u) e DNA (a partir de 50 ng).

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

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

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

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

**Tabela 4.** Condições para genotipagem dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPD* Lys751Gln, *XPFT*30028C e *ERCC1* C118T

Polimorfismo	Sequências de iniciadores	Reação	PCR (pb)	Enzima	Produtos (pb)	Genótipos
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b> rs2228001	5'ACCAGCTCTCAAGCAGAAGC3' 5'CTGCCTCAGTTTGCCTTCTC3'	94 °C – 5 min (1x)	281	<i>PvuII</i>	281 281, 150 e 131 150 e 131	Lys/Lys Lys/Gln Gln/Gln
		94 °C – 1 min (32x)				
		60 °C – 1 min (32x)				
		72 °C – 1 min (32x)				
		72 °C – 5 min (1x)				
<b><i>XPB</i> Asp312Asn</b> rs1799793	5'CTGTTGGTGGGTGCCCGTATCTGTTGG3' 5'TAATATCGGGGCTCACCCCTGCAGCACTTCCT3'	94 °C – 4 min (1x)	751	<i>StyI</i>	507 e 244 507, 474, 244 e 33 474, 244 e 33	Asp/Asp Asp/Asn Asn/Asn
		94 °C – 45 seg (38x)				
		60 °C – 45 seg (38x)				
		72 °C – 1 min e 30 seg (38x)				
		72 °C – 5 min (1x)				
<b><i>XPD</i> Lys751Gln</b> rs13181	5'GCCCCGCTCTGGATTATACG3' 5'CTATCATCTCCTGGCCCCC3'	94 °C – 5 min (1x)	436	<i>PstI</i>	290 e 146 290, 227, 146 e 63 227, 146 e 63	Lys/Lys Lys/Gln Gln/Gln
		94 °C – 1 min (32x)				
		60 °C – 1 min (32x)				
		72 °C – 1 min (32x)				
		72 °C – 5 min (1x)				
<b><i>XPFT</i>30028C</b> rs1799801	5'TCTCCATGTCCCGCTACTAC3' 5'GCAGGCACAGGCAAGTTCAA3'	94 °C – 5 min (1x)	709	<i>AlwNI</i>	442 e 267 709, 442 e 267 709	TT TC CC
		94 °C – 1 min (32x)				
		67 °C – 1 min (32x)				
		72 °C – 1 min (32x)				
		72 °C – 5 min (1x)				

---

		94 °C – 5 min (1x)				
<b>ERCC1 C118T</b>	5'CGGGGACCCTTTAGGAAAG3'	94 °C – 30 seg (35x)			474	CC
rs11615	5'GGCTTCTCATAGAACAGTCC3'	55 °C – 30 seg (35x)	474	<i>BsrDI</i>	474, 311 e 163	CT
		72 °C – 30 seg (35x)			311 e 163	TT
		72 °C – 5 min (1x)				

---

(pb) pares de base

## 5. Taxa de resposta ao tratamento

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

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

Foi considerada como resposta completa, a caracterizada pelo desaparecimento total das lesões, alvo e não alvo, na ausência de novas lesões. Foi considerada resposta parcial, aquela caracterizada por redução maior ou igual a 30% da soma das lesões alvo e não alvo, na ausência de novas lesões. Foi considerada doença progressiva, quando houve aumento maior ou igual a 20% da soma das lesões alvo e não alvo. Foi considerada doença estável, quando não houve resposta completa, parcial ou progressão da doença (**Tabela 5**).

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

<b>Lesões alvo</b>	<b>Lesões não alvo</b>	<b>Novas lesões</b>	<b>Resposta global</b>
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), versão 4.0. 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 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*\*

<b>Efeito adverso</b>	<b>Grau 1</b>	<b>Grau 2</b>	<b>Grau 3</b>	<b>Grau 4</b>
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; indicadas 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*\*

<b>Efeito adverso</b>	<b>Valor de referência</b>	<b>Grau 1</b>	<b>Grau 2</b>	<b>Grau 3</b>	<b>Grau 4</b>
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 <sup>3</sup>	< LIN-3000/mm <sup>3</sup>	< 3000 - 2000/mm <sup>3</sup>	< 2000 - 1000/mm <sup>3</sup>	< 1000/mm <sup>3</sup>
Neutrófilos	2000 - 8000/mm <sup>3</sup>	< LIN-1500/mm <sup>3</sup>	< 1500 - 1000/mm <sup>3</sup>	< 1000 - 500/mm <sup>3</sup>	< 500/mm <sup>3</sup>
Linfócitos	1000 - 4000/mm <sup>3</sup>	< LIN-800/mm <sup>3</sup>	< 800 - 500/mm <sup>3</sup>	< 500 - 200/mm <sup>3</sup>	< 200/mm <sup>3</sup>
Plaquetas	150000 - 400000/mm <sup>3</sup>	< LIN-75000/mm <sup>3</sup>	< 75000 - 50000/mm <sup>3</sup>	< 50000 - 25000/mm <sup>3</sup>	< 25000/mm <sup>3</sup>

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

## 6.2. Ototoxicidade

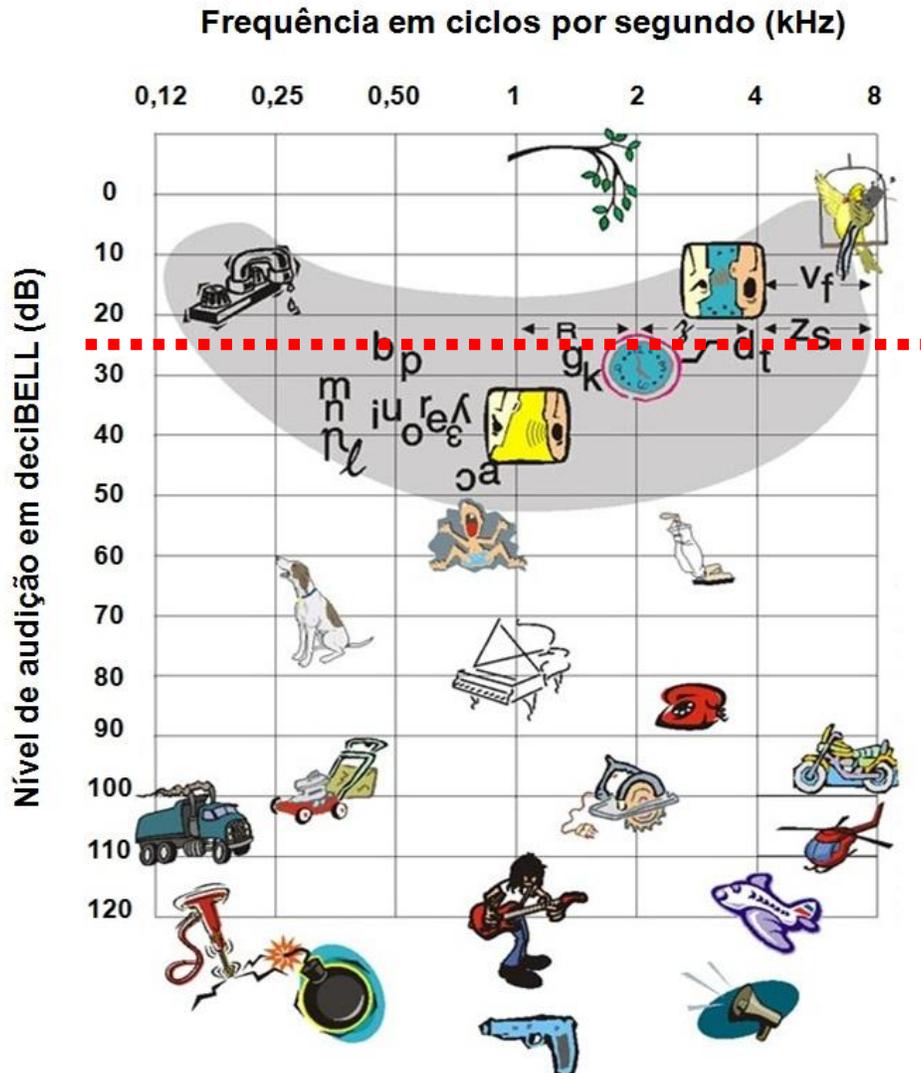
A acuidade auditiva de cada paciente foi medida antes do início do tratamento e 30 dias após o término da terapêutica, com o intuito de avaliar a ototoxicidade atribuída à CDDP associada à RT.

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. Limiares auditivos menores do que 25 decibels (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 por audiometria tonal limiar por via aérea, que 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), versão 4.0 (**Tabela 8**).



**Figura 3.** Audiograma de sons familiares. 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 de normalidade, é preciso que esteja ouvindo todas as frequências (graves, médias e agudas) no 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 a perda auditiva da pessoa e, conseqüentemente, todos os sons ilustrados neste audiograma não serão percebidos, podendo-se assim avaliar o impacto da perda auditiva na vida da pessoa (Adaptado de DAVIS & SILVERMAN, 1970; NORTHERN & DOWNS, 1984; RUSSO & BEHLAU, 1993)

**Tabela 8.** Graus de ototoxicidade segundo critérios do *National Cancer Institute*\*

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

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

### **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  $\text{ClCr} = [140 - \text{idade (anos)}] \times \text{peso (kg)} / \text{Cr plasmática (mg/dL)} \times 72$  (x 0,85 se mulher) (COCKCROFT & GAULT, 1976).

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

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

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

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

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

## **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 CDDP 1.000 µg/mL (Accord farmacêutica Ltda, São Paulo, SP, Brasil), para obter concentrações finais de 0,10; 0,25; 0,50; 1,00; 2,50; 5,00; 7,50 e 10,00 µg/mL.

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

#### **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 NiCl<sub>2</sub> (solução de 300 µg/mL), como padrão interno (PI) e 1000 µL de dietilditiocarbamato (DDTC) a 10% (em NaOH 0,1 M), como derivatizante a cada amostra de urina. Cada uma delas foi homogeneizada e incubada a 25 °C por uma hora. Após incubação, foi adicionado 1000 µL de clorofórmio a cada amostra, com o intuito de extrair o PI e a CDDP

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

## **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 µM 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 µL 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 ( $\chi^2$ ).

A regressão logística múltipla foi feita para obter a razão das chances (ORs), ajustadas por eventuais discrepâncias específicas para cada variável categórica (taxa de resposta, náuseas, vômitos, anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia, plaquetopenia e ototoxicidade), considerando um intervalo de confiança (IC) de 95%.

A ANOVA foi realizada para medidas repetidas, ajustadas por eventuais discrepâncias específica para cada variável contínua (ClCr, TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr, perda auditiva e concentração de CDDP urinária). Estas variáveis foram transformadas em postos para realização da análise comparativa, uma vez que não apresentaram distribuição normal.

O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5% ( $P < 0,05$ ).

As análises foram realizadas por estatísticos da Câmara de Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, com a utilização dos programas estatísticos *Statistical Package for the Social Sciences* versão 15.0 (SPSS Incorporation, Chicago, IL, USA) e *Statistical Analysis System* versão 9.2 (SAS Institute Incorporation, Cary, NC, USA).

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

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

### 2. Aspectos clínicos e do tumor

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

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

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

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

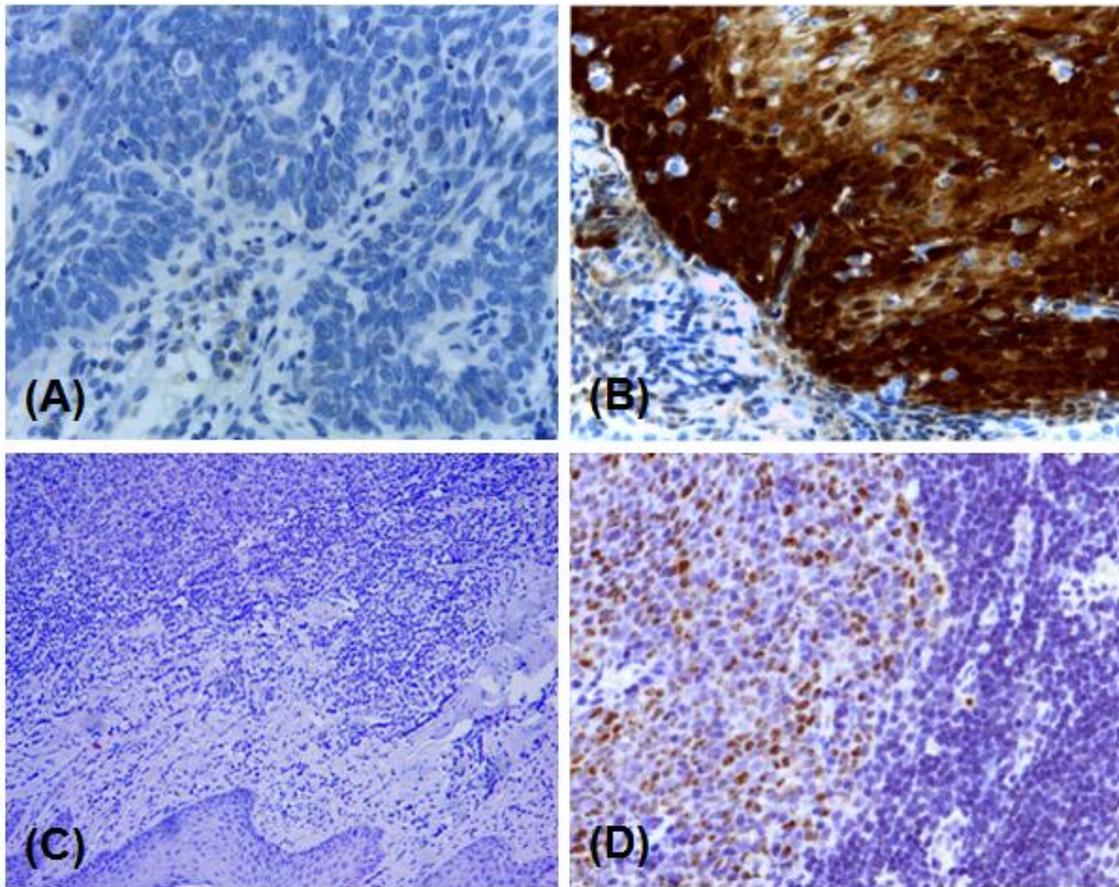
**Tabela 11.** Frequência das distribuições dos 90 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço tratados com cisplatina associada à radioterapia, de acordo com a localização, o grau de diferenciação, o estágio do tumor e a presença do papilomavírus humano

<b>Variáveis</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
<b>Sítio do tumor</b>	
Cavidade oral	11 (12,2)
Faringe	56 (62,2)
Laringe	23 (25,6)
<b>Região do tumor</b>	
Mucosa oral	3 (3,3)
Palato duro	1 (1,1)
Língua	5 (5,5)
Assoalho de boca	2 (2,2)
Orofaringe	40 (44,5)
Hipofaringe	16 (17,8)
Supraglote	15 (16,7)
Glote	7 (7,8)
Subglote	1 (1,1)
<b>Grau de diferenciação do tumor</b>	
Bem diferenciado	2 (2,2)
Moderadamente diferenciado	58 (64,4)
Pouco diferenciado	12 (13,4)
Indiferenciado	1 (1,1)
Não avaliado	17 (18,9)
<b>Estágio do tumor</b>	
I	1 (1,1)
II	5 (5,5)
III	14 (15,6)
IVa	54 (60,0)
IVb	16 (17,8)
<b>Imunohistoquímica para p16</b>	
Positiva	4 (4,4)
Negativa	53 (58,9)
Não avaliada	33 (36,7)
<b>Hibridização <i>in situ</i> para HPV</b>	
Positiva	0 (0,0)
Negativa	4 (100,0)

Observamos que cerca de metade da nossa casuística foi constituída por pacientes com idade maior do que 56 anos e com IMC reduzido. 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 e, que maioria dos nossos pacientes que puderam ser avaliados quanto ao grau de diferenciação do tumor, apresentou tumor moderadamente diferenciados. Já a maioria deles avaliados por estágio do tumor apresentou tumor de estágio avançado.

A expressão da p16 foi positiva e negativa em 4,4% e 58,9% dos casos, respectivamente. Já na hibridização *in situ* 100% dos casos foram negativos (**Figura 4**). Dessa forma, observamos que o HPV não foi identificado em fragmentos do tumor de nenhum dos casos em que a avaliação foi possível. Informamos que a presença do HPV não foi investigada em 33 casos, devido a dificuldade na obtenção de fragmentos adequados do tumor incluídos em parafina.



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

### 3. Terapêutica de pacientes com CCECP

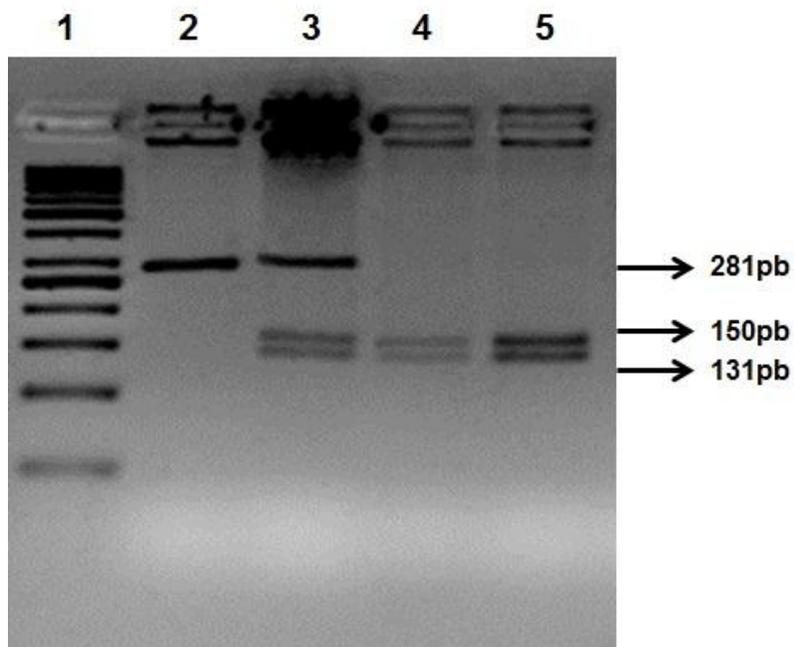
As distribuições individualizadas dos 90 pacientes com CCECP tratados com CDDP associada à RT, de acordo com as doses de CDDP efetivamente recebida em cada aplicação e a dose acumulada durante o tratamento completo, estão apresentadas no **Anexo 10**.

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

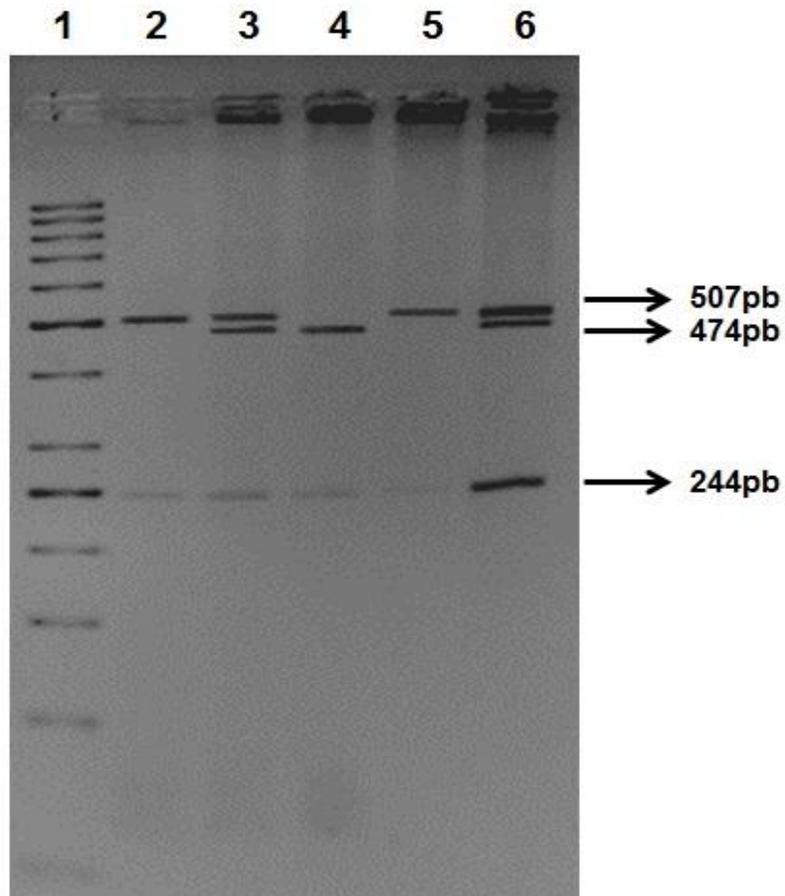
### 4. Análise dos genótipos dos polimorfismos gênicos

Os genótipos distintos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB10* Asp312Asn, *XPB23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T, estão representados nas **Figuras 5, 6, 7, 8 e 9**, respectivamente.

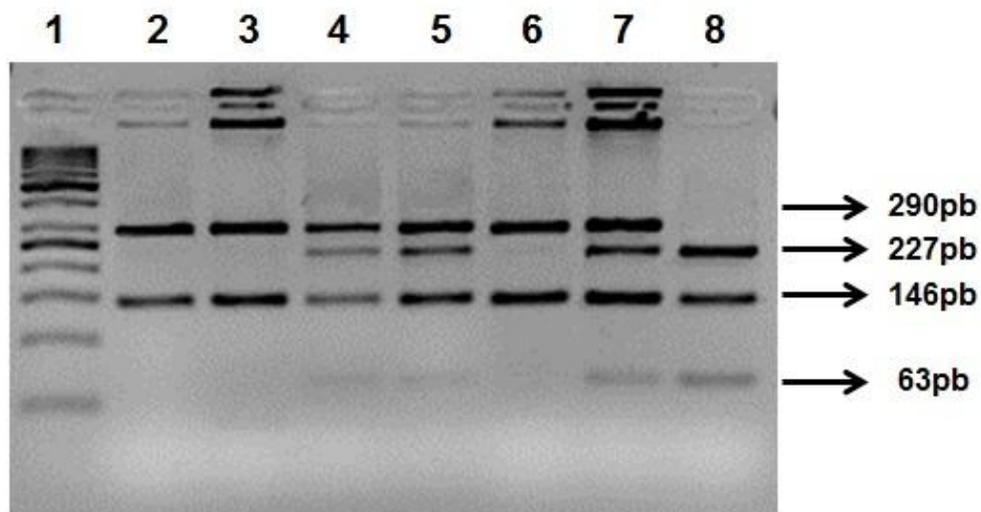
As frequências das distribuições dos 90 pacientes, de acordo com os genótipos e alelos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB10* Asp312Asn, *XPB23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T, estão apresentadas na **Tabela 12**.



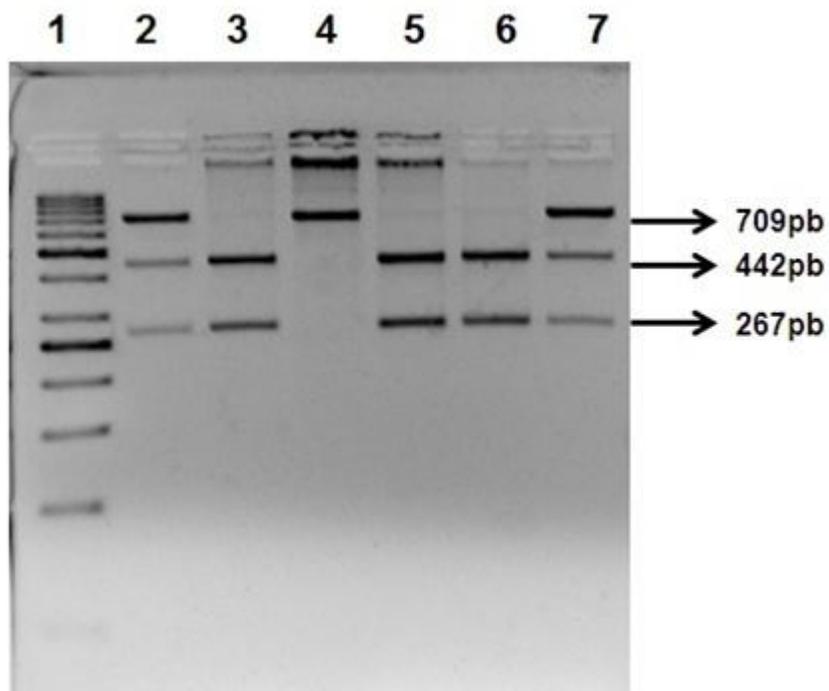
**Figura 5.** Produtos da digestão enzimática com a enzima *PvuII* de fragmentos de interesse do gene *XPC* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo Lys939Gln em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Fragmentos de 281 pb corresponde ao alelo selvagem Lys. Fragmentos de 150 e 131 pb correspondem ao alelo variante Gln. O marcador do tamanho do DNA, ladder de 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduo com o genótipo homocigoto selvagem Lys/Lys está representado na coluna 2. Indivíduo com o genótipo heterocigoto Lys/Gln está representado na coluna 3. Indivíduos com o genótipo homocigoto variante Gln/Gln estão apresentados nas colunas 4 e 5



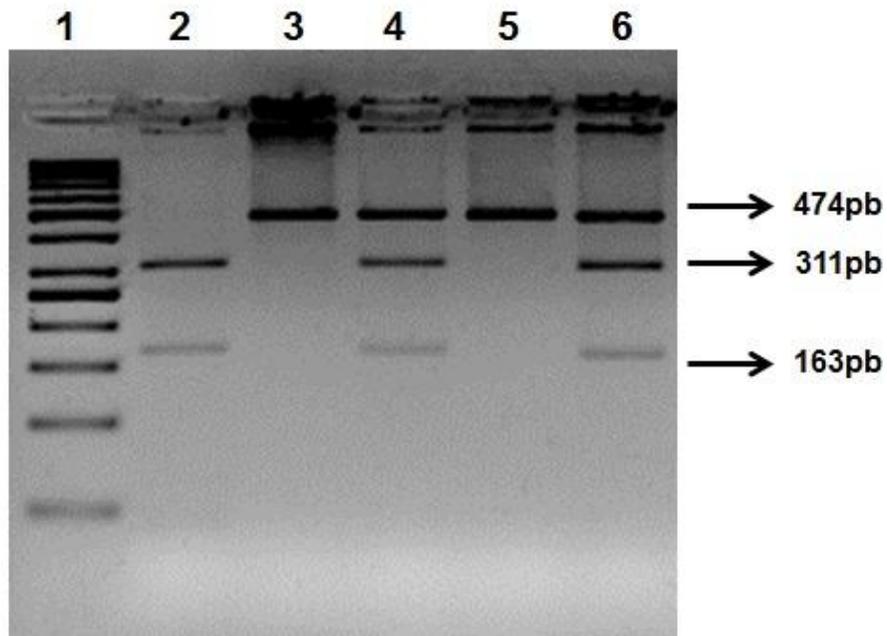
**Figura 6.** Produtos da digestão enzimática com a enzima *Styl* de fragmentos de interesse do gene *XPD* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo Asp312Asn em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Fragmentos de 507 e 244 pb correspondem ao alelo selvagem Asp. Fragmentos de 474, 244 e 33 pb (não visualizado) correspondem ao alelo variante Asn. O marcador do tamanho do DNA, ladder de 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo homocigoto selvagem Asp/Asp estão representados nas colunas 2 e 5. Indivíduos com o genótipo heterocigoto Asp/Asn estão representados nas colunas 3 e 6. Indivíduo com o genótipo homocigoto variante Asn/Asn está apresentado na coluna 4



**Figura 7.** Produtos da digestão enzimática com a enzima *PstI* de fragmentos de interesse do gene *XPD* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo Lys751Gln em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Fragmentos de 290 e 146 pb correspondem ao alelo selvagem Lys. Fragmentos de 227, 146 e 63 pb correspondem ao alelo variante Gln. O marcador do tamanho do DNA, ladder de 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo homocigoto selvagem Lys/Lys estão representados nas colunas 2, 3 e 6. Indivíduos com o genótipo heterocigoto Lys/Gln estão representados nas colunas 4, 5 e 7. Indivíduo com o genótipo homocigoto variante Gln/Gln está apresentado na coluna 8



**Figura 8.** Produtos da digestão enzimática com a enzima *AlwNI* de fragmentos de interesse do gene *XPF* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo T30028C em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Fragmentos de 442 e 267 pb correspondem ao alelo selvagem T. Fragmento de 709 pb corresponde ao alelo variante C. O marcador do tamanho do DNA, ladder de 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo homocigoto selvagem TT estão representados nas colunas 3, 5 e 6. Indivíduos com o genótipo heterocigoto TC estão representados nas colunas 2 e 7. Indivíduo com o genótipo homocigoto variante CC está apresentado na coluna 4



**Figura 9.** Produtos da digestão enzimática com a enzima *BsrDI* de fragmentos de interesse do gene *ERCC1* amplificados por meio da reação em cadeia da polimerase, para detecção dos genótipos do polimorfismo C118T em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço. Gel de agarose 3% corado com brometo de etídio. Fragmento de 474 pb corresponde ao alelo selvagem C. Fragmentos de 311 e 163 pb correspondem ao alelo variante T. O marcador do tamanho do DNA, ladder de 50 pb, está representado na coluna 1. Indivíduos com o genótipo homocigoto selvagem CC estão representados nas colunas 3 e 5. Indivíduos com o genótipo heterocigoto CT estão representados nas colunas 4 e 6. Indivíduo com o genótipo homocigoto variante TT está apresentado na coluna 2

**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 e alelos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB10* Asp312Asn, *XPB23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T

Genótipos e Alelos	Número de pacientes (%)
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b> rs2228001	
Lys/Lys	32 (35,5)
Lys/Gln	45 (50,0)
Gln/Gln	13 (14,5)
Lys	109 (60,6)
Gln	71 (39,4)
<b><i>XPB10</i> Asp312Asn</b> rs1799793	
Asp/Asp	48 (53,3)
Asp/Asn	32 (35,6)
Asn/Asn	10 (11,1)
Asp	128 (71,1)
Asn	52 (28,9)
<b><i>XPB23</i> Lys751Gln</b> rs13181	
Lys/Lys	44 (48,9)
Lys/Gln	38 (42,2)
Gln/Gln	8 (8,9)
Lys	126 (70,0)
Gln	54 (30,0)
<b><i>XPF</i> T30028C</b> rs1799801	
TT	41 (45,5)
TC	42 (46,7)
CC	7 (7,8)
T	124 (68,9)
C	56 (31,1)
<b><i>ERCC1</i> C118T</b> rs11615	
CC	25 (27,8)
CT	49 (54,4)
TT	16 (17,8)
C	99 (55,0)
T	81 (45,0)

*XPC* Lys939Gln: (Lys/Lys) homozigoto selvagem, (Lys/Gln) heterozigoto, (Gln/Gln) homozigoto variante; *XPB10* Asp312Asn: (Asp/Asp) homozigoto selvagem, (Asp/Asn) heterozigoto, (Asn/Asn) homozigoto variante; *XPB23* Lys751Gln: (Lys/Lys) homozigoto selvagem, (Lys/Gln) heterozigoto, (Gln/Gln) homozigoto variante; *XPF* T30028C: (TT) homozigoto selvagem, (TC) heterozigoto, (CC) homozigoto variante e *ERCC1* C118T: (CC) homozigoto selvagem, (CT) heterozigoto, (TT) homozigoto variante

As amostras dos pacientes estiveram em equilíbrio de HW para os loci *XPC* Lys939Gln ( $\chi^2 = 1,92$ ,  $P = 0,61$ ), *XPD10* Asp312Asn ( $\chi^2 = 1,63$ ,  $P = 0,71$ ), *XPD23* Lys751Gln ( $\chi^2 = 0,003$ ,  $P = 0,70$ ), *XPF* T30028C ( $\chi^2 = 0,70$ ,  $P = 0,69$ ) e *ERCC1* C118T ( $\chi^2 = 0,89$ ,  $P = 0,55$ ).

Os genótipos selvagens *XPC* Lys/Lys, *XPD10* Asp/Asp, *XPD23* Lys/Lys, *XPF* TT e *ERCC1* CC, descritos como os que preservam a capacidade de reparo de DNA (WINSEY *et al.*, 2000; YU *et al.*, 2000; QIAO *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2008), foram considerados como referências na avaliação da influência dos polimorfismos na taxa de resposta, toxicidades e concentração de CDDP urinária. Já os genótipos variantes *XPC* Gln/Gln, *XPD10* Asn/Asn, *XPD23* Gln/Gln, *XPF* CC e *ERCC1* TT, descritos como associados a menor capacidade de reparo de DNA (WINSEY *et al.*, 2000; YU *et al.*, 2000; QIAO *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2008), 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 os tipos de resposta 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 tipos 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 avaliados ( $n = 72$ ) difere do total ( $n = 90$ ), pois parte dos pacientes não realizaram exame de imagem ao término da terapêutica

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

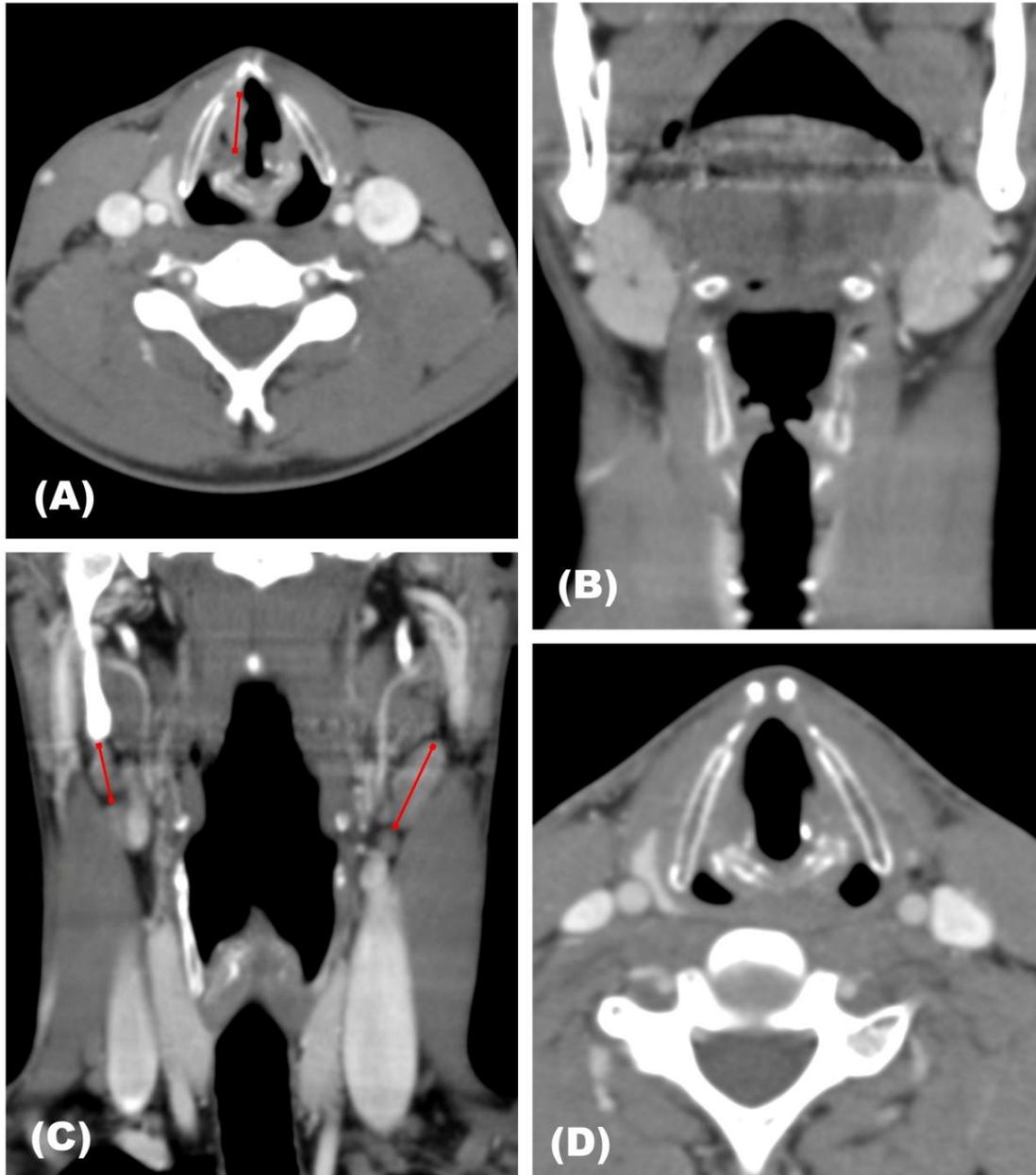
A evidente resposta clínica em região cervical em paciente com CCECP de faringe (caso 89) tratado com CDDP associada à RT está apresentada na **Figura 10**.

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 11**.

As frequências das distribuições dos 72 pacientes, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e os tipos de resposta obtidas com o tratamento estão apresentadas na **Tabela 14**.



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

**Tabela 14.** Frequências das distribuições dos 72 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e os tipos de resposta à terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	Taxa de resposta	
	Resposta completa N (%)	Resposta parcial + Doença estável N (%)
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>		
Lys/Lys+Lys/Gln*	12 (20,0)	48 (80,0)
Gln/Gln	3 (25,0)	9 (75,0)
Valor de <i>P</i>		0,36
OR (IC 95%)		2,16 (0,41-11,32)
Lys/Lys*	7 (30,4)	16 (69,6)
Lys/Gln+Gln/Gln	8 (16,3)	41 (83,7)
Valor de <i>P</i>		0,29
OR (IC 95%)		0,50 (0,14-1,82)
<b><i>XPD10</i> Asp312Asn</b>		
Asp/Asp+Asp/Asn*	<b>12 (18,5)</b>	53 (81,5)
Asn/Asn	<b>3 (42,9)</b>	4 (57,1)
Valor de <i>P</i>		<b>0,04</b>
OR (IC 95%)		<b>8,50 (1,02-70,70)</b>
Asp/Asp*	8 (21,6)	29 (78,4)
Asp/Asn+Asn/Asn	7 (20,0)	28 (80,0)
Valor de <i>P</i>		0,75
OR (IC 95%)		0,82 (0,24-2,75)
<b><i>XPD23</i> Lys751Gln</b>		
Lys/Lys+Lys/Gln*	13 (20,3)	51 (79,7)
Gln/Gln	2 (25,0)	6 (75,0)
Valor de <i>P</i>		0,97
OR (IC 95%)		1,03 (0,14-7,47)
Lys/Lys*	7 (20,6)	27 (79,4)
Lys/Gln+Gln/Gln	8 (21,1)	30 (78,9)
Valor de <i>P</i>		0,79
OR (IC 95%)		1,17 (0,34-3,94)

---

<b><i>XPFT30028C</i></b>		
TT+TC*	14 (21,5)	51 (78,5)
CC	1 (14,3)	6 (85,7)
Valor de <i>P</i>		0,66
OR (IC 95%)		0,58 (0,05-6,48)
TT*	7 (24,1)	22 (75,9)
TC+CC	8 (18,6)	35 (81,4)
Valor de <i>P</i>		0,55
OR (IC 95%)		0,68 (0,19-2,38)
<b><i>ERCC1 C118T</i></b>		
CC+CT*	12 (20,0)	48 (80,0)
TT	3 (25,0)	9 (75,0)
Valor de <i>P</i>		0,79
OR (IC 95%)		1,22 (0,26-5,61)
CC*	6 (28,6)	15 (71,4)
CT+TT	9 (17,6)	42 (82,4)
Valor de <i>P</i>		0,55
OR (IC 95%)		0,67 (0,18-2,48)

---

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

Observamos que pacientes com o genótipo variante Asn/Asn do polimorfismo *XPB10 Asp312Asn* apresentaram mais frequentemente resposta completa à terapêutica padrão do que pacientes com o alelo Asp (genótipo Asp/Asp ou Asp/Asn) (42,9% versus 18,5%,  $P= 0,04$ ). Pacientes com o genótipo variante Asn/Asn apresentaram sob chance de 8,50 vezes maior de apresentar resposta completa à terapêutica padrão do que os demais (IC 95%: 1,02-70,70).

Frequências similares dos polimorfismos *XPC Lys939Gln*, *XPB23 Lys751Gln*, *XPF T30028C* e *ERCC1 C118T* foram observadas em pacientes estratificados por taxas de resposta ao tratamento.

## 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**. Já a distribuição dos 84 pacientes, de acordo com os graus de mielossupressão com o tratamento estão apresentadas na **Tabela 16**.

Informamos que não foi possível avaliar o grau de náuseas, vômitos e adesão aos antieméticos de dois pacientes (casos 1 e 6), devido a obtenção de 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 o exame hematológico em algum período do tratamento.

As frequências das distribuições dos 88 e 84 pacientes, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *XPC Lys939Gln*, *XPB10 Asp312Asn*, *XPB23 Lys751Gln*, *XPF T30028C* e *ERCC1 C118T* e os graus de náuseas, vômitos e mielossupressão com o tratamento estão apresentadas nas **Tabelas 17 e 18**, respectivamente.

**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

<b>Variáveis</b>	<b>Número de pacientes (%)</b>
<b>Náuseas</b>	
Grau 0	15 (17,0)
Grau 1	22 (25,0)
Grau 2	40 (45,5)
Grau 3	11 (12,5)
<b>Vômitos</b>	
Grau 0	38 (43,2)
Grau 1	21 (23,8)
Grau 2	19 (21,6)
Grau 3	10 (11,4)
Grau 4	0 (0,0)
<b>Adesão ao tratamento</b>	
Alta	64 (72,7)
Média	22 (25,0)
Não	2 (2,3)

O número de pacientes avaliados (n= 88) difere do total (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

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

O número de pacientes avaliados (n= 84) difere do total (n= 90), pois seis dos nossos casos não realizaram exame hematológico durante a terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

**Tabela 17.** Frequências das distribuições dos 88 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB10* Asp312Asn, *XPB23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e graus de náuseas e vômitos durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	Náuseas				Vômitos	
	G0	G1+G2+G3	G0+G1	G2+G3	G0	G1+G2+G3+G4
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>						
Lys/Lys+Lys/Gln*	13 (17,1)	63 (82,9)	32 (42,1)	44 (57,9)	34 (44,7)	42 (55,3)
Gln/Gln	2 (16,7)	10 (83,3)	5 (41,7)	7 (58,3)	4 (33,3)	8 (66,7)
Valor de <i>P</i>	0,89		0,79		0,51	
OR (IC 95%)	1,11 (0,21-5,88)		1,19 (0,31-4,51)		1,57 (0,40-6,12)	
Lys/Lys*	5 (15,6)	27 (84,4)	11 (34,4)	21 (65,6)	12 (37,5)	20 (62,5)
Lys/Gln+Gln/Gln	10 (17,9)	46 (82,1)	26 (46,4)	30 (53,6)	26 (46,4)	30 (53,6)
Valor de <i>P</i>	0,80		0,27		0,48	
OR (IC 95%)	0,86 (0,25-2,86)		0,58 (0,22-1,52)		0,71 (0,28-1,81)	
<b><i>XPB10</i> Asp312Asn</b>						
Asp/Asp+Asp/Asn*	13 (16,7)	65 (83,3)	32 (41,0)	46 (59,0)	36 (46,2)	42 (53,8)
Asn/Asn	2 (20,0)	8 (80,0)	5 (50,0)	5 (50,0)	2 (20,0)	8 (80,0)
Valor de <i>P</i>	0,62		0,67		0,10	
OR (IC 95%)	0,65 (0,11-3,65)		0,73 (0,17-3,11)		4,04 (0,75-21,63)	
Asp/Asp*	6 (12,8)	41 (87,2)	16 (34,0)	<b>31 (66,0)</b>	20 (42,6)	27 (57,4)
Asp/Asn+Asn/Asn	9 (22,0)	32 (78,0)	21 (51,2)	<b>20 (48,8)</b>	18 (43,9)	23 (56,1)
Valor de <i>P</i>	0,18		<b>0,04</b>		0,85	
OR (IC 95%)	0,44 (0,13-1,46)		<b>0,38 (0,14-0,99)</b>		0,91 (0,37-2,26)	
<b><i>XPB23</i> Lys751Gln</b>						
Lys/Lys+Lys/Gln*	13 (16,3)	67 (83,7)	35 (43,8)	45 (56,2)	34 (42,5)	46 (57,5)
Gln/Gln	2 (25,0)	6 (75,0)	2 (25,0)	6 (75,0)	4 (50,0)	4 (50,0)
Valor de <i>P</i>	0,30		0,16		0,91	
OR (IC 95%)	0,37 (0,05-2,46)		3,50 (0,58-20,95)		0,92 (0,19-4,44)	

Lys/Lys*	7 (16,3)	36 (83,7)	17 (39,5)	26 (60,5)	17 (39,5)	26 (60,5)
Lys/Gln+Gln/Gln	8 (17,8)	37 (82,2)	20 (44,4)	25 (55,6)	21 (46,7)	24 (53,3)
Valor de <i>P</i>	0,63		0,46		0,54	
OR (IC 95%)	0,75 (0,23-2,43)		0,70 (0,27-1,80)		0,75 (0,30-1,89)	
<b>XPFT30028C</b>						
TT+TC*	11 (13,6)	<b>70 (86,4)</b>	33 (40,7)	48 (59,3)	32 (39,5)	<b>49 (60,5)</b>
CC	4 (57,1)	<b>3 (42,9)</b>	4 (57,1)	3 (42,9)	6 (85,7)	<b>1 (14,3)</b>
Valor de <i>P</i>	<b>0,02</b>		0,28		<b>0,02</b>	
OR (IC 95%)	<b>0,13 (0,02-0,74)</b>		0,39 (0,07-2,16)		<b>0,06 (0,007-0,67)</b>	
TT*	5 (12,5)	35 (87,5)	16 (40,0)	24 (60,0)	16 (40,0)	24 (60,0)
TC+CC	10 (20,8)	38 (79,2)	21 (43,8)	27 (56,2)	22 (45,8)	26 (54,2)
Valor de <i>P</i>	0,25		0,69		0,54	
OR (IC 95%)	0,49 (0,15-1,64)		0,83 (0,33-2,05)		0,75 (0,31-1,85)	
<b>ERCC1 C118T</b>						
CC+CT*	13 (17,8)	60 (82,2)	33 (45,2)	40 (54,8)	32 (43,8)	41 (56,2)
TT	2 (13,3)	13 (86,7)	4 (26,7)	11 (73,3)	6 (40,0)	9 (60,0)
Valor de <i>P</i>	0,70		0,15		0,69	
OR (IC 95%)	1,37 (0,27-6,93)		2,50 (0,69-9,03)		1,25 (0,39-4,02)	
CC*	2 (8,0)	23 (92,0)	11 (44,0)	14 (56,0)	7 (28,0)	<b>18 (72,0)</b>
CT+TT	13 (20,6)	50 (79,4)	26 (41,3)	37 (58,7)	31 (49,2)	<b>32 (50,8)</b>
Valor de <i>P</i>	0,18		0,88		<b>0,04</b>	
OR (IC 95%)	0,33 (0,06-1,66)		1,07 (0,39-2,95)		<b>0,33 (0,11-0,97)</b>	

(G0) grau 0; (G1) grau 1; (G2) grau 2; (G3) grau 3; (G4) grau 4; (N) número de pacientes; (\*) genótipo referência; (OR) razão das chances ajustadas por idade, dose de cisplatina acumulada e adesão ao tratamento; (IC) intervalo de confiança. O número de pacientes avaliados (n= 88) difere do total (n= 90), devido a falta de informações consistentes sobre náuseas e vômitos 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 *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e graus de mielossupressão durante terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	Anemia		Leucopenia		Neutropenia		Linfopenia		Plaquetopenia	
	G0+G1	G2+G3+G4	G0+G1	G2+G3+G4	G0+G1+G2	G3+G4	G0+G1+G2	G3+G4	G0	G1+G2+G3+G4
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>										
Lys/Lys+Lys/Gln*	30 (41,1)	43 (58,9)	40 (54,8)	33 (45,2)	58 (79,5)	15 (20,5)	36 (49,3)	37 (50,7)	46 (63,0)	27 (37,0)
Gln/Gln	7 (63,6)	4 (36,4)	7 (63,6)	4 (36,4)	9 (81,8)	2 (18,2)	6 (54,5)	5 (45,5)	8 (72,7)	3 (27,3)
Valor de <i>P</i>	0,16		0,55		0,89		0,74		0,50	
OR (IC 95%)	0,38 (0,10-1,47)		0,67 (0,17-2,51)		0,89 (0,17-4,61)		0,81 (0,22-2,90)		0,61 (0,14-2,55)	
Lys/Lys*	13 (43,3)	17 (56,7)	17 (56,7)	13 (43,3)	24 (80,0)	6 (20,0)	16 (53,3)	14 (46,7)	21 (70,0)	9 (30,0)
Lys/Gln+Gln/Gln	24 (44,4)	30 (55,6)	30 (55,6)	24 (44,4)	43 (79,6)	11 (20,4)	26 (48,1)	28 (51,9)	33 (61,1)	21 (38,9)
Valor de <i>P</i>	0,98		0,95		0,87		0,63		0,51	
OR (IC 95%)	0,99 (0,39-2,50)		1,02 (0,40-2,59)		1,09 (0,35-3,40)		1,25 (0,50-3,10)		1,38 (0,52-3,63)	
<b><i>XPD10</i> Asp312Asn</b>										
Asp/Asp+Asp/Asn*	35 (46,7)	40 (53,3)	41 (54,7)	34 (45,3)	59 (78,7)	16 (21,3)	38 (50,7)	37 (49,3)	48 (64,0)	27 (36,0)
Asn/Asn	2 (22,2)	7 (77,8)	6 (66,7)	3 (33,3)	8 (88,9)	1 (11,1)	4 (44,4)	5 (55,6)	6 (66,7)	3 (33,3)
Valor de <i>P</i>	0,11		0,57		0,43		0,63		0,81	
OR (IC 95%)	3,89 (0,73-20,64)		0,65 (0,14-2,91)		0,42 (0,04-3,71)		1,40 (0,34-5,75)		0,83 (0,18-3,69)	
Asp/Asp*	22 (50,0)	22 (50,0)	23 (52,3)	21 (47,7)	36 (81,8)	8 (18,2)	21 (47,7)	23 (52,3)	28 (63,6)	16 (36,4)
Asp/Asn+Asn/Asn	15 (37,5)	25 (62,5)	24 (60,0)	16 (40,0)	31 (77,5)	9 (22,5)	21 (52,5)	19 (47,5)	26 (65,0)	14 (35,0)
Valor de <i>P</i>	0,23		0,53		0,66		0,66		0,95	
OR (IC 95%)	1,72 (0,70-4,20)		0,75 (0,31-1,82)		1,26 (0,43-3,70)		0,82 (0,34-1,96)		0,97 (0,39-2,40)	
<b><i>XPD23</i> Lys751Gln</b>										
Lys/Lys+Lys/Gln*	32 (42,1)	44 (57,9)	44 (57,9)	32 (42,1)	61 (80,3)	15 (19,7)	37 (48,7)	39 (51,3)	51 (67,1)	25 (32,9)
Gln/Gln	5 (62,5)	3 (37,5)	3 (37,5)	5 (62,5)	6 (75,0)	2 (25,0)	5 (62,5)	3 (37,5)	3 (37,5)	5 (62,5)
Valor de <i>P</i>	0,47		0,17		0,82		0,55		0,12	
OR (IC 95%)	0,56 (0,12-2,66)		3,02 (0,62-14,67)		1,22 (0,21-7,12)		0,63 (0,13-2,94)		3,39 (0,71-16,18)	

Lys/Lys*	22 (53,7)	19 (46,3)	24 (58,5)	17 (41,5)	36 (87,8)	5 (12,2)	19 (46,3)	22 (53,7)	30 (73,2)	11 (26,8)
Lys/Gln+Gln/Gln	15 (34,9)	28 (65,1)	23 (53,5)	20 (46,5)	31 (72,1)	12 (27,9)	23 (53,5)	20 (46,5)	24 (55,8)	19 (44,2)
Valor de <i>P</i>	0,06		0,62		0,07		0,55		0,11	
OR (IC 95%)	2,51 (0,99-6,33)		1,24 (0,51-3,01)		2,83 (0,88-9,03)		0,77 (0,32-1,83)		2,08 (0,82-5,26)	
<b>XPFT30028C</b>										
TT+TC*	35 (45,5)	42 (54,5)	45 (58,4)	32 (41,6)	60 (77,9)	17 (22,1)	38 (49,4)	39 (50,6)	49 (63,6)	28 (36,4)
CC	2 (28,6)	5 (71,4)	2 (28,6)	5 (71,4)	7 (100,0)	0 (0,0)	4 (57,1)	3 (42,9)	5 (71,4)	2 (28,6)
Valor de <i>P</i>	0,56		0,21		0,99		0,58		0,68	
OR (IC 95%)	1,67 (0,29-9,58)		3,00 (0,52-17,10)		NA		0,64 (0,13-3,17)		0,69 (0,12-3,99)	
TT*	18 (48,6)	19 (51,4)	18 (48,6)	19 (51,4)	30 (81,1)	7 (18,9)	17 (45,9)	20 (54,1)	22 (59,5)	15 (40,5)
TC+CC	19 (40,4)	28 (59,6)	29 (61,7)	18 (38,3)	37 (78,7)	10 (21,3)	25 (53,2)	22 (46,8)	32 (68,1)	15 (31,9)
Valor de <i>P</i>	0,41		0,28		0,85		0,52		0,44	
OR (IC 95%)	1,44 (0,59-3,52)		0,61 (0,25-1,50)		1,10 (0,37-3,29)		0,75 (0,31-1,80)		0,70 (0,28-1,74)	
<b>ERCC1 C118T</b>										
CC+CT*	30 (43,5)	39 (56,5)	39 (56,5)	30 (43,5)	56 (81,2)	13 (18,8)	35 (50,7)	34 (49,3)	47 (68,1)	22 (31,9)
TT	7 (46,7)	8 (53,3)	8 (53,3)	7 (46,7)	11 (73,3)	4 (26,7)	7 (46,7)	8 (53,3)	7 (46,7)	8 (53,3)
Valor de <i>P</i>	0,84		0,77		0,51		0,76		0,11	
OR (IC 95%)	0,89 (0,28-2,79)		1,18 (0,38-3,68)		1,54 (0,42-5,68)		1,19 (0,38-3,66)		2,50 (0,79-7,84)	
CC*	10 (41,7)	14 (58,3)	16 (66,7)	8 (33,3)	21 (87,5)	3 (12,5)	11 (45,8)	13 (54,2)	16 (66,7)	8 (33,3)
CT+TT	27 (45,0)	33 (55,0)	31 (51,7)	29 (48,3)	46 (76,7)	14 (23,3)	31 (51,7)	29 (48,3)	38 (63,3)	22 (36,7)
Valor de <i>P</i>	0,57		0,29		0,20		0,53		0,75	
OR (IC 95%)	0,75 (0,27-2,02)		1,72 (0,62-4,73)		2,45 (0,61-9,87)		0,73 (0,27-1,94)		1,18 (0,42-3,26)	

(G0) grau 0; (G1) grau 1; (G2) grau 2; (G3) grau 3; (G4) grau 4; (N) número de pacientes; (\*) genótipo referência; (NA) não avaliado devido ao número reduzido de pacientes; (OR) razão das chances ajustadas por idade e dose de cisplatina acumulada; (IC) intervalo de confiança. O número de pacientes avaliados (n= 84) difere do total (n= 90), pois seis dos nossos casos não realizaram exame hematológico durante a terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Observamos que a maior parte dos pacientes apresentou náuseas e vômitos graus 1 e 2 e alta adesão aos antieméticos.

Observamos ainda que a maioria dos pacientes apresentou anemia, leucopenia e neutropenia graus 1 e 2, linfopenia graus 2 e 3 e plaquetopenia grau 1.

Os pacientes com o alelo Asn (genótipo Asp/Asn ou Asn/Asn) do polimorfismo *XPD10* Asp321Asn apresentaram menos náuseas de grau 2 ou 3 do que os pacientes com o genótipo Asp/Asp (48,8% *versus* 66,0%,  $P= 0,04$ ). Portadores do genótipo Asp/Asn ou Asn/Asn estiveram sob chance de 0,38 vezes menor de apresentar náuseas de grau 2 ou 3 do que aqueles com o genótipo Asp/Asp (IC 95%: 0,14-0,99).

Portadores do genótipo CC do polimorfismo *XPF* T30028C apresentaram menos náuseas do que os pacientes com o alelo T (genótipo TT ou TC) (42,9% *versus* 86,4%,  $P= 0,02$ ). Os pacientes com o genótipo CC estiveram sob chance de 0,13 vezes menor de apresentar náusea do que os demais (IC 95%: 0,02-0,74). Indivíduos com o genótipo CC apresentaram menos vômitos do que os pacientes com o alelo T (genótipo TT ou TC) (14,3% *versus* 60,5%,  $P= 0,02$ ). Os pacientes com o genótipo CC estiveram sob chance de 0,06 vezes menor de apresentar vômitos do que os demais (IC 95%: 0,007-0,67).

Já os pacientes com o alelo T (genótipo CT ou TT) do polimorfismo *ERCC1* C118T apresentaram menos vômitos do que os que os pacientes com o genótipo CC (50,8% *versus* 72,0%,  $P= 0,04$ ). Indivíduos com o genótipo CT ou TT estiveram sob chance de 0,33 vezes menor de apresentar vômitos do que os pacientes com o genótipo CC (IC 95%: 0,11-0,97).

Frequências similares dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln e *XPD23* Lys751Gln foram observados em pacientes com CCECP estratificados por diferentes graus de náuseas e vômitos durante terapêutica com CDDP e RT.

Frequências similares dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T foram observados em pacientes estratificados por mielossupressão.

## 6.2. Ototoxicidade

As distribuições dos 70 pacientes, de acordo com os limiares auditivos tonais por via aérea, em orelhas direita e esquerda, obtidos antes e após o tratamento e os 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 e orelha esquerda, nas frequências 0,25, 0,50, 1, 2, 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Frequência (kHz)	Orelha direita		Orelha esquerda	
	Antes do tratamento	Após o tratamento	Antes 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. A média dos limiares auditivos tonais por via aérea foram expressos em deciBELL (dB). Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva. 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

**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

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

O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total (n= 90), pois 20 dos nossos casos não realizaram audiometria ao término da terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Observamos que a maior parte dos nossos pacientes apresentou redução dos limiares auditivos nas frequências 3, 4, 6 e 8 kHz.

Ototoxicidade de graus 1, 2 e 3 foram identificadas entre nossos pacientes. Cerca de um quarto dos nossos pacientes apresentaram ototoxicidade de grau 3.

As distribuições dos 70 pacientes, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T, os limiares auditivos tonais por via aérea, em orelhas direita e esquerda, obtidos antes e após o tratamento e as frequências de grau de ototoxicidade após o tratamento, estão apresentadas nas **Tabelas 21, 22, 23, 24 e 25**, respectivamente.

**Tabela 21.** Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e 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	0,25 kHz		0,50 kHz		1 kHz		2 kHz	
		Antes do tratamento	Após o tratamento						
		Média ± DP	Média ± DP						
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>									
Lys/Lys+Lys/Gln	58	17,50 ± 16,76	17,41 ± 15,43	15,78 ± 17,96	17,24 ± 17,15	14,91 ± 18,29	16,81 ± 17,84	15,43 ± 19,02	23,36 ± 21,39
Gln/Gln	12	14,58 ± 7,53	13,33 ± 6,15	12,08 ± 6,56	9,58 ± 5,42	10,00 ± 7,39	10,83 ± 8,21	16,67 ± 13,54	23,75 ± 21,44
Valor de <i>P</i>		0,42		0,09		0,73		0,50	
Lys/Lys	23	21,52 ± 22,13	18,70 ± 19,26	20,22 ± 24,00	19,57 ± 22,86	18,26 ± 24,06	21,30 ± 24,74	16,52 ± 24,70	29,35 ± 27,27
Lys/Gln+Gln/Gln	47	14,79 ± 10,68	15,74 ± 11,28	12,66 ± 10,88	14,15 ± 11,15	12,02 ± 11,96	13,09 ± 10,14	15,21 ± 14,14	20,53 ± 17,17
Valor de <i>P</i>		0,22		0,24		0,87		0,06	
<b><i>XPD10</i> Asp312Asn</b>									
Asp/Asp+Asp/Asn	63	17,46 ± 16,29	16,90 ± 14,88	15,71 ± 17,32	16,19 ± 16,58	14,68 ± 17,62	16,03 ± 17,14	16,51 ± 18,76	22,54 ± 20,12
Asn/Asn	7	12,86 ± 4,88	15,00 ± 8,16	10,00 ± 5,77	13,57 ± 9,88	8,57 ± 8,52	13,57 ± 12,82	<b>7,86 ± 7,56</b>	<b>31,43 ± 30,37</b>
Valor de <i>P</i>		0,85		0,65		0,54		<b>0,03</b>	
Asp/Asp	36	20,14 ± 19,10	18,47 ± 16,03	19,44 ± 21,31	18,75 ± 19,17	17,50 ± 22,41	18,06 ± 20,68	18,75 ± 21,53	25,00 ± 21,65
Asp/Asn+Asn/Asn	34	13,68 ± 9,87	14,85 ± 12,22	10,59 ± 7,26	12,94 ± 11,29	10,44 ± 6,67	13,38 ± 10,85	12,35 ± 13,16	21,76 ± 20,99
Valor de <i>P</i>		0,50		0,44		0,96		0,91	

<b>XPD23 Lys751Gln</b>									
Lys/Lys+Lys/Gln	62	17,42 ± 16,47	17,26 ± 14,90	15,56 ± 17,44	16,37 ± 16,75	13,87 ± 17,87	15,56 ± 17,25	14,92 ± 17,87	22,26 ± 20,32
Gln/Gln	8	13,75 ± 3,54	12,50 ± 8,02	11,88 ± 7,04	12,50 ± 8,02	15,63 ± 7,76	17,50 ± 12,25	21,25 ± 20,31	32,50 ± 27,26
Valor de <i>P</i>		0,22		0,77		0,40		0,99	
Lys/Lys	34	21,03 ± 19,30	18,68 ± 16,34	19,56 ± 21,51	19,12 ± 20,06	17,50 ± 22,57	18,24 ± 21,21	17,79 ± 22,37	23,38 ± 21,80
Lys/Gln+Gln/Gln	36	13,19 ± 9,79	14,86 ± 12,04	10,97 ± 8,35	12,92 ± 10,31	10,83 ± 8,15	13,47 ± 10,68	13,61 ± 12,91	23,47 ± 21,00
Valor de <i>P</i>		0,20		0,31		0,74		0,90	
<b>XPF T30028C</b>									
TT+TC	64	17,19 ± 16,11	16,72 ± 14,89	15,47 ± 17,20	15,70 ± 16,57	14,14 ± 17,63	15,55 ± 17,09	16,17 ± 18,66	23,36 ± 20,65
CC	6	15,00 ± 8,37	16,67 ± 6,06	11,67 ± 7,53	18,33 ± 8,16	13,33 ± 8,16	18,33 ± 12,52	10,00 ± 10,00	24,17 ± 29,23
Valor de <i>P</i>		NA		NA		NA		NA	
TT	29	15,69 ± 11,47	15,00 ± 8,13	13,79 ± 10,91	15,00 ± 11,50	12,59 ± 10,40	15,34 ± 12,81	13,28 ± 10,11	21,03 ± 15,20
TC+CC	41	17,93 ± 17,99	17,93 ± 17,43	16,10 ± 19,73	16,59 ± 18,66	15,12 ± 20,48	16,10 ± 19,12	17,32 ± 22,08	25,12 ± 24,69
Valor de <i>P</i>		0,56		0,74		0,79		0,80	
<b>ERCC1 C118T</b>									
CC+CT	59	17,97 ± 16,66	16,61 ± 15,07	15,42 ± 17,70	15,51 ± 16,37	13,98 ± 17,81	15,00 ± 17,15	16,02 ± 18,84	22,37 ± 21,56
TT	11	11,82 ± 5,13	17,27 ± 9,84	13,64 ± 8,97	18,18 ± 14,37	14,55 ± 12,34	20,00 ± 13,96	13,64 ± 14,16	29,09 ± 19,34
Valor de <i>P</i>		0,06		0,56		0,33		0,08	
CC	20	16,75 ± 11,04	16,75 ± 13,70	13,50 ± 8,75	13,75 ± 13,36	11,25 ± 7,23	12,25 ± 10,57	15,00 ± 12,03	24,75 ± 21,43
CT+TT	50	17,10 ± 17,15	16,70 ± 14,69	15,80 ± 18,88	16,80 ± 16,99	15,20 ± 19,53	17,20 ± 18,49	15,90 ± 20,14	22,90 ± 21,36
Valor de <i>P</i>		0,20		0,20		0,34		0,70	

(kHz) quilohertz; (N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; (NA) não avaliado devido ao número reduzido de pacientes. Valores ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada e localização do tumor. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em decibELLS (dB). Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total (n= 90), pois 20 dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia

**Tabela 22.** Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e 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	3 kHz		4 kHz		6 kHz		8 kHz	
		Antes do tratamento	Após o tratamento						
		Média ± DP							
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>									
Lys/Lys+Lys/Gln	58	24,74 ± 22,87	41,03 ± 24,81	34,66 ± 22,75	51,72 ± 24,16	37,59 ± 25,14	59,31 ± 24,63	36,72 ± 26,83	61,21 ± 22,58
Gln/Gln	12	30,42 ± 24,07	38,33 ± 26,23	42,08 ± 29,27	49,17 ± 25,30	43,33 ± 23,77	63,33 ± 20,15	45,83 ± 25,66	63,75 ± 21,12
Valor de <i>P</i>		0,10		0,10		0,66		0,29	
Lys/Lys	23	24,78 ± 27,07	48,04 ± 28,99	35,22 ± 27,82	57,17 ± 25,22	37,17 ± 28,40	64,78 ± 24,19	36,52 ± 25,25	67,61 ± 20,39
Lys/Gln+Gln/Gln	47	<b>26,17 ± 21,04</b>	<b>36,91 ± 22,03</b>	<b>36,28 ± 22,08</b>	<b>48,40 ± 23,41</b>	<b>39,26 ± 23,20</b>	<b>57,66 ± 23,56</b>	<b>39,15 ± 27,57</b>	<b>58,72 ± 22,69</b>
Valor de <i>P</i>		<b>0,004</b>		<b>0,01</b>		<b>0,03</b>		<b>0,007</b>	
<b><i>XPD10</i> Asp312Asn</b>									
Asp/Asp+Asp/Asn	63	26,90 ± 23,83	39,76 ± 24,29	36,43 ± 24,80	50,40 ± 24,79	39,21 ± 25,51	59,68 ± 24,43	38,49 ± 26,82	60,32 ± 22,59
Asn/Asn	7	<b>15,00 ± 8,16</b>	<b>47,86 ± 30,94</b>	31,43 ± 14,06	59,29 ± 17,18	32,86 ± 17,99	62,86 ± 18,90	<b>36,43 ± 27,34</b>	<b>73,57 ± 14,64</b>
Valor de <i>P</i>		<b>0,02</b>		0,09		0,22		<b>0,04</b>	
Asp/Asp	36	29,58 ± 24,65	45,00 ± 23,11	39,86 ± 24,89	54,31 ± 24,44	42,92 ± 27,08	64,17 ± 22,41	40,28 ± 28,00	62,78 ± 21,99
Asp/Asn+Asn/Asn	34	21,62 ± 20,70	35,88 ± 26,15	31,76 ± 22,46	48,09 ± 23,87	33,97 ± 21,66	55,59 ± 24,83	36,18 ± 25,44	60,44 ± 22,71
Valor de <i>P</i>		0,59		0,85		0,89		0,74	

**XP23 Lys751Gln**

Lys/Lys+Lys/Gln	62	24,76 ± 22,39	39,68 ± 23,87	35,16 ± 23,15	50,73 ± 24,02	37,50 ± 24,52	59,52 ± 24,19	36,77 ± 25,96	61,29 ± 22,41
Gln/Gln	8	33,13 ± 27,89	47,50 ± 32,84	41,88 ± 30,35	55,63 ± 26,78	46,88 ± 27,38	63,75 ± 22,00	50,00 ± 31,05	64,38 ± 21,78
Valor de P		0,50		0,84		0,70		0,29	
Lys/Lys	34	28,53 ± 25,78	43,97 ± 24,70	40,59 ± 25,31	53,82 ± 24,43	42,79 ± 28,32	63,82 ± 23,23	38,97 ± 27,49	65,15 ± 21,44
Lys/Gln+Gln/Gln	36	23,06 ± 20,05	37,36 ± 24,97	31,53 ± 21,97	48,89 ± 24,06	34,58 ± 20,65	56,39 ± 24,16	37,64 ± 26,25	58,33 ± 22,71
Valor de P		0,56		0,57		0,81		0,31	

**XP23 T30028C**

TT+TC	64	26,72 ± 23,67	40,39 ± 24,30	37,11 ± 24,36	51,64 ± 24,04	39,61 ± 25,50	60,63 ± 23,66	40,39 ± 26,69	62,66 ± 22,06
CC	6	15,00 ± 9,49	42,50 ± 33,13	23,33 ± 14,38	47,50 ± 27,88	27,50 ± 12,55	53,33 ± 26,96	15,83 ± 13,57	50,83 ± 22,89
Valor de P		NA		NA		NA		NA	
TT	29	23,28 ± 19,38	37,24 ± 22,54	31,03 ± 22,46	46,72 ± 24,14	31,72 ± 21,43	56,55 ± 25,88	32,59 ± 23,97	58,79 ± 24,41
TC+CC	41	27,44 ± 25,35	42,93 ± 26,43	39,39 ± 24,58	54,51 ± 24,00	43,41 ± 26,16	62,44 ± 22,28	42,32 ± 28,02	63,66 ± 20,59
Valor de P		0,88		0,93		0,40		0,82	

**ERCC1 C118T**

CC+CT	59	25,85 ± 24,46	39,15 ± 25,57	36,02 ± 25,32	49,41 ± 25,02	37,97 ± 24,43	58,56 ± 24,07	37,88 ± 26,23	60,17 ± 21,73
TT	11	25,00 ± 13,42	48,18 ± 20,16	<b>35,45 ± 15,08</b>	<b>61,36 ± 16,60</b>	41,82 ± 27,95	67,73 ± 21,95	40,45 ± 30,20	69,55 ± 24,13
Valor de P		0,14		<b>0,02</b>		0,23		0,23	
CC	20	24,25 ± 21,29	42,75 ± 24,73	38,25 ± 23,80	51,50 ± 25,29	39,00 ± 24,15	59,00 ± 24,20	43,00 ± 27,64	61,50 ± 20,91
CT+TT	50	26,30 ± 23,84	39,70 ± 25,14	35,00 ± 24,14	51,20 ± 24,00	38,40 ± 25,34	60,40 ± 23,92	36,40 ± 26,32	61,70 ± 22,92
Valor de P		0,17		0,88		0,68		0,69	

(kHz) quilohertz; (N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; (NA) não avaliado devido ao número reduzido de pacientes. Valores ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada e localização do tumor. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em decibEL (dB). Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total (n= 90), pois 20 dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia

**Tabela 23.** Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e 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	0,25 kHz		0,50 kHz		1 kHz		2 kHz	
		Antes do tratamento	Após o tratamento						
		Média ± DP	Média ± DP						
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>									
Lys/Lys+Lys/Gln	58	15,17 ± 13,38	18,02 ± 16,46	15,52 ± 14,50	18,36 ± 17,71	14,31 ± 14,91	17,24 ± 18,92	14,83 ± 13,31	24,57 ± 20,97
Gln/Gln	12	11,25 ± 7,11	14,58 ± 7,53	10,00 ± 6,40	11,25 ± 9,08	12,08 ± 7,82	15,42 ± 10,54	17,92 ± 16,58	30,83 ± 27,54
Valor de <i>P</i>		0,71		0,70		0,26		0,90	
Lys/Lys	23	15,00 ± 7,83	17,39 ± 15,87	14,35 ± 10,69	18,70 ± 17,66	12,83 ± 9,98	16,74 ± 19,34	13,48 ± 11,33	27,61 ± 23,54
Lys/Gln+Gln/Gln	47	14,26 ± 14,41	17,45 ± 15,21	14,68 ± 14,91	16,38 ± 16,38	14,47 ± 15,58	17,02 ± 17,09	16,28 ± 14,94	24,68 ± 21,60
Valor de <i>P</i>		0,21		0,47		0,22		0,34	
<b><i>XPB</i> Asp312Asn</b>									
Asp/Asp+Asp/Asn	63	14,84 ± 13,11	17,62 ± 15,96	15,08 ± 13,90	16,83 ± 16,86	14,37 ± 14,41	16,83 ± 18,23	16,19 ± 14,16	24,60 ± 21,91
Asn/Asn	7	11,43 ± 5,56	15,71 ± 7,87	10,00 ± 10,00	20,00 ± 16,33	10,00 ± 8,16	17,86 ± 13,18	<b>7,86 ± 7,56</b>	<b>35,00 ± 23,63</b>
Valor de <i>P</i>		0,67		0,11		0,12		<b>0,0006</b>	
Asp/Asp	36	15,69 ± 13,95	19,31 ± 17,57	17,08 ± 15,74	19,86 ± 19,33	16,25 ± 17,09	19,86 ± 21,50	18,89 ± 15,68	28,47 ± 23,11
Asp/Asn+Asn/Asn	34	13,24 ± 11,00	15,44 ± 12,45	11,91 ± 10,45	14,26 ± 13,09	11,47 ± 9,17	13,82 ± 12,13	11,62 ± 10,57	22,65 ± 20,97
Valor de <i>P</i>		0,93		0,87		0,83		0,41	

**XP23 Lys751Gln**

Lys/Lys+Lys/Gln	62	14,52 ± 13,24	18,23 ± 16,02	14,52 ± 13,90	17,42 ± 16,98	13,87 ± 14,61	17,50 ± 18,39	15,08 ± 13,57	25,65 ± 22,93
Gln/Gln	8	<b>14,38 ± 5,63</b>	<b>11,25 ± 5,18</b>	15,00 ± 11,65	15,00 ± 15,35	<b>14,38 ± 7,29</b>	<b>12,50 ± 11,02</b>	17,50 ± 16,69	25,63 ± 15,68
Valor de <i>P</i>		<b>0,01</b>		0,31		<b>0,04</b>		0,89	
Lys/Lys	34	16,03 ± 14,13	20,29 ± 17,88	17,35 ± 15,53	20,74 ± 20,16	16,76 ± 16,92	20,44 ± 22,03	17,79 ± 16,01	27,35 ± 24,72
Lys/Gln+Gln/Gln	36	13,06 ± 10,91	14,72 ± 12,07	11,94 ± 11,04	13,75 ± 11,97	11,25 ± 9,88	13,61 ± 11,75	13,06 ± 11,17	24,03 ± 19,60
Valor de <i>P</i>		0,65		0,65		0,58		0,54	

**XPFT30028C**

TT+TC	64	14,45 ± 12,82	17,66 ± 15,94	14,92 ± 13,87	17,58 ± 17,39	14,06 ± 14,36	17,34 ± 18,30	15,86 ± 14,21	26,33 ± 22,89
CC	6	15,00 ± 10,49	15,00 ± 5,48	10,83 ± 10,21	12,50 ± 4,18	12,50 ± 8,80	12,50 ± 9,35	10,00 ± 7,75	18,33 ± 9,31
Valor de <i>P</i>		NA		NA		NA		NA	
TT	29	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
TC+CC	41	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>		0,88		0,91		0,90		0,46	

**ERCC1 C118T**

CC+CT	59	13,14 ± 9,19	16,44 ± 14,17	12,71 ± 10,18	15,51 ± 14,61	11,78 ± 9,09	14,66 ± 14,59	14,49 ± 11,62	24,66 ± 21,55
TT	11	21,82 ± 23,05	22,73 ± 20,42	24,55 ± 23,29	25,91 ± 24,27	25,45 ± 26,22	29,09 ± 27,19	20,00 ± 22,58	30,91 ± 25,48
Valor de <i>P</i>		0,85		0,41		0,83		0,92	
CC	20	13,25 ± 10,92	16,50 ± 14,06	11,50 ± 9,47	15,50 ± 12,02	13,25 ± 10,29	16,25 ± 11,57	16,50 ± 14,06	29,75 ± 20,99
CT+TT	50	15,00 ± 13,25	17,80 ± 15,91	15,80 ± 14,82	17,80 ± 18,33	14,20 ± 15,23	17,20 ± 19,75	14,90 ± 13,87	24,00 ± 22,57
Valor de <i>P</i>		0,87		0,44		0,45		0,32	

(kHz) quilohertz; (N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; (NA) não avaliado devido ao número reduzido de pacientes. Valores ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada e localização do tumor. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em decibEL (dB). Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total (n= 90), pois 20 dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia

**Tabela 24.** Distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e limiares auditivos tonais (dB) por via aérea, em orelha esquerda, nas frequências 3, 4, 6 e 8 kHz, medidos antes e após o tratamento com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	3 kHz		4 kHz		6 kHz		8 kHz	
		Antes do tratamento	Após o tratamento	Antes do tratamento	Após o tratamento	Antes do tratamento	Após o tratamento	Antes do tratamento	Após o tratamento
		Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP					
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>									
Lys/Lys+Lys/Gln	58	23,45 ± 17,35	42,41 ± 23,44	33,28 ± 18,27	53,45 ± 23,00	37,41 ± 21,97	62,41 ± 25,08	34,91 ± 26,65	62,76 ± 23,14
Gln/Gln	12	27,92 ± 16,85	42,08 ± 31,00	39,58 ± 22,20	50,83 ± 27,95	43,75 ± 19,67	64,17 ± 25,83	44,17 ± 20,32	63,75 ± 21,96
Valor de <i>P</i>		0,15		0,13		0,51		0,26	
Lys/Lys	23	21,30 ± 16,11	45,43 ± 23,54	30,00 ± 18,09	55,43 ± 24,30	34,78 ± 19,28	68,70 ± 23,22	34,57 ± 24,26	65,00 ± 21,32
Lys/Gln+Gln/Gln	47	<b>25,65 ± 17,74</b>	<b>40,85 ± 25,27</b>	36,49 ± 19,22	51,81 ± 23,60	<b>40,32 ± 22,61</b>	<b>59,79 ± 25,60</b>	37,45 ± 26,70	61,91 ± 23,63
Valor de <i>P</i>		<b>0,02</b>		0,06		<b>0,001</b>		0,10	
<b><i>XPB</i> Asp312Asn</b>									
Asp/Asp+Asp/Asn	63	25,16 ± 17,67	40,79 ± 23,46	34,84 ± 19,51	51,43 ± 23,27	38,81 ± 21,99	61,11 ± 24,49	36,67 ± 25,57	61,59 ± 22,91
Asn/Asn	7	<b>15,71 ± 9,76</b>	<b>56,43 ± 32,24</b>	<b>30,00 ± 13,54</b>	<b>67,14 ± 24,81</b>	<b>35,71 ± 18,80</b>	<b>77,14 ± 27,21</b>	35,00 ± 29,72	75,00 ± 18,93
Valor de <i>P</i>		<b>0,007</b>		<b>0,01</b>		<b>0,04</b>		0,13	
Asp/Asp	36	26,67 ± 17,77	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
Asp/Asn+Asn/Asn	34	21,62 ± 16,50	38,82 ± 25,76	31,91 ± 19,31	49,41 ± 24,92	36,47 ± 19,83	60,44 ± 27,62	32,94 ± 23,62	60,44 ± 24,63
Valor de <i>P</i>		0,74		0,53		0,74		0,69	

**XP23 Lys751Gln**

Lys/Lys+Lys/Gln	62	23,39 ± 16,37	41,37 ± 25,34	33,31 ± 18,11	51,85 ± 23,75	37,26 ± 20,90	61,53 ± 25,36	35,48 ± 25,55	62,02 ± 23,50
Gln/Gln	8	30,63 ± 23,21	50,00 ± 17,73	42,50 ± 24,64	61,88 ± 22,98	48,13 ± 25,90	71,88 ± 21,54	44,38 ± 27,96	70,00 ± 15,58
Valor de <i>P</i>		0,74		0,78		0,79		0,83	
Lys/Lys	34	25,15 ± 17,73	43,82 ± 27,25	37,21 ± 19,04	54,85 ± 25,63	39,71 ± 23,83	63,97 ± 25,96	39,26 ± 27,75	64,26 ± 23,36
Lys/Gln+Gln/Gln	36	23,33 ± 16,95	40,97 ± 22,19	31,67 ± 18,78	51,25 ± 21,99	37,36 ± 19,51	61,53 ± 24,43	33,89 ± 23,88	61,67 ± 22,49
Valor de <i>P</i>		0,91		0,51		0,88		0,40	

**XPFT30028C**

TT+TC	64	25,47 ± 17,34	42,89 ± 25,00	35,55 ± 19,09	53,44 ± 23,97	40,08 ± 21,48	63,83 ± 25,33	38,52 ± 25,63	63,52 ± 23,34
CC	6	10,83 ± 8,61	36,67 ± 21,37	21,67 ± 12,91	48,33 ± 22,29	21,67 ± 15,71	50,83 ± 19,34	15,00 ± 17,03	56,67 ± 15,71
Valor de <i>P</i>		NA		NA		NA		NA	
TT	29	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
TC+CC	41	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>		0,15		0,39		0,79		0,45	

**ERCC1 C118T**

CC+CT	59	22,80 ± 16,06	41,27 ± 24,65	33,39 ± 18,70	51,69 ± 24,36	37,63 ± 21,42	61,19 ± 25,47	34,92 ± 24,50	61,78 ± 22,08
TT	11	31,82 ± 21,83	48,18 ± 24,93	39,55 ± 20,55	60,00 ± 19,36	43,18 ± 22,94	70,91 ± 21,77	45,00 ± 31,78	69,09 ± 26,53
Valor de <i>P</i>		0,75		0,40		0,22		0,94	
CC	20	24,25 ± 15,75	45,00 ± 24,28	36,25 ± 19,25	53,00 ± 21,48	40,50 ± 20,45	64,50 ± 19,66	39,00 ± 24,74	65,25 ± 16,34
CT+TT	50	24,20 ± 17,94	41,30 ± 24,95	33,60 ± 19,01	53,00 ± 24,76	37,70 ± 22,18	62,00 ± 27,03	35,50 ± 26,37	62,00 ± 24,99
Valor de <i>P</i>		0,37		0,96		0,48		0,56	

(kHz) quilohertz; (N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; (NA) não avaliado devido ao número reduzido de pacientes. Valores ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada e localização do tumor. As médias dos limiares auditivos tonais estão apresentadas em decibELL (dB). Notar que limiares auditivos maiores do que 25 dB estão associados a redução da acuidade auditiva. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total (n= 90), pois 20 dos nossos casos não realizaram a audiometria ao término da terapêutica com cisplatina e radioterapia

**Tabela 25.** Frequências das distribuições dos 70 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e graus de ototoxicidade após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	Ototoxicidade			
	G0+G1 N (%)	G2+G3+G4 N (%)	G0+G1+G2 N (%)	G3+G4 N (%)
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>				
Lys/Lys+Lys/Gln*	30 (51,7)	28 (48,3)	38 (65,5)	20 (34,5)
Gln/Gln	6 (50,0)	6 (50,0)	10 (83,3)	2 (16,7)
Valor de <i>P</i>	0,65		0,23	
OR (IC 95%)	1,36 (0,34-5,41)		0,36 (0,06-1,93)	
Lys/Lys*	8 (34,8)	<b>15 (65,2)</b>	10 (43,5)	<b>13 (56,5)</b>
Lys/Gln+Gln/Gln	28 (59,6)	<b>19 (40,4)</b>	38 (80,9)	<b>9 (19,1)</b>
Valor de <i>P</i>	<b>0,01</b>		<b>0,001</b>	
OR (IC 95%)	<b>0,20 (0,06-0,70)</b>		<b>0,11 (0,03-0,40)</b>	
<b><i>XPD10</i> Asp312Asn</b>				
Asp/Asp+Asp/Asn*	35 (55,6)	<b>28 (44,4)</b>	45 (71,4)	18 (28,6)
Asn/Asn	1 (14,3)	<b>6 (85,7)</b>	3 (42,9)	4 (57,1)
Valor de <i>P</i>	<b>0,03</b>		0,06	
OR (IC 95%)	<b>12,29 (1,19-126,04)</b>		5,86 (0,99-34,62)	
Asp/Asp*	17 (47,2)	19 (52,8)	24 (66,7)	12 (33,3)
Asp/Asn+Asn/Asn	19 (55,9)	15 (44,1)	24 (70,6)	10 (29,4)
Valor de <i>P</i>	0,54		0,77	
OR (IC 95%)	0,73 (0,26-2,01)		0,85 (0,29-2,46)	
<b><i>XPD23</i> Lys751Gln</b>				
Lys/Lys+Lys/Gln*	31 (50,0)	31 (50,0)	43 (69,4)	19 (30,6)
Gln/Gln	5 (62,5)	3 (37,5)	5 (62,5)	3 (37,5)
Valor de <i>P</i>	0,76		0,46	
OR (IC 95%)	0,77 (0,14-4,26)		1,85 (0,35-9,53)	
Lys/Lys*	16 (47,1)	18 (52,9)	24 (70,6)	10 (29,4)
Lys/Gln+Gln/Gln	20 (55,6)	16 (44,4)	24 (66,7)	12 (33,3)
Valor de <i>P</i>	0,75		0,69	
OR (IC 95%)	0,85 (0,31-2,34)		1,23 (0,43-3,51)	

---

**XPF T30028C**

TT+TC*	34 (53,1)	30 (46,9)	44 (68,8)	20 (31,2)
CC	2 (33,3)	4 (66,7)	4 (66,7)	2 (33,3)
Valor de <i>P</i>	0,41		0,96	
OR (IC 95%)	2,17 (0,33-14,07)		1,04 (0,16-6,43)	
TT*	13 (44,8)	16 (55,2)	19 (65,5)	10 (34,5)
TC+CC	23 (56,1)	18 (43,9)	29 (70,7)	12 (29,3)
Valor de <i>P</i>	0,30		0,81	
OR (IC 95%)	0,58 (0,20-1,64)		0,88 (0,30-2,55)	

**ERCC1 C118T**

CC+CT*	31 (52,5)	28 (47,5)	40 (67,8)	19 (32,2)
TT	5 (45,5)	6 (54,5)	8 (72,7)	3 (27,3)
Valor de <i>P</i>	0,47		0,75	
OR (IC 95%)	1,63 (0,42-6,38)		0,79 (0,18-3,48)	
CC*	12 (60,0)	8 (40,0)	14 (70,0)	6 (30,0)
CT+TT	24 (48,0)	26 (52,0)	34 (68,0)	16 (32,0)
Valor de <i>P</i>	0,68		0,83	
OR (IC 95%)	1,27 (0,39-4,11)		1,14 (0,33-3,85)	

---

(G0) grau 0; (G1) grau 1; (G2) grau 2; (G3) grau 3; (G4) grau 4; (N) número de pacientes; (\*) genótipo referência; (OR) razão das chances ajustadas por idade, dose de cisplatina acumulada e localização do tumor; (IC) intervalo de confiança. O número de pacientes avaliados (n= 70) difere do total (n= 90), pois parte dos nossos casos não realizaram audiometria ao término da terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

A redução da acuidade auditiva (maior limiar auditivo) com a terapêutica foi menor em pacientes com o alelo Gln (genótipo Lys/Gln ou Gln/Gln) do polimorfismo *XPC* Lys939Gln do que naqueles com o genótipo Lys/Lys, nas frequências 3, 4, 6 e 8 kHz em orelha direita (26,17 para 36,91 *versus* 24,78 *versus* 48,04,  $P= 0,004$ ; 36,28 para 48,40 *versus* 35,22 para 57,17,  $P= 0,01$ ; 39,26 para 57,66 *versus* 37,17 para 64,78,  $P= 0,03$ ; 39,15 para 58,72 *versus* 36,52 para 67,61,  $P= 0,007$ ; respectivamente) e nas frequências 3 e 6 kHz em orelha esquerda (25,65 para 40,85 *versus* 21,30 para 45,43,  $P= 0,02$ ; 40,32 para 59,79 *versus* 34,78 para 68,70,  $P= 0,001$ ; respectivamente).

Os pacientes com o alelo Gln (genótipo Lys/Gln ou Gln/Gln) do polimorfismo *XPC* Lys939Gln apresentaram menos ototoxicidade graus 2, 3 ou 4 do que os pacientes com o genótipo Lys/Lys (40,4% *versus* 65,2%,  $P= 0,01$ ). Os pacientes com o genótipo Lys/Gln ou Gln/Gln estiveram sob chance de 0,20 vezes menor de apresentar ototoxicidade graus 2, 3 ou 4 do que os pacientes com o genótipo Lys/Lys (IC 95%: 0,06-0,70). Os pacientes com o alelo Gln (genótipo Lys/Gln ou Gln/Gln) do polimorfismo *XPC* Lys939Gln apresentaram menos ototoxicidade graus 3 ou 4 do que os pacientes com o genótipo Lys/Lys (19,1% *versus* 56,5%,  $P= 0,001$ ). Os pacientes com o genótipo Lys/Gln ou Gln/Gln estiveram sob risco 0,11 vezes menor de apresentar ototoxicidade de graus 3 ou 4 do que os pacientes com o genótipo Lys/Lys (IC 95%: 0,03-0,40).

Observamos que pacientes com o genótipo Asn/Asn do polimorfismo *XPB10* Asp312Asn apresentaram maior redução da acuidade auditiva (maior limiar auditivo) do que aqueles com o alelo Asp (genótipo Asp/Asp ou Asp/Asn), nas frequências 2, 3 e 8 kHz em orelha direita (7,86 para 31,43 *versus* 16,51 para 22,54,  $P= 0,03$ ; 15,00 para 47,86 *versus* 26,90 para 39,76,  $P= 0,02$ ; 36,43 para 73,57 *versus* 38,49 para 60,32,  $P= 0,04$ ; respectivamente) e nas frequências 2, 3, 4 e 6 kHz em orelha esquerda (7,86 para 35,00 *versus* 16,19 para 24,60,  $P= 0,0006$ ; 15,71 para 56,43 *versus* 25,16 para 40,79,  $P= 0,007$ ; 30,00 para 67,14 *versus* 34,84 para 51,43,  $P= 0,01$ ; 35,71 para 77,14 *versus* 38,81 para 61,11,  $P= 0,04$ ; respectivamente), após terapêutica com CDDP associada à RT.

Portadores do genótipo Asn/Asn do polimorfismo *XPB10* Asp312Asn apresentaram mais ototoxicidade graus 2, 3 ou 4 do que os pacientes com o alelo Asp (genótipo As/Asp+Asp/Asn) (85,7% *versus* 44,4,  $P= 0,03$ ). Indivíduos com este genótipo estiveram sob chance de 12,29 vezes maior de apresentar ototoxicidade graus 2, 3 ou 4 do que os pacientes com o genótipo Asp/Asp ou Asp/Asn (IC 95%: 1,19-126,04).

Discretos aumentos de limiares auditivos em orelha esquerda, nas frequências 0,25 e 1 kHz, foi observada em indivíduos com o genótipo Gln/Gln do polimorfismo *XPB23* Lys751Gln após terapêutica com CDDP e RT, quando comparados aos pacientes

com o alelo Lys (genótipo Lys/Lys ou Lys/Gln) (14,38 para 11,25 *versus* 14,52 para 18,23,  $P= 0,01$ ; 14,38 para 12,50 *versus* 13,87 para 17,50,  $P= 0,04$ ; respectivamente).

Pacientes com o genótipo TT do polimorfismo *ERCC1* C118T apresentaram maior redução da acuidade auditiva (maior limiar auditivo) do que aqueles com o alelo C (genótipo CC ou CT), na frequência 4 kHz em orelha direita (35,45 para 61,36 *versus* 36,02 para 49,41,  $P= 0,02$ ), após terapêutica com CDDP associada à RT.

Médias similares dos limiares auditivos, medidos antes e após o tratamento, foram observados em pacientes com os genótipos do polimorfismo *XPF* T30028C.

Frequências similares dos polimorfismos *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T foram observados em pacientes com CCECP estratificados por diferentes graus de ototoxicidade durante terapêutica com CDDP e RT.

### 6.3. Nefrotoxicidade

Os valores das médias  $\pm$  DP de ClCr e TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr, medidas antes e após o tratamento com CDDP e RT, foram de  $91,1 \pm 27,9$  *versus*  $78,7 \pm 24,2$  e  $83,4 \pm 20,0$  *versus*  $64,2 \pm 20,9$ , respectivamente.

Informamos 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-<sup>51</sup>Cr 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 ClCr e  $n= 10$  para TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr).

As distribuições dos 70 e 69 pacientes, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e os valores de ClCr e TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr, respectivamente, medidos antes e após o tratamento com CDDP e RT, estão apresentadas na **Tabela 26**.

**Tabela 26.** Distribuições dos 70 e 69 pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço por genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e valores de clearance de creatinina estimado e taxa de filtração glomerular com EDTA-<sup>51</sup>Cr, respectivamente, medidos antes e após terapêutica com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	CICre (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )		N	TFG com EDTA- <sup>51</sup> Cr (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	
		Antes do tratamento	Após o tratamento		Antes do tratamento	Após o tratamento
		Média ± DP	Média ± DP		Média ± DP	Média ± DP
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>						
Lys/Lys+Lys/Gln	59	90,94 ± 29,69	77,06 ± 24,86	58	83,89 ± 20,85	63,39 ± 21,67
Gln/Gln	11	91,53 ± 16,29	87,81 ± 18,99	11	81,28 ± 15,62	68,44 ± 16,27
Valor de <i>P</i>		0,11			0,07	
Lys/Lys	23	82,14 ± 25,21	70,05 ± 21,04	23	85,29 ± 23,65	67,08 ± 22,70
Lys/Gln+Gln/Gln	47	95,38 ± 28,39	83,00 ± 24,76	46	82,56 ± 18,18	62,76 ± 20,01
Valor de <i>P</i>		0,39			0,75	
<b><i>XPD10</i> Asp312Asn</b>						
Asp/Asp+Asp/Asn	63	92,81 ± 28,20	79,46 ± 25,10	62	84,54 ± 19,99	64,51 ± 21,22
Asn/Asn	7	75,06 ± 20,36	72,34 ± 13,91	7	74,02 ± 19,24	61,46 ± 18,76
Valor de <i>P</i>		0,70			0,91	
Asp/Asp	36	94,53 ± 28,48	77,54 ± 20,93	36	86,10 ± 20,04	63,79 ± 19,23
Asp/Asn+Asn/Asn	34	87,33 ± 27,24	80,03 ± 27,57	33	80,60 ± 19,94	64,65 ± 22,83
Valor de <i>P</i>		0,19			0,35	

<b>XPD23 Lys751Gln</b>						
Lys/Lys+Lys/Gln	62	91,44 ± 28,62	79,38 ± 25,46	61	84,06 ± 20,83	64,65 ± 21,60
Gln/Gln	8	87,84 ± 23,04	73,83 ± 10,42	8	78,94 ± 12,37	60,76 ± 14,86
Valor de <i>P</i>		0,48			0,92	
Lys/Lys	33	91,65 ± 23,49	79,92 ± 21,96	32	88,02 ± 19,46	67,98 ± 17,43
Lys/Gln+Gln/Gln	37	90,48 ± 31,67	77,70 ± 26,36	37	79,54 ± 19,94	60,93 ± 23,20
Valor de <i>P</i>		0,83			0,82	
<b>XPFT30028C</b>						
TT+TC	63	90,08 ± 25,03	78,40 ± 23,82	62	83,62 ± 20,34	64,53 ± 20,32
CC	7	99,60 ± 48,96	81,90 ± 29,66	7	82,15 ± 18,43	61,23 ± 27,05
Valor de <i>P</i>		0,44			0,93	
TT	30	92,19 ± 23,34	79,17 ± 25,13	30	89,16 ± 20,23	71,51 ± 22,17
TC+CC	40	90,17 ± 31,18	78,43 ± 23,86	39	79,09 ± 19,00	58,57 ± 18,17
Valor de <i>P</i>		0,37			0,61	
<b>ERCC1 C118T</b>						
CC+CT	58	90,48 ± 28,65	80,13 ± 25,28	57	84,00 ± 19,94	65,76 ± 21,83
TT	12	93,71 ± 25,01	72,06 ± 17,72	12	80,94 ± 21,21	56,78 ± 13,97
Valor de <i>P</i>		0,10			0,36	
CC	19	88,01 ± 35,25	78,58 ± 26,55	19	79,36 ± 18,69	63,91 ± 22,59
CT+TT	51	92,16 ± 24,97	78,81 ± 23,60	50	85,03 ± 20,49	64,31 ± 20,43
Valor de <i>P</i>		0,44			0,27	

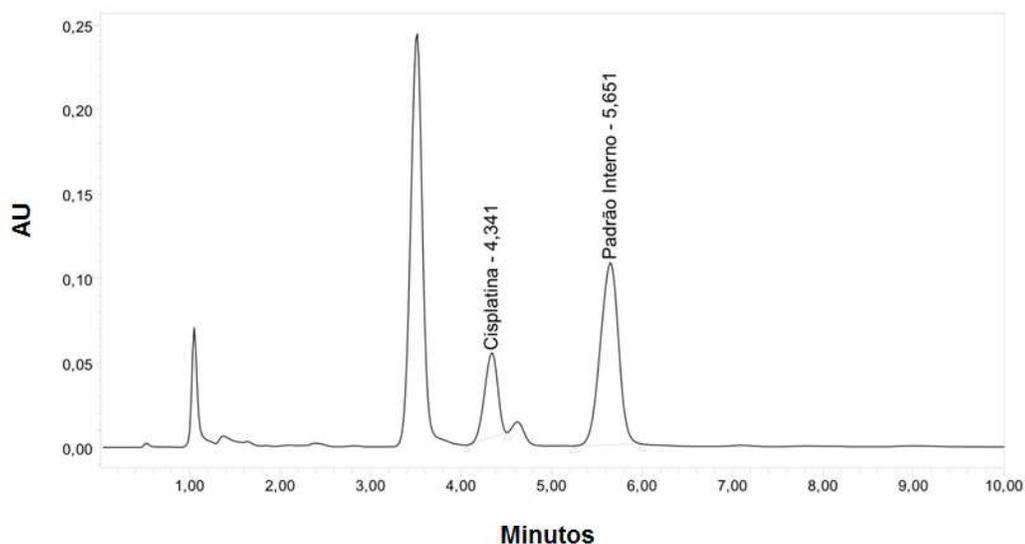
(CICre) clearance de creatinina estimado; (TFG) taxa de filtração glomerular; (N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; Valores ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada, índice de massa corpórea, hipertensão arterial e diabetes mellitus. Os números de pacientes avaliados (n= 70 e n= 69) diferem do total (n= 90), pois parte dos nossos não realizou o CICre estimado e/ou a TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr, respectivamente, ao término da terapêutica

Médias similares de CICre e TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr, medidos antes e após o tratamento, foram observados em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos *XPC Lys939Gln*, *XPD10 Asp312Asn*, *XPD23 Lys751Gln*, *XPFT30028C* e *ERCC1 C118T*.

## 7. Quantificação da CDDP urinária

### 7.1. Padronização da técnica

A identificação dos picos de CDDP e PI foi realizada após adição dos respectivos padrões em urinas de voluntários sadios que não fizeram uso de CDDP. Estes picos estão demonstrados na **Figura 12**.

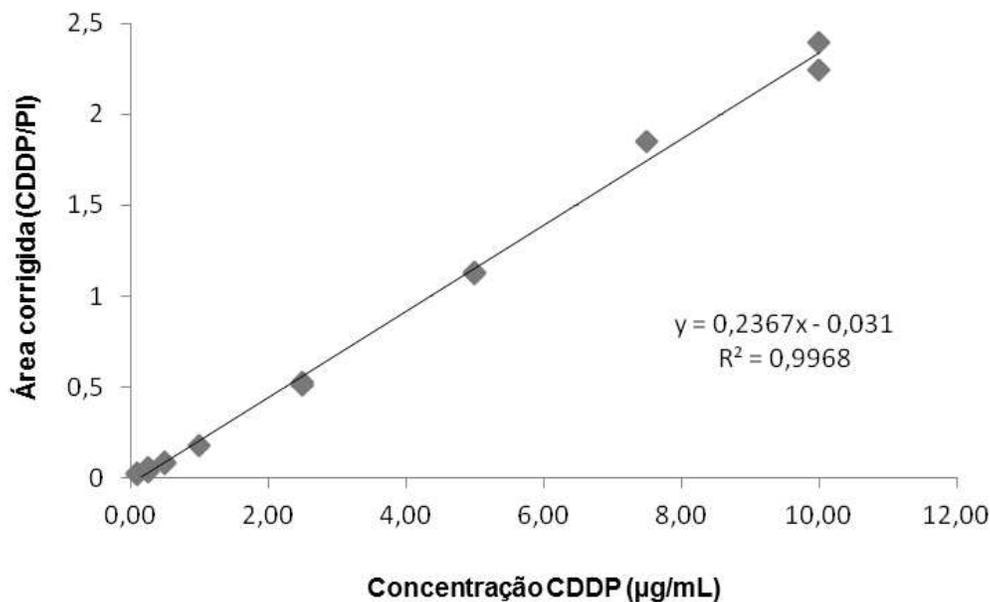


**Figura 12.** Cromatograma de urina adicionada de padrão de cisplatina e padrão interno (PI). O pico de CDDP apresenta tempo de retenção de aproximadamente 4,3 minutos e o pico de PI apresenta tempo de retenção em aproximadamente 5,6 minutos

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

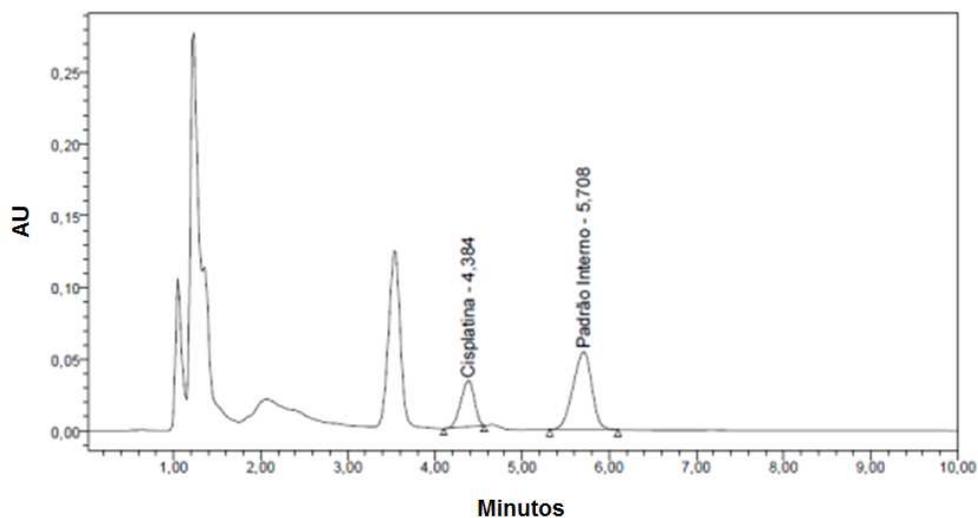
As áreas dos picos de CDDP, corrigidos pelas áreas dos picos de PI, foram utilizadas para a construção da curva padrão. Com os dados obtidos foi possível obter a

equação da reta e o  $r^2$ , que foram utilizados para calcular as concentrações de CDDP na urina dos pacientes (**Figura 13**).



**Figura 13.** Apresentação gráfica da curva padrão desenvolvida, da equação da curva e do  $r^2$  (coeficiente de correção)

As amostras dos pacientes foram processadas da mesma forma que a curva padrão. Posteriormente, foram injetadas no cromatógrafo, o cromatograma foi integrado e a concentração da amostra foi calculada, utilizando-se a área dos picos de interesse comparados com as áreas obtidas na curva padrão. Um exemplo de quantificação da urina de um paciente está representado pela **Figura 14**.



	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 14.** 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 µg/mg  $\pm$  116,2.

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

As distribuições dos 58 pacientes, de acordo com os genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB10* Asp312Asn, *XPB23* Lys751Gln, *XPD* T30028C e *ERCC1* C118T e os valores de CDDP urinária, 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 por genótipos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T e valores de cisplatina urinária, medidos durante o tratamento com cisplatina associada à radioterapia

Variáveis	N	Concentração de
		cisplatina urinária (µg/mg)
		Média ± DP
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b>		
Lys/Lys+Lys/Gln	51	231,54 ± 116,99
Gln/Gln	7	276,71 ± 110,61
Valor de <i>P</i>		0,26
Lys/Lys	24	247,93 ± 130,51
Lys/Gln+Gln/Gln	34	229,27 ± 106,42
Valor de <i>P</i>		0,71
<b><i>XPD10</i> Asp312Asn</b>		
Asp/Asp+Asp/Asn	51	227,21 ± 110,73
Asn/Asn	7	308,30 ± 139,50
Valor de <i>P</i>		0,47
Asp/Asp	28	211,40 ± 107,94
Asp/Asn+Asn/Asn	30	260,87 ± 120,40
Valor de <i>P</i>		0,13
<b><i>XPD23</i> Lys751Gln</b>		
Lys/Lys+Lys/Gln	53	223,81 ± 106,72
Gln/Gln	5	376,76 ± 133,41
Valor de <i>P</i>		NA
Lys/Lys	28	225,27 ± 107,02
Lys/Gln+Gln/Gln	30	247,94 ± 125,08
Valor de <i>P</i>		0,86
<b><i>XPF</i> T30028C</b>		
TT+TC	53	242,69 ± 108,12
CC	5	176,63 ± 188,75
Valor de <i>P</i>		NA
TT	22	264,02 ± 94,31

TC+CC	36	<b>220,47 ± 126,23</b>
Valor de <i>P</i>		<b>0,05</b>
<b>ERCC1 C118T</b>		
CC+CT	49	235,75 ± 115,71
TT	9	243,73 ± 126,10
Valor de <i>P</i>		0,89
CC	15	262,02 ± 145,33
CT+TT	43	228,26 ± 104,88
Valor de <i>P</i>		0,83

(N) número de pacientes; (DP) desvio padrão; (NA) não avaliado devido ao número reduzido de pacientes; Valores ajustados por idade, dose de cisplatina acumulada, hipertensão arterial e diabetes mellitus. O número de pacientes avaliado (n= 58) difere do total (n= 90), pois amostras inadequadas de urina foram obtidas em parte dos nossos casos

Médias similares de CDDP urinária, medidas antes e após o tratamento, foram observadas em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln e *ERCC1* C118T. Entretanto, observamos uma tendência a valor menor de concentração de CDDP urinária em pacientes com o alelo C (genótipo TC ou CC) do polimorfismo *XPF* T30028C comparados aos pacientes com o genótipo TT ( $220,47 \pm 126,23$  versus  $264,02 \pm 94,31$ ,  $P= 0,05$ ).

## **8. Resumo dos resultados**

As associações de polimorfismos gênicos, taxa de resposta e toxicidade ao tratamento com CDDP associada à RT em pacientes com CCECP encontrados no presente estudo estão apresentadas na **Tabela 28**.

**Tabela 28.** Associações dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPD10* Asp312Asn, *XPD23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T com resposta e toxicidade à cisplatina associada à radioterapia em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço

<b>Genótipos</b>	<b>Resumo dos resultados</b>
<b><i>XPC</i> Lys939Gln</b> rs2228001	
Lys/Gln+Gln/Gln	Menor perda auditiva nas frequências de 3, 4, 6 e 8 kHz em OD e de 3 e 6 kHz em OE Menor frequência de graus 2, 3 ou 4 de ototoxicidade
<b><i>XPD10</i> Asp312Asn</b> rs1799793	
Asp/Asn+Asn/Asn	Menor frequência de graus 2 ou 3 de náuseas
Asn/Asn	Maior frequência de resposta completa ao tratamento Maior perda auditiva nas frequências de 2, 3 e 8 kHz em OD e de 2, 3, 4 e 6 kHz em OE Maior frequência de graus 2, 3 ou 4 de ototoxicidade
<b><i>XPD23</i> Lys751Gln</b> rs13181	
Gln/Gln	Discretos aumentos de limites auditivos nas frequências de 0,25 e 1 kHz em OE
<b><i>XPF</i> T30028C</b> rs1799801	
TC+CC	Tendência a menor concentração de cisplatina urinária
CC	Menor frequência de graus 1, 2 ou 3 de náuseas Menor frequência de graus 1, 2, 3 ou 4 de vômitos
<b><i>ERCC1</i> C118T</b> rs11615	
CT+TT	Menor frequência de graus 1, 2, 3 ou 4 de vômitos
TT	Maior perda auditiva na frequência de 4 kHz em orelha direita

(OD) orelha direita; (OE) orelha esquerda

## Discussão

Avaliamos neste estudo os papéis dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB10* Asp312Asn, *XPB23* Lys751Gln, *XPF* T30028C and *ERCC1* C118T, relacionados ao reparo de DNA por excisão de nucleotídeos (sistema NER), na taxa de resposta ao tratamento de pacientes com CCECP com CDDP e RT, na toxicidade ao tratamento e na concentração de CDDP urinária.

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 ao esquema terapêutico, toxicidade e excreção urinária de CDDP nesses pacientes.

### 1. Aspectos clínicos e do tumor

Quando observamos as distribuições dos nossos pacientes por idade, sexo e etnia, verificamos que metade do número 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 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). 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. O tabagismo e o etilismo podem também explicar a maior ocorrência do tumor em homens, tendo em vista que são hábitos mais comuns entre eles do que entre mulheres (MENDENHALL *et al.*, 2011).

As distribuições dos nossos pacientes por localização, grau de diferenciação e estágio do CCECP, demonstraram que a maior parte deles tinham tumores localizados na faringe, particularmente em orofaringe, tumores moderadamente diferenciados e estágio IV. Os CCECP mais prevalentes são moderadamente diferenciados e extensos (ADELSTEIN *et al.*, 2003; CARLES *et al.*, 2006; DE CASTRO *et al.*, 2007; HITCHCOCK *et*

*al.*, 2009; DE CASTRO *et al.*, 2011; RADES *et al.*, 2011; WONG *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2013; OSMAN *et al.*, 2013). Em contrapartida, a maior prevalência entre CCECP é o de cavidade oral (DÖBROSSY, 2005; ALVARENGA *et al.*, 2008; CASATI *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012; INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER, 2014). Mesmo em estágios avançados, os tumores de cavidade oral tem a ressecção cirúrgica como conduta terapêutica de primeira linha, 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; 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 não foi identificado em tumor de qualquer dos nossos pacientes. Infecções por HPVs de alto risco, principalmente pelo subtipo 16, foram associadas com o desenvolvimento de CCECP, particularmente em orofaringe. Estima-se que cerca de 26,0% e 35,6% dos casos de CCECP em geral e de CCECP de orofaringe apresentam positividade para o vírus, respectivamente (KREIMER *et al.*, 2005). Frequências variáveis da presença do HPV do subtipo 16 em CCECP foram identificadas em estudos anteriores conduzidos em outras partes do mundo. O HPV do subtipo 16 foi identificado em 50,0% dos casos de CCECP nos Estados Unidos (WILCZYNSKI *et al.*, 1998), 32,6% na Austrália (LI *et al.*, 2003), 47,1% na Alemanha (WITTEKINDT *et al.*, 2005) 40,7% na Holanda (HAFKAMP *et al.*, 2008) 53,3% na China (KUO *et al.*, 2008), 12,6% na Grécia (ROMANITAN *et al.*, 2008), 26,0% no Japão (DENG *et al.*, 2011), 53,0% no Reino Unido (THAVARAJ *et al.*, 2011) e 15,4% na Colômbia (QUINTERO *et al.*, 2013). Em contrapartida, a infecção pelo vírus em CCECP parece pouco comum no Brasil. Baixas frequências de HPV do subtipo 16 (3,5%) em amostras de pacientes com CCECP foram previamente identificadas em população brasileira (LÓPEZ *et al.*, 2014).

A explicação para as diferenças da presença de HPV do tipo 16 em CCECP em brasileiros e em pacientes de outras partes do mundo não é clara. Acredita-se que a disparidade entre os resultados obtidos em estudos prévios possa ser atribuída a diferenças no comportamento sexual de indivíduos de diversas partes do mundo, principalmente na prática do sexo oral, que aumenta a exposição das mucosas da região da cabeça e pescoço à infecção pelo HPV do subtipo 16 (CURADO & HASHIBE, 2009;

LAMBERT *et al.*, 2011), mas até onde atinge o nosso conhecimento, não há descrições prévias consistentes sobre diferenças na prática do sexo oral em países diversos. Além disso, o CCECP com presença de HPV é mais comum em pacientes jovens, devido principalmente a hábitos sexuais (SHIBOSKI *et al.*, 2005; EL-MOFTY, 2007; CHATURVEDI, 2012) mas, quatro pacientes jovens (idade entre 20 e 40 anos) também estiveram presentes em nosso estudo e também nesses caso o HPV não foi 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 (DYSON *et al.*, 1989; MÜNGER *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 a identificação do vírus no tumor, 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. Alguns autores relataram que cerca de 15-20% dos casos de tumores de orofaringe p16 positivos são de fato HPV16 negativos, baseando-se em resultados de outras técnicas mais sensíveis (SINGHI & WESTRA, 2010; ROBINSON *et al.*, 2012). Assim, o emprego de técnica adicional para detecção de material genético do vírus nas amostras, como a hibridização *in situ* para HPV de amplo espectro, torna-se necessário. Esta técnica 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 subtipo 16 foi identificado em número significativo de pacientes com CCECP em estudos conduzidos outros países, seja por imunohistoquímica (WILCZYNSKI *et al.*, 1998; LI *et al.*, 2003; WITTEKINDT *et al.*, 2005) ou por imunohistoquímica e hibridização *in situ* (HAFKAMP *et al.*, 2008; KUO *et al.*, 2008; THAVARAJ *et al.*, 2011). Nós investigamos a presença do HPV do subtipo 16 por ambas as técnica 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 subtipo 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 20,0% e 70,0% dos nossos pacientes apresentaram respostas completa e parcial, respectivamente, ao tratamento com CDDP associada à RT. Descrições prévias em diferentes países demonstraram que as respectivas respostas, foram identificadas em aproximadamente 20,0% e 40,0% dos pacientes com CCECP tratados com CDDP associada à RT ou com QT baseada em CDDP 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), 45,0-66,0% e 22,0-31,0% 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), 65,9% e 34,1% na Macedônia (KRSTEVSKA *et al.*, 2010).

A CDDP associada à RT é utilizada já há bastante tempo no tratamento de pacientes com CCECP avançado (ADELSTEIN *et al.*, 2003), porém com taxas variadas de resposta em países diversos. Diferenças socioeconômicas podem se manifestar em diversos aspectos do perfil do paciente e/ou do tumor e constituir explicação para a variabilidade de respostas ao tratamento. Geralmente, em países em desenvolvimento, como o Brasil, as dificuldades de acesso a serviços de saúde adequados podem resultar em maior proporção de diagnósticos tardios e, conseqüentemente, de pacientes debilitados e com tumores avançados (CARVALHO *et al.*, 2004; CONWAY *et al.*, 2008), com menor resposta ao tratamento padrão. De fato, IMC reduzido (< 18,5%) e tumores de estágio IV foram identificados em cerca de 50% e 80% dos nossos pacientes.

A atividade antitumoral da CDDP é atribuída principalmente à ligação ao DNA, com a formação de adutos inter e intracadeias (GUMINSKI *et al.*, 2002; JOHNSON & O'DWYER, 2005; WANG & LIPPARD, 2005). Além disso, a capacidade de se ligar a enzimas antioxidantes, como a glutatona, pode reduzir a capacidade antioxidante da célula e, com conseqüente aumento de espécies reativas de oxigênio, que contribuem para a morte celular (MASUDA *et al.*, 1994; SHEIKH-HAMAD, 2008).

Proteínas reparadoras do sistema NER participam do reconhecimento, demarcação e remoção de adutos de DNA induzidos pela CDDP (HAN *et al.*, 2005; GILLET & SCHÄRER, 2006; CLINGEN *et al.*, 2007; LAINÉ *et al.*, 2007; ZHU *et al.*, 2008; DE CASTRO *et al.*, 2011; REED, 2011). Se a lesão for reparada, a CDDP pode ser removida e a célula sobrevive e continua o seu curso vital; caso a remoção da CDDP não for possível, ocorre ativação da apoptose com a morte da célula lesada (KUO *et al.*, 2007).

O genótipo variante Asn/Asn do polimorfismo *XPB10* Asp312Asn foi associado a maior frequência de resposta completa a CDDP e RT em nossos casos.

Acredita-se que a proteína *XPB10*, codificada pelo alelo variante (Asn) do polimorfismo *XPB10* Asp312Asn, tenha menor potencial de reparo de lesões de DNA (QIAO *et al.*, 2002). Assim, é possível que ativação da apoptose em resposta à CDDP proporcione sensibilidade à terapêutica. Entretanto, não há estudos funcionais da proteína com células tumorais tratadas e não tratadas com a CDDP. Sabe-se que maior resposta ao tratamento baseado em CDDP foi identificada em portadores do alelo Asn com CCECP (QUINTELA-FANDINO *et al.*, 2006) e câncer de pulmão (CAMPS *et al.*, 2003). Porém, o polimorfismo não influenciou a frequência de resposta a QT em pacientes com outros tipos de câncer (ISLA *et al.*, 2004; RYU *et al.*, 2004; TIBALDI *et al.*, 2008; CARONIA *et al.*, 2009; KALIKAKI *et al.*, 2009; KHRUNIN *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2012). Ainda, o alelo Asn esteve associado com maior sobrevida global e sobrevida livre de progressão em pacientes com CCE de cavidade oral (MAHIMKAR *et al.*, 2012) e câncer de esôfago (BRADBURY *et al.*, 2009) e menor sobrevidas global e livre de progressão em pacientes com câncer de pulmão (GURUBHAGAVATULA *et al.*, 2004; LI *et al.*, 2013), tratados com QT baseada em CDDP, platina ou RT isolada. Os resultados deste estudo suportam a hipótese que o alelo variante Asn do polimorfismo *XPB10* Asp312Asn está associado à maior frequência de resposta completa à CDDP e RT em pacientes com CCECP.

Frequências similares dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T foram observadas em pacientes com CCECP estratificados por taxa de resposta ao tratamento.

Acredita-se que as proteínas *XPC*, *XPB23*, *XPF* e *ERCC1*, codificadas pelos respectivos alelos variantes dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB23* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T, têm menores potenciais de reparo de lesões de DNA (WINSEY *et al.*, 2000; YU *et al.*, 2000; QIAO *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2008). Assim, é

possível que induzam mais a apoptose em resposta à CDDP e, dessa forma, proporcione maior sensibilidade terapêutica. Dessa forma, seria esperado que as respostas ao tratamento com CDDP e RT fossem alteradas por estes polimorfismos, mas tais resultados não foram observados em nosso estudo. É possível que a magnitude do comprometimento no reparo das lesões causadas pela CDDP em pacientes com os genótipos variantes dos referidos polimorfismos não tenha sido suficiente para determinar diferenças de resposta ao tratamento. Outra possibilidade é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar diferenças nas respostas a terapêutica em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos gênicos. De forma semelhante aos nossos achados, os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Lys751Gln e *ERCC1* C118T não influenciaram na taxa de resposta baseada em CDDP ou platina, em pacientes com câncer de pulmão (CAMPS *et al.*, 2003; ISLA *et al.*, 2004; RYU *et al.*, 2004; TIBALDI *et al.*, 2008; KALIKAKI *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2010; SHIRAISHI *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2012; LI *et al.*, 2013; TISEO *et al.*, 2013), câncer de ovário (KHRUNIN *et al.*, 2010), câncer de esôfago (WANG *et al.*, 2011) e câncer de pâncreas (KAMIKOZURU *et al.*, 2008). E, até onde atinge o nosso conhecimento, não há dados na literatura que associaram o polimorfismo *XPF* T30028C, com câncer e resposta terapêutica com CDDP e RT.

Assim, os resultados do nosso estudo e as descrições da literatura sugerem que os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Lys751Gln e *ERCC1* C118T não influenciam na taxa de resposta à terapêutica com CDDP e RT em pacientes com CCECP.

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

#### **3.1. Náuseas e vômitos**

Observamos que cerca de 70,0% e 45,0% dos nossos pacientes apresentaram náuseas e vômitos graus 1 ou 2, respectivamente.

Náuseas e vômitos são eventos comuns relacionados com o uso de quimioterápicos. A CDDP, em altas doses, tem grande poder emetogênico, sendo capaz de promover emese em cerca de 90,0% dos pacientes que não façam uso de antieméticos (HESKETH *et al.*, 1997; ASHP Therapeutic Guidelines, 1999; KOELLER *et al.*, 2002; ROILA *et al.*, 2006).

Os mecanismos desencadeados pela CDDP para indução de náuseas e vômitos estão bem estabelecidos. A formação de adutos inter e intracadeias da CDDP com o DNA e a produção de radicais livres danificam as células enterocromafins do intestino delgado

e promovem a liberação de serotonina por exocitose. Este neurotransmissor ativa os receptores de serotonina, gerando um estímulo aferente que transmite o sinal para a zona de gatilho quimiorreceptora (CTZ) e centro do vômito (CV), localizadas no bulbo, próximo ao núcleo do trato solitário. Posteriormente, a via eferente é acionada gerando o reflexo do vômito (HESKETH, 2008). A emese aguda é estimulada principalmente por serotonina, mas a emese tardia é desencadeada por dopamina, histamina, prostaglandina e substância P também liberadas no processo (HESKETH *et al.*, 2003).

Em nosso estudo, utilizamos como antieméticos metoclopramida e dexametasona e ondansetrona. A metoclopramida é um fármaco da classe dos antagonistas de receptores dopaminérgicos, amplamente empregado na antiemese relacionada ao uso de quimioterápicos, atuando nestes receptores presentes na CTZ. Além disso, o fármaco reduz a sensibilidade dos nervos aferentes viscerais que transmitem impulsos a partir do trato gastrointestinal para o CV, contribuindo assim para a redução das náuseas e vômitos (BADELL *et al.*, 2006; RANG *et al.*, 2012). Já os mecanismos de ação da dexametasona como antiemético são incertos. Supõe-se que este fármaco consiga inibir prostaglandinas e, conseqüentemente, a estimulação das fibras que levam à ativação do CV. Também pode 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 *et al.*, 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 graus 1 ou 2 em 47,0% e 57,0%, respectivamente, em pacientes com CCECP tratados com CDDP e sob suporte antiemético semelhante ao nosso. Considerando que a maioria dos nossos pacientes apresentaram náuseas e vômitos discretos ou moderados, acreditamos que a nossa terapêutica foi adequada.

O alelo Asn (genótipo Asp/Asn ou Asn/Asn) do polimorfismo *XPD10 Asp312Asn* foi associado a menor ocorrência de náuseas. O genótipo CC do polimorfismo *XPF T30028C* e o alelo T (genótipo CT ou TT) do polimorfismo *ERCC1 C118T* foram associados a menor ocorrência de náuseas e vômitos. Em contraste, os polimorfismos *XPD10 Asp312Asn* e *ERCC1 C118T* não influenciaram a ocorrência de vômitos, em pacientes com câncer de pulmão (ISLA *et al.*, 2004) e câncer de ovário (KHRUNIN *et al.*, 2010), tratados à base de CDDP.

A explicação para a associação dos genótipos dos referidos polimorfismos com proteção contra náuseas e vômitos em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT não é clara. Acredita-se que as proteínas XPD10, XPF e ERCC1, codificadas pelos alelos variantes (Asn, C e T) dos polimorfismos *XPD10* Asp312Asn, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T, têm menores potenciais de reparo de lesões de DNA (WINSEY *et al.*, 2000; YU *et al.*, 2000; QIAO *et al.*, 2002). É possível que a apoptose das células enterocromafins, cujo DNA não pode ser reparado, proporcione menor ocorrência de náuseas e vômitos, pois a liberação de serotonina por exocitose demanda eventos celulares que acontecem somente em células eucarióticas vivas (ALBERTS *et al.*, 2008; SILVERTHORN, 2010). Dessa forma, a ausência da interação do neurotransmissor com seu receptor, não gera estímulos na CTZ e no CV, tendo como consequência menos náuseas e vômitos. Assim, os resultados deste estudo sugerem que os alelos variantes Asn do polimorfismo *XPD10* Asp312Asn, C do polimorfismo *XPF* T30028C e T do *ERCC1* C118T estão associados à menor ocorrência de náuseas e vômitos em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT e que estes possam receber esquema antiemético menos efetivo do que os demais.

Frequências similares dos genótipos distintos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln e *XPD23* Lys751Gln foram observados em pacientes com CCECP estratificados por graus de náuseas e vômitos. Até onde atinge o nosso conhecimento, não há dados na literatura que avaliaram os polimorfismos *XPC* Lys939Gln e *XPD23* Lys751Gln, com câncer e toxicidade à terapêutica com CDDP e RT.

Acredita-se que as proteínas XPC e XPD23, codificadas pelos alelos variantes (Gln e Gln) dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln e *XPD23* Lys751Gln, têm menores potenciais de reparo de lesões de DNA (QIAO *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2008). Assim, é possível que induzam mais a apoptose das células enterocromafins e proporcionem menos náuseas e vômitos. Dessa forma, seria esperado que as náuseas e os vômitos durante o tratamento com CDDP e RT fossem alterados por estes polimorfismos, mas tais resultados não foram observados em nosso estudo. É possível que a magnitude do comprometimento no reparo das lesões causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos não tenha sido suficiente para determinar diferenças destas toxicidades. Outra possibilidade é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar as manifestações em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos gênicos.

Assim, os resultados do nosso estudo sugerem que os polimorfismos *XPC* Lys939Gln e *XPB*23 não influenciam nas náuseas e vômitos induzidos pela CDDP em pacientes com CCECP.

### **3.2. Mielossupressão**

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

Mielossupressão é um efeito colateral comum durante terapêutica com CDDP. Cerca de 20,0-30,0% dos pacientes que recebem o quimioterápico apresentam tal toxicidade (BC CANCER AGENCY CANCER DRUG MANUAL, 1994; CHU *et al.*, 2013). Anemia, leucopenia, neutropenia, linfopenia e plaquetopenia podem ser vistas após a administração de doses maiores que 50 mg/m<sup>2</sup> de CDDP (BC CANCER AGENCY CANCER DRUG MANUAL, 1994; DE CASTRO *et al.*, 2007; CHU *et al.*, 2013), mas, em geral, são discretas ou moderadas (RABIK & DOLA, 2007).

O mecanismo para mielossupressão pelo uso de CDDP não está totalmente esclarecido. A hipótese mais plausível para o fato é a capacidade do fármaco em formar adutos de DNA e radicais livres em células progenitoras hematopoiéticas (WEIJL *et al.*, 2004), induzindo-as à apoptose. Supõe-se também que a nefrotoxicidade relacionada a CDDP contribua para a anemia apresentada por pacientes tratados, devido a menor produção de eritropoietina (WOOD & HRUSHESKY, 1995), hormônio estimulador da eritropoiese, produzido principalmente pelos rins (JACOBSON *et al.*, 1957). A anemia nestes pacientes pode também ser causada por hemólise devido à reação imunológica contra as hemácias, desencadeada por complexos antigênicos formados pela CDDP

ligada à membrana celular (LEVI *et al.*, 1981). Assim, anemia associada ao uso de CDDP pode ser determinada por hipoplasia medular, deficiência de eritropoietina secundária à nefrotoxicidade ou hemólise (DLOTT *et al.*, 2004; GAO *et al.*, 2006; Horiguchi *et al.*, 2006; VANDENDRIES & DREWS, 2006; WANG *et al.*, 2010; SON *et al.*, 2011; GAO *et al.*, 2013). Já a leucopenia, a neutropenia e a plaquetopenia são determinadas por hipoplasia medular induzida pelo fármaco (LINK, 2012).

Frequências similares dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T foram observados em nossos pacientes com CCECP estratificados por grau de mielossupressão.

Acredita-se que as proteínas *XPC*, *XPB*, *XPB*, *XPF* e *ERCC1*, codificadas pelos respectivos alelos variantes dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T, têm menores potenciais de reparo de lesões de DNA (WINSEY *et al.*, 2000; YU *et al.*, 2000; QIAO *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2008) e, assim, é possível que induzam mais aplasia medular. Dessa forma, seria esperado que a mielossupressão oriunda ao tratamento com CDDP e RT fosse alterada por estes polimorfismos, mas tais resultados não foram observados em nosso estudo. Novamente, é possível que a magnitude do comprometimento no reparo das lesões causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos não seja suficiente para determinar diferenças desta toxicidade. Outra possibilidade digna de nota, é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar a manifestação em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos gênicos. De forma semelhante aos nossos achados, os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Lys751Gln e *ERCC1* C118T não influenciaram na mielossupressão em pacientes com câncer de pulmão (ISLA *et al.*, 2004; TIBALDI *et al.*, 2008; WU *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2010; IRANZO *et al.*, 2011) e câncer de ovário (KHRUNIN *et al.*, 2010), tratados com CDDP.

Assim, os resultados do nosso estudo e as descrições da literatura sugerem que os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPF* T30028C e *ERCC1* C118T não influenciam os graus de mielossupressão durante terapêutica de pacientes com CCECP com CDDP e RT.

### **3.3. Ototoxicidade**

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

após terapêutica com CDDP e RT. Ototoxicidade graus 1, 2 e 3 foram identificadas em cerca de 70,0% da nossa amostra. Outros estudos relataram deficiência auditiva em 45,0-65,0% dos pacientes com CCECP submetidos a tratamento com CDDP à associada RT (KWONG *et al.*, 1996; BERTOLINI *et al.*, 2004; OH *et al.*, 2004; CHAN *et al.*, 2009; DELL'ARINGA *et al.*, 2009). Ainda, observou-se que as perdas ocorreram principalmente em frequências sonoras mais altas (a partir de 4 kHz) (KWONG *et al.*, 1996; OH *et al.*, 2004; CHAN *et al.*, 2009; DELL'ARINGA *et al.*, 2009).

A CDDP determina lesões nas células ciliadas externas cocleares, na espira basal da cóclea e discreto acometimento das células ciliadas internas, com consequente redução da acuidade auditiva (MACALPINI & JOHNSTONE, 1990; FAUSTI *et al.*, 1993). A formação de radicais livres (HUSAIN *et al.*, 2001), a ativação de vias de apoptose para destruição de células lesadas (HUANG *et al.*, 2002) e a inibição na transdução dos canais de cálcio (STENGES *et al.*, 1998) são outros mecanismos que determinam a ototoxicidade por CDDP. Ainda, a RT associada à CDDP tem efeito potencializador, causando aumento dos limiares auditivos tonais após o tratamento (DELL'ARINGA *et al.*, 2009).

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

Os sons comuns apresentam uma ampla gama de frequências. A fala cotidiana emite sons de frequências que variam de 0,3 a 3 kHz (BESS & HUMES, 1998; FROTA, 2003), sendo de 3 kHz os mais relevantes (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 do indivíduo (RUSSO *et al.*, 2009). Ainda, perdas unilaterais de acuidade auditiva pode mascarar o sinal de fala na presença de ruído ambiental e dificulta a localização sonora (LIEU, 2004). Há também que se considerar que a deterioração da audição e problemas de compreensão da fala, afetar a qualidade de vida diária do indivíduo, particularmente de idosos. Idosos portadores de deficiência geralmente apresentam saúde deficitária, mobilidade reduzida, menos contatos interpessoais, depressão, tensão e ansiedade (BESS & HUMES, 1998). Assim, as perdas auditivas identificadas em nossos casos foram importantes.

A redução da acuidade auditiva (frequências médias e altas) e a ototoxicidade foram menores em pacientes com o alelo Gln (genótipo Lys/Gln ou Gln/Gln) do polimorfismo *XPC* Lys939Gln, após terapêutica com CDDP e RT. Estes dados sugerem

que o referido alelo exerça papel protetor na ocorrência de ototoxicidade. De forma contraditória, o genótipo Gln/Gln do polimorfismo *XPC* Lys939Gln foi associado com maior ototoxicidade de pacientes com osteosarcoma tratados com esquema terapêutico baseado em CDDP (CARONIA *et al.*, 2009).

De forma semelhante, o genótipo Gln/Gln do polimorfismo *XPB* Lys751Gln foi também associado a aparente efeito protetor de ototoxicidade em orelha esquerda, nas frequências 0,25 e 1 kHz, em nossos casos tratados com CDDP associada à RT, mas este efeito foi desprovido de significado clínico (inferior a 25 dB). O polimorfismo *XPB* Lys751Gln não influenciou na audição de pacientes com osteossarcoma (CARONIA *et al.*, 2009) e câncer de ovário (KHRUNIN *et al.*, 2010).

Já é conhecido que as proteínas XPC e XPB, codificadas pelos respectivos alelos variantes dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln e *XPB* Lys751Gln, têm menores potenciais de reparo de lesões de DNA (QIAO *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2008). Assim, é possível que induzam mais a apoptose das células ciliadas internas e externas cocleares e, dessa forma, acarretem a redução dos limiares auditivos e ototoxicidade. Entretanto, o genótipo variante do polimorfismo *XPC* Lys939Gln atuou como protetor de ototoxicidade em nosso estudo. A explicação para a associação do genótipo Lys/Gln ou Gln/Gln do polimorfismo *XPC* Lys939Gln e proteção à ototoxicidade em nossos pacientes tratados com CDDP e RT não é clara, uma vez que esperávamos resultados opostos.

Observamos que pacientes com os genótipos Asn/Asn do polimorfismo *XPB* Asp312Asn e TT do polimorfismo *ERCC1* C118T apresentaram maior perda auditiva (frequências médias e altas) e/ou maior ototoxicidade. Porém, os polimorfismos *XPB* Asp312Asn e *ERCC1* C118T não influenciaram na audição de pacientes com osteosarcoma (CARONIA *et al.*, 2009) e câncer de ovário (KHRUNIN *et al.*, 2010), tratados com esquema terapêutico baseado em CDDP.

É possível que as proteínas XPB e ERCC1, codificadas pelos respectivos alelos variantes dos polimorfismos *XPB* Asp312Asn e *ERCC1* C118T, têm menores potenciais de reparo de lesões de DNA (YU *et al.*, 2000; QIAO *et al.*, 2002). Assim, é possível que induzam mais a apoptose das células ciliadas internas e externas cocleares e, dessa forma, acarretem a redução dos limiares auditivos e ototoxicidade. Esta é a possível explicação para a maior redução dos limiares auditivos e ototoxicidade observada em pacientes com os genótipos variantes dos polimorfismos *XPB* Asp312Asn e *ERCC1* C118T em nosso estudo.

Médias e frequências similares dos genótipos distintos do polimorfismo *XPF* T30028C foram observadas em pacientes com CCECP estratificados por limiares auditivos e ototoxicidade ao tratamento em nosso estudo, respectivamente.

Acredita-se que a proteína XPF, codificada pelo alelo variante (C) do polimorfismo *XPF* T30028C, tem menor potencial de reparo de lesões de DNA (WINSEY *et al.*, 2000) induzidas pela CDDP. Assim, é possível que induza mais a apoptose das células ciliadas internas e externas cocleares e, dessa forma, acarretem a ototoxicidade. Assim, seria esperado que maior redução dos limiares auditivos e maior frequência ototoxicidade oriunda ao tratamento com CDDP e RT fosse alterada por este polimorfismo, mas tais resultados não foram observados em nosso estudo. Novamente, é possível que a magnitude do comprometimento no reparo das lesões causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos não seja suficiente para determinar diferenças desta toxicidade. Outra possibilidade é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar a manifestação em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos gênicos.

Assim, os resultados do nosso estudo sugerem que os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB10* Asp312Asn, *XPB23* Lys751Gln e *ERCC1* C118T, mas não o *XPF* T30028C, influenciam os graus de ototoxicidade observados durante terapêutica de pacientes com CCECP com CDDP e RT.

### **3.4. Nefrotoxicidade**

No presente estudo, observamos que as médias de ClCr e da TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr dos nossos pacientes, antes e após o tratamento, foram de 91,1 e 78,7 mL/min/1,73m<sup>2</sup> e 83,4 e 64,2 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, respectivamente. Assim, redução de 13,6% nos valores de ClCr e de 23,0% nos valores da TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr foram por nós identificadas ao término do tratamento. Já é de muito conhecido que dosagens de Cr, bem como o ClCr, são limitados para a determinação da injúria renal por CDDP (JONHSON & O'DWYER, 2005). A TFG medida com EDTA-<sup>51</sup>Cr é considerada o método mais preciso para a avaliação efetiva da função renal, sendo provavelmente a maneira mais apropriada de avaliar, 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).

A nefrotoxicidade por CDDP é um processo multifatorial. A exposição das células tubulares renais 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).

Médias similares dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPD* T30028C e *ERCC1* C118T foram observadas em pacientes estratificados por ClCr e TFG com EDTA-<sup>51</sup>Cr medidos antes e após o tratamento em nosso estudo. Entretanto, o genótipo CT do polimorfismo *ERCC1* C118T foi relacionado com maior nefrotoxicidade em pacientes com câncer de ovário (KHRUNIN *et al.*, 2010), mas não em pacientes com câncer de pulmão (ISLA *et al.*, 2004; CHEN *et al.*, 2010). Já os polimorfismos *XPB* Asp312Asn e *XPB* Lys751Gln não foram relacionados com nefrotoxicidade em pacientes com câncer de ovário tratados com CDDP (KHRUNIN *et al.*, 2010).

Acredita-se que as proteínas XPC, XPB, XPB, XPD e ERCC1, codificadas pelos respectivos alelos variantes dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPD* T30028C e *ERCC1* C118T, têm menores potenciais de reparo de lesões de DNA (WINSEY *et al.*, 2000; YU *et al.*, 2000; QIAO *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2008) e, assim, é possível que induzam de forma mais consistente a apoptose das células tubulares renais. Assim, seria esperado que a nefrotoxicidade oriunda ao tratamento com CDDP e RT fosse alterada por estes polimorfismos, mas tais resultados não foram observados em nosso estudo. Novamente, é possível que a magnitude do comprometimento no reparo das lesões causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos não seja suficiente para determinar diferenças desta toxicidade. Outra possibilidade é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar a manifestação em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos gênicos.

Assim, os resultados do nosso estudo sugerem que os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln, *XPD* T30028C e *ERCC1* C118T não influenciam a nefrotoxicidade induzida pela CDDP em pacientes com CCECP.

#### 4. Concentração de CDDP urinária

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

A CDDP se une à proteínas plasmáticas e, a seguir, difunde para os tecidos (DE CONTI *et al.*, 1973; HIMMELSTEIN *et al.*, 1981). De acordo com descrições prévias, sabe-se que 23,0 a 40,0% 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).

Encontramos uma tendência a menor concentração de CDDP urinária em pacientes com o alelo C (genótipo TC ou CC) do polimorfismo *XPF* T30028C.

Acredita-se que a proteína XPF, codificada pelo alelo variante (C) do polimorfismo *XPF* T30028C, tem menor potencial de reparo de lesões de DNA (WINSEY *et al.*, 2000) e, assim, é possível que a CDDP permaneça no interior das células e que seja excretada em menores concentrações na urina. Os resultados deste estudo sugerem que o alelo variante possa modular a concentração urinária da CDDP em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT, mas estes resultados necessitam confirmação por estudos adicionais.

Médias similares dos genótipos distintos dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln e *ERCC1* C118T foram observadas em pacientes estratificados por concentração urinária de CDDP em nosso estudo. Até o momento, não encontramos trabalhos que relacionem os referidos polimorfismos com a concentração de CDDP urinária.

As proteínas XPC, XPB, XPB e ERCC1, codificadas pelos respectivos alelos variantes dos polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln e *ERCC1* C118T, têm menores potenciais de reparo de lesões de DNA (YU *et al.*, 2000; QIAO *et al.*, 2002; ZHU *et al.*, 2008) e, assim, é possível que a CDDP permaneça no interior das células e que seja excretada em menores concentrações na urina. Assim,

seria esperado maiores concentrações urinárias de CDDP em pacientes com os alelos variantes desses polimorfismos, mas tais resultados não foram observados em nosso estudo. Novamente, é possível que a magnitude do comprometimento no reparo das lesões causadas pela CDDP em pacientes com os diferentes genótipos dos referidos polimorfismos não seja suficiente para tal determinação. Outra possibilidade é a de que o número de pacientes avaliados em nosso estudo não tenha sido suficiente para evidenciar diferenças de concentração de CDDP urinária em pacientes com os genótipos distintos dos polimorfismos gênicos. Assim, os resultados do nosso estudo sugerem que os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn, *XPB* Lys751Gln e *ERCC1* C118T não influenciam a excreção urinária de CDDP em pacientes com CCECP.

Espera-se que em futuro próximo, os estudos de farmacogenética possam contribuir para implementar prescrições individualizadas de quimioterápicos para pacientes com câncer. Exemplos disso são os estudos com foco na taxa de resposta do tamoxifeno associada a polimorfismos do gene *Citocromo P-450, família 2, subfamília D, polipeptídeo 6 (CYP2D6)* em mulheres com tumores de mama. O tamoxifeno é uma pré-droga da classe dos antagonistas de receptores de estrógeno, que atua sobre células tumorais da mama com positividade para este receptor. Suas ações farmacológicas são atribuídas pela produção de seus metabólito, em especial ao endoxifeno (LIM *et al.*, 2005). A geração destes metabólitos é mediada principalmente pelo gene *CYP2D6* (DESTA *et al.*, 2004), que é altamente polimórfico (JIN *et al.*, 2005). Estudos mostraram que polimorfismos neste gene podem reduzir a metabolização do tamoxifeno, conferindo menor sobrevida a pacientes tratadas com a terapia hormonal (GOETZ *et al.*, 2005). Grande incentivo para desenvolvimento de testes comerciais para genotipagem destes polimorfismos foi observado após esta descoberta mas, os testes ainda não são utilizados na prática médica de rotina.

Estudos baseados em avaliações de pacientes com CCECP considerando o polimorfismo *XPB* Asp312Asn, associado a variável resposta completa neste estudo, em avaliações de pacientes com CCECP considerando os polimorfismos *XPC* Lys939Gln, *XPB* Asp312Asn e *ERCC1* C118T, associados à ototoxicidade neste estudo, e medicamentos otoprotetores, como amifostina (EKBORN *et al.*, 2002; FOULADI *et al.*, 2008), lactato e N-acetilcisteína intratimpânicos (CHOE *et al.*, 2004) e dexametasona intratimpânica (HILL *et al.*, 2008) nos parecem promissores.

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

## Conclusões

- O polimorfismo *XPD10 Asp312Asn* está associado à taxa de resposta completa ao esquema terapêutico de CDDP associada à RT em pacientes com CCECP em nossa amostra,
- Os polimorfismos *XPC Lys939Gln*, *XPD10 Asp312Asn*, *XPD23 Lys751Gln*, *XPF T30028C* e *ERCC1 C118T* estão associados a efeitos colaterais da terapêutica com CDDP e RT, como náuseas, vômitos, redução da acuidade auditiva e ototoxicidade, mas não alteram a mielossupressão e a nefrotoxicidade em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT em nossa amostra e,
- O polimorfismo *XPF T30028C* pode modular a concentração de CDDP urinária em pacientes com CCECP tratados com CDDP e RT em nossa amostra.

## Referências Bibliográficas

1. ABBASI, R.; RAMROTH, H.; BECHER, H.; DIETZ, A.; SCHMEZER, P.; POPANDA, O. Laryngeal cancer risk associated with smoking and alcohol consumption is modified by genetic polymorphisms in ERCC5, ERCC6 and RAD23B but not by polymorphisms in five other nucleotide excision repair genes. *International Journal of Cancer*, 125:1431-1439, 2009.
2. 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.
3. 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.
4. ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. *Molecular Biology of the Cell*. 5 ed. Nova York: Garland Science, p. 1616, 2008.
5. ALVARENGA, L. M.; RUIZ, M. T.; PAVARINO-BERTELLI, E. C.; RUBACK, M. J. C.; MANIGLIA, J. V.; GOLONI-BERTOLLO, E. M. Avaliação epidemiológica de pacientes com câncer de cabeça e pescoço em um hospital universitário do noroeste do estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, 74:68-73, 2008.
6. AN, J.; LIU, Z.; HU, Z.; LI, G.; WANG, L. E.; STURGIS, E. M.; EL-NAGGAR, A. K.; SPITZ, M. R.; WEI, Q. Potentially functional single nucleotide polymorphisms in the core nucleotide excision repair genes and risk of squamous cell carcinoma of head and neck. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 16:1633-1638, 2007.
7. 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.
8. ASHP Therapeutic Guidelines on the Pharmacologic Management of Nausea and Vomiting in Adult and Pediatric Patients Receiving Chemotherapy or Radiation Therapy or Undergoing Surgery. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 56:729-764, 1999.
9. 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.
10. BACCARELLI, A.; CALISTA, D.; MINGHETTI, P.; MARINELLI, B.; ALBETTI, B.; TSENG, T.; HEDAYATI, M.; GROSSMAN, L.; LANDI, G.; STRUEWING, J. P.; LANDI, M. T. *XPD* gene polymorphism and host characteristics in the association with cutaneous malignant melanoma risk. *British Journal of Cancer*, 90:497-502, 2004.

11. BADELL, M. L.; RAMIN, S. M.; SMITH, J. A. Treatment options for nausea and vomiting during pregnancy. *Pharmacotherapy*, 26:1273-1287, 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. <sup>51</sup>Cr-EDTA Measurements of the glomerular filtration rate in patients with sickle cell anemia and minor renal damage. *Nuclear Medicine Communications*, 27:959-962, 2006.
13. BC CANCER AGENCY CANCER DRUG MANUAL©. Monografia da Cisplatina. Acesso em: [http://www.bccancer.bc.ca/NR/rdonlyres/DCC88F7E-EDF8-4340-A63A-932144D9E282/64270/Cisplatin\\_monograph\\_1June2013\\_formatted.pdf](http://www.bccancer.bc.ca/NR/rdonlyres/DCC88F7E-EDF8-4340-A63A-932144D9E282/64270/Cisplatin_monograph_1June2013_formatted.pdf). Disponível em: 16 de Junho de 2014.
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.
16. 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.
17. BESS, F. H.; HUMES, L. E. Audiologia como uma profissão. In: Bess, F. H.; Humes, L. E. *Fundamentos em Audiologia*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 15-34, 1998.
18. 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.
19. BLADBJERG, E. M.; GRAM, J.; JESPERSEN, J.; DE MAAT, M. P. Internal quality control of PCR-based genotyping methods: practical experiences. *Vascular Pharmacology*, 39:127-129, 2002.
20. BOKEMEYER, C.; BERGER, C. C.; HARTMANN, J. T.; KOLLMANNSBERGER, 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.
21. BORELLI, P.; BLATTII, S. L.; ROGEROIII, M. M.; FOCK, R. A. Haematological alterations in protein malnutrition. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 26: 49-56, 2004.
22. 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.

23. BROCHNER-MORTENSEN, J.; GIESE, J.; ROSSING, N. Renal inulin clearance versus total plasma clearance of <sup>51</sup>Cr-EDTA. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 23:301-305, 1969.
24. CAMPS, C.; SARRIES, C.; ROIG, B.; SANCHEZ, J. J.; QUERALT, C.; SANCHO, E.; MARTINEZ, N.; TARÓN, M.; ROSELL, R. Assessment of nucleotide excision repair XPD polymorphisms in the peripheral blood of gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small-cell lung cancer patients. *Clinical Lung Cancer*, 4:237-241, 2003.
25. 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.
26. 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.
27. CARONIA, D.; PATIÑO-GARCÍA, A.; MILNE, R. L.; ZALACAIN-DÍEZ, M.; PITA, G.; ALONSO, M. R.; MORENO, L. T.; SIERRASESUMAGA-ARIZNABARRETA, L.; BENÍTEZ, J.; GONZÁLEZ-NEIRA, A. Common variations in ERCC2 are associated with response to cisplatin chemotherapy and clinical outcome in osteosarcoma patients. *The Pharmacogenomics Journal*, 9:347-353, 2009.
28. CARVALHO, A. L.; SINGH, B.; SPIRO, R. H.; KOWALSKI, L. P.; SHAH, J. P. Cancer of the oral cavity: a comparison between institutions in a developing and a developed nation. *Head and Neck*, 26:31-38, 2004.
29. CASATI, M. F. M.; VASCONCELOS, J. A.; VERGNHANINI, G. S.; CONTREIRO, P. F.; GRAÇA, T. B.; KANDA, J. L.; AKERMAN, M.; MATOS L. L. Epidemiologia do câncer de cabeça e pescoço no Brasil: estudo transversal de base populacional. *Revista Brasileira de Cirurgia de Cabeça e Pescoço*, 41:186-191, 2012.
30. CHAN, S. H.; NG, W. T.; KAM, K. L.; LEE, M. C.; CHOI, C. W.; YAU, T. K.; LEE, A. W.; CHOW, S. K. Sensorineural hearing loss after treatment of nasopharyngeal carcinoma: a longitudinal analysis. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 73:1335-1342, 2009.
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, S.; HUO, X.; LIN, Y.; BAN, H.; LIN, Y.; LI, W.; ZHANG, B.; AU, W. W.; XU, X. Association of MDR1 and ERCC1 polymorphisms with response and toxicity to cisplatin-based chemotherapy in non-small-cell lung cancer patients. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213:140-145, 2010.

33. CHIPCHASE, M. D.; MELTON, D. W. The formation of UV-induced chromosome aberrations involves ERCC1 and XPF but not other nucleotide excision repair genes. *DNA Repair (Amst.)*, 1:335-340, 2002.
34. CHOE, W. T.; CHINOSORNVATANA, N.; CHANG, K. W. Prevention of cisplatin ototoxicity using transtympanic N-acetylcysteine and lactate. *Otology & Neurotology*, 25:910-915, 2004.
35. CHU, E.; MCGOWAN, M.; ELFIKY, A.; KANG, S. P.; HARROLD, L. J.; TIEDEMANND, D.; COPUR, M. S. Chemotherapeutic and Biologic Drugs. In: CHU, E.; DEVITA, V. T. *Physician's Cancer Chemotherapy Drug Manual 2013*. Massachusetts: Jones and Bartlett Publishers, p.94-98, 2013.
36. CLINGEN, P. H.; ARLETT, C. F.; HARTLEY, J. A.; PARRIS, C. N. Chemosensitivity of primary human fibroblasts with defective unhooking of DNA interstrand cross-links. *Experimental Cell Research*, 313:753-760, 2007.
37. COCKCROFT, D. W.; GAULT, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron Journal*, 16:31-41, 1976.
38. CONWAY, D. I.; PETTICREW, M.; MARLBOROUGH, H.; BERTHILLER, J.; HASHIBE, M.; MACPHERSON, L. M. Socioeconomic inequalities and oral cancer risk: a systematic review and meta-analysis of case-control studies. *International Journal of Cancer*, 122:2811-2819, 2008.
39. COSTA, R. M. A.; MENCK, C. F. M. Genes de reparo de DNA. In: FERREIRA, C. G.; ROCHA, J. C. *Oncologia molecular*. Atheneu, São Paulo, p43-55, 2004.
40. CUNNINGHAM, D.; DICATO, M.; VERWEIJ, J.; CROMBEZ, R.; DE MULDER, P.; DU BOIS, A.; STEWART, A.; SMYTH, J.; SELBY, P.; VAN STRAELEN, D.; PARIDEANS, R.; MCQUADE, B.; 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.
41. CURADO, M.P.; HASHIBE, M. Recent changes in the epidemiology of head and neck cancer. *Current Opinion in Oncology*, 21:194-200, 2009.
42. DAVIS, H.; SILVERMAN, S. R. Auditory Test Hearing Aids. In: DAVIS, H.; SILVERMAN, S. R. *Hearing and Deafness*. 3 ed. Holt: Rinehart and Winston, p. 253-279, 1970.
43. DE CASTRO, G. Jr.; PASINI, F. S.; SIQUEIRA, S. A.; FERRAZ, A. R.; VILLAR, R. C.; SNITCOVSKY, I. M.; FEDERICO, M. H. ERCC1 protein, mRNA expression and T19007C polymorphism as prognostic markers in head and neck squamous cell carcinoma patients treated with surgery and adjuvant cisplatin-based chemoradiation. *Oncology Reports*, 25:693-699, 2011.
44. DE CASTRO, G. Jr.; SNITCOVSKY, I. M.; GEBRIM, E. M.; LEITÃO, G. M.; NADALIN, W.; FERRAZ, A. R.; FEDERICO, M. H. High-dose cisplatin concurrent to conventionally delivered radiotherapy is associated with unacceptable toxicity in unresectable, non-metastatic stage

- IV head and neck squamous cell carcinoma. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 264:1475-1482, 2007.
45. DE CONTI, R. C.; TOFTNESS, B. R.; LANGE, R. C.; CREASEY, W. A. Clinical and pharmacological studies with cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Research*, 33:1310-1315, 1973.
  46. DELL'ARINGA, A. H.; ISAAC, M. L.; ARRUDA, G. V.; ESTEVES, M. C.; DELL'ARINGA, A.R.; JÚNIOR, J. L.; RODRIGUES, A. F. Audiological findings in patients treated with radio- and concomitant chemotherapy for head and neck tumors. *Radiation Oncology*, 4:53, 2009.
  47. DENG, Z.; HASEGAWA, M.; MATAYOSHI, S.; KIYUNA, A.; YAMASHITA, Y.; MAEDA, H.; SUZUKI, M. Prevalence and clinical features of human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinoma in Okinawa, southern Japan. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 268:1625-1631, 2011.
  48. DESTA, Z.; WARD, B. A.; SOUKHOVA, N. V.; FLOCKHART, D. A. Comprehensive evaluation of tamoxifen sequential biotransformation by the human cytochrome P450 system in vitro: prominent roles for *CYP3A* and *CYP2D6*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 310:1062-1075, 2004.
  49. 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*, 8:102-111, 2004.
  50. DÖBROSSY, L. Epidemiology of head and neck cancer: Magnitude of the problem. *Cancer and Metastasis Reviews*, 24:9-17, 2005.
  51. 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.
  52. 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.
  53. 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.
  54. EKBORN, A.; LAURELL, G.; JOHNSTRÖM, P.; WALLIN, I.; EKSBORG, S.; EHRSSON, H. D-Methionine and cisplatin ototoxicity in the guinea pig: D-methionine influences cisplatin pharmacokinetics. *Hearing Research*, 165:53-61, 2002.
  55. EL-MOFTY, S. K. Human Papillomavirus (HPV) Related Carcinomas of the Upper Aerodigestive Tract. *Head and Neck Pathology*, 1(2):181-185, 2007.
  56. 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.

57. 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.
58. 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.
59. 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.
60. 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.
61. 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.
62. FOULADI, M.; CHINTAGUMPALA, M.; ASHLEY, D.; KELLIE, S.; GURURANGAN, S.; HASSALL, T.; GRONEWOLD, L.; STEWART, C. F.; WALLACE, D.; BRONISCHER, A.; HALE, G. A.; KASOW, K. A.; MERCHANT, T. E.; MORRIS, B.; KRASIN, M.; KUN, L. E.; BOYETT, J. M.; GAJJAR, A. Amifostine protects against cisplatin-induced ototoxicity in children with average-risk medulloblastoma. *Journal of Clinical Oncology*, 26: 3749-3755, 2008.
63. 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.
64. FUKUSHIMA-UESAKA, H.; SAITO, Y.; MAEKAWA, K.; KUROSE, K.; SUGIYAMA, E.; KATORI, N.; KANIWA, N.; HASEGAWA, R.; HAMAGUCHI, T.; EGUCHI-NAKAJIMA, T.; KATO, K.; YAMADA, Y.; SHIMADA, Y.; YOSHIDA, T.; YAMAMOTO, N.; NOKIHARA, H.; KUNITOH, H.; OHE, Y.; TAMURA, T.; URA, T.; SAITO, M.; MURO, K.; DOI, T.; FUSE, N.; YOSHINO, T.; OHTSU, A.; SAIJO, N.; MATSUMURA, Y.; OKUDA, H.; SAWADA, J. Genetic polymorphisms of copper- and platinum drug-efflux transporters ATP7A and ATP7B in Japanese cancer patients. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 24:565-574, 2009.
65. 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*, 16:501-506, 2006.
66. 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*, 23:383-388, 2013.

67. GATTÁS, G. J.; DE CARVALHO, M. B.; SIRAQUE, M. S.; CURIONI, O. A.; KOHLER, 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.
68. GILLET, L. C.; SCHÄRER, O. D. Molecular mechanisms of mammalian global genome nucleotide excision repair. *Chemistry Reviews*, 106:253:276, 2006.
69. 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*, 23:9312-9318, 2005.
70. GOODE, E. L.; ULRICH, C. M.; POTTER, J. D. Polymorphism in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 11:1513-1530, 2002.
71. 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.
72. 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.
73. GURUBHAGAVATULA, S.; LIU, G.; PARK, S.; ZHOU, W.; SU, L.; WAIN, J. C.; LYNCH, T. J.; NEUBERG, D. S.; CHRISTIANI, D. C. XPD and XRCC1 genetic polymorphisms are prognostic factors in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with platinum chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 22:2594-2601, 2004.
74. HAFKAMP, H. C.; MANNI, J. J.; HAESEVOETS, A.; VOOGD, A. C.; SCHEPERS, M.; BOT, F. J.; HOPMAN, A. H.; RAMAEKERS, F. C.; SPEEL, E. J. Marked differences in survival rate between smokers and nonsmokers with HPV 16-associated tonsillar carcinomas. *International Journal of Cancer*, 122:2656-2664, 2008.
75. 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.
76. HAN, J.; COLDITZ, G. A.; LIU, J. S.; HUNTER, D. J. Genetic variation in XPD, sun exposure, and risk of skin cancer. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 14: 1539-1544, 2005.
77. 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.

78. 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.
79. HARRIS, J. D.; HAINES, H. L.; MYERS, C. K. The importance of hearing at 3kc understanding speed speech. *Laryngoscope*, 70:131-146, 1960.
80. 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.
81. HAYES, P. C.; BOUCHIER, I. A. D.; BECKETT, G. J. Glutathione S-transferase in humans in healthy and disease. *Gut*, 32:813-818, 1991.
82. HECHT, S. S. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3:733-744, 2003.
83. HENRIKSSON, E.; BALDETORP, B.; BORG, A.; KJELLEN, E.; AKERVALL, J.; WENNERBERG, J.; WAHLBERG, P. p53 mutation and cyclin D1 amplification correlate with cisplatin sensibility in xenografted human squamous cell carcinomas from head and neck. *Acta Oncologica*, 45:300-305, 2006.
84. HESKETH, P. J. Chemotherapy-induced nausea and vomiting. *The New England Journal of Medicine*, 358: 2482-2494, 2008.
85. HESKETH, P. J.; KRIS, M. G.; GRUNBERG, S. M.; BECK, T.; HAINSWORTH, J. D.; HARKER, G.; AAPRO, M. S.; GANDARA, D.; LINDLEY, C. M. Proposal for classifying the acute emetogenicity of cancer chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 15:103-109, 1997.
86. HESKETH, P. J.; VAN BELLE, S.; AAPRO, M.; TATTERSALL, F. D.; NAYLOR, R. J.; HARGREAVES, R.; CARIDES, A. D.; EVANS, J. K.; HORGAN, K. J. Differential involvement of neurotransmitters through the time course of cisplatin-induced emesis as revealed by therapy with specific receptor antagonists. *European Journal of Cancer*, 39:1074-1080, 2003.
87. HILL, G. W.; MOREST, D. K.; PARHAM, K. Cisplatin-induced ototoxicity: effect of intratympanic dexamethasone injections. *Otology & Neurotology*, 29:1005-1011, 2008.
88. HIMMELSTEIN, K. J.; PATTON, T. F.; BELT, R. J.; TAYLOR, S.; REPTA, A. J.; STERNSON, L. A. Clinical kinetics on intact cisplatin and some related species. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 29:658-664, 1981.
89. HITCHCOCK, Y. J.; TWARD, J. D.; SZABO, A.; BENTZ, B. G.; SHRIVIEVE, 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.
90. 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*, 40:294-301, 2010.
91. 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.
  92. 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.
  93. 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.
  94. HORIGUCHI, H.; OGUMA, E.; KAYAMA, F. Cadmium and cisplatin damage erythropoietin-producing proximal renal tubular cells. *Archives of Toxicology*, 80:680-686, 2006.
  95. 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.
  96. 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.
  97. HUSAIN, K.; WHITWORTH, C.; SOMANI, S. M.; RYBAK, L. P. Carboplatin-induced oxidative stress in rat cochlea. *Hearing Research*, 159:14-22, 2001.
  98. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Estimativa 2014: incidência de câncer no Brasil. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/>. Acesso em: 12 de Maio de 2014.
  99. INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. Estimativa da Incidência e mortalidade por câncer no Brasil. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/estimativa-24042014.pdf>. Acesso em: 27 de Junho de 2014.
  100. IRANZO, V.; SIRERA, R.; BREMNES, R. M.; BLASCO, A.; JANTUS-LEWINTRE, E.; TARÓN, M.; BERROCAL, A.; BLASCO, S.; CABALLERO, C.; DEL POZO, N.; ROSELL, R.; CAMPS, C. Chemotherapy-induced neutropenia does not correlate with DNA repair gene polymorphisms and treatment efficacy in advanced non-small-cell lung cancer patients. *Clinical Lung Cancer*, 12:224-230, 2011.
  101. ISLA, D.; SARRIES, C.; ROSELL, R.; ALONSO, G.; DOMINE, M.; TARON, M.; LOPEZ-VIVANCO, G.; CAMPS, C.; BOTIA, M.; NUNEZ, L.; SANCHEZ-RONCO, M.; SANCHEZ, J. J.; LOPEZ-BREA, M.; BARNETO, I.; PAREDES, A.; MEDINA, B.; ARTAL, A.; LIANES, P.

- Single nucleotide polymorphisms and outcome in docetaxel-cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer. *Annals of Oncology*, 15:1194-1203, 2004.
102. JACOBSON, L. O.; GOLDWASSER, E.; FRIED, W.; PLZAK, L. Role of the kidney in erythropoiesis. *Nature*, 179:633-634, 1957.
  103. 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.
  104. 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.
  105. 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.
  106. 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.
  107. 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*, 97:30-39, 2005.
  108. 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.
  109. JUNGE, W.; WILKE, B.; HALABI, A.; KLEIN, G. Determination of reference intervals for serum creatinine, creatinine excretion and creatinine clearance with an enzymatic and a modified Jaffé method. *Clinical Chimica Acta*, 344:137-148, 2004.
  110. KALIKAKI, A.; KANAKI, M.; VASSALOU, H.; SOUGLAKOS, J.; VOUTSINA, A.; GEORGOULIAS, V.; MAVROUDIS, D. DNA repair gene polymorphisms predict favorable clinical outcome in advanced non-small-cell lung cancer. *Clinical Lung Cancer*, 10(2):118-123, 2009.
  111. 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.
  112. KAMIKOZURU, H.; KURAMOCHI, H.; HAYASHI, K.; NAKAJIMA, G.; YAMAMOTO, M. ERCC1 codon 118 polymorphism is a useful prognostic marker in patients with pancreatic cancer treated with platinum-based chemotherapy. *International Journal of Oncology*, 32:1091-1096, 2008.
  113. KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 7:573-584, 2007.

114. KHAN, S. G.; METTER, E. J.; TARONE, R. E.; BOHR, V. A.; GROSSMAN, L.; HEDAYATI, M.; BALE, S. J.; EMMERT, S.; KRAEMER, K. H. A new xeroderma pigmentosum group C poly (AT) insertion/deletion polymorphism. *Carcinogenesis*, 21:1821-1825, 2000.
115. KHLIF, 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*, 93:4350-4354, 1996.
116. 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.
117. 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.
118. KIM, L.; KING, T.; AGULNIK, M. Head and neck cancer: changing epidemiology and public health implications. *Oncology (Williston Park)*, 24:915-919, 2010.
119. KLUSMANN, 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. *The American Journal of Pathology*, 162:747-753, 2003.
120. KOELLER, J. M.; AAPRO, M. S.; GRALLA, R. J.; GRUNBERG, S. M.; HESKETH, P. J.; KRIS, M. G.; CLARK-SNOW, R. A. Antiemetic guidelines: creating a more practical treatment approach. *Supportive Care in Cancer*, 10:519-522, 2002.
121. KREIMER, A. R.; CLIFFORD, G. M.; BOYLE, P.; FRANCESCHI, S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 14:467-475, 2005.
122. 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.
123. KRIS, M. G.; TONATO, M.; BRIA, E.; BALLATORI, E.; ESPERSEN, B.; HERRSTEDT, J.; RITTENBERG, C.; EINHORN, L. H.; GRUNBERG, S.; SAITO, M.; MORROW, G.; HESKETH, P. Consensus recommendations for the prevention of vomiting and nausea following high-emetic-risk chemotherapy. *Support Care Cancer*, 19:S25-S32, 2011.
124. KRSTEVSKA, V.; STOJKOVSKI, I.; LUKARSKI, D. Concurrent radiochemotherapy in advanced hypopharyngeal cancer. *Radiation Oncology*, 5:39, 2010.

125. KUO, K. T.; HSIAO, C. H.; LIN, C. H.; KUO, L. T.; HUANG, S. H.; LIN, M. C. The biomarkers of human papillomavirus infection in tonsillar squamous cell carcinoma-molecular basis and predicting favorable outcome. *Modern Pathology*, 21:376-386, 2008.
126. 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.
127. 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.
128. 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.
129. LAINÉ, J. P.; MOCQUET, V.; BONFANTI, M.; BRAUN, C.; EGLY, J. M.; BROUSSET, P. Common *XPD* (ERCC2) polymorphisms have no measurable effect on nucleotide excision repair and basal transcription. *DNA Repair (Amst)*, 6:1264-1270, 2007.
130. 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.
131. LAZARUS, P.; PARK, J. Y. Metabolizing enzyme genotype and risk for upper aerodigestive tract cancer. *Oral Oncology*, 36:421-431, 2000.
132. LEEMANS, C. R.;BRAAKHUIS, B. J.; BRAKENHOFF, R. H. The molecular biology of head and neck cancer. *Nature Reviews Cancer*, 11:9-22, 2011.
133. LEHMANN, A. R. DNA repair-deficient diseases, xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome and trichothiodystrophy. *Biochimie*, 85:1101-1111, 2003.
134. LEVI, J. A.; ARONEY, R. S.; DALLEY, D. N. Haemolytic anaemia after cisplatin treatment. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 282:2003-2004, 1981.
135. LIANG, J.; GU, A.; XIA, Y.; WU, B.; LU, N.; WANG, W.; LU, C.; ZHENG, Q.; WANG, S.; WANG, X. XPC gene polymorphisms and risk of idiopathic azoospermia or oligozoospermia in a Chinese population. *International Journal of Andrology*, 32:235-241, 2007.
136. LI, C.; HU, Z.; LIU, Z.; WANG, L. E.; STROM, S. S.; GERSHENWALD, J. E.; LEE, J. E.; ROSS, M. I.; MANSFIELD, P. F.; CORMIER, J. N.; PRIETO, V. G.; DUVIC, M.; GRIMM, E. A.; WEI, Q. Polymorphism in the DNA repair genes XPC, XPD and XPG and risk of cutaneous melanoma: a case-control analysis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 15:2526-2532, 2006.
137. 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.

138. 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.
139. LI, L.; PETERSON, C.; LEGERSKI R. Sequence of the mouse XPC cDNA and genomic structure of the human XPC gene. *Nucleic Acids Research*, 24:1026-1028, 1996.
140. LI, W.; THOMPSON, C. H.; O'BRIEN, C. J.; MCNEIL, E. B.; SCOLYER, R. A.; COSSART, Y. E.; VENESS, M. J.; WALKER, D. M.; MORGAN, G. J.; ROSE, B. R. Human papillomavirus positivity predicts favourable outcome for squamous carcinoma of the tonsil. *International Journal of Cancer*, 106: 553-558, 2003.
141. LI, X. D.; HAN, J. C.; ZHANG, Y. J.; LI, H. B.; WU, X. Y. Common variations of DNA repair genes are associated with response to platinum-based chemotherapy in NSCLCs. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14:145-148, 2013.
142. LIEU, J. E. Speech-language and educational consequences of unilateral hearing loss in children. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 130:524-530, 2004.
143. 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*, 55:471-478, 2005.
144. LINK, H. Supportive therapy in medical therapy of head and neck tumors. *GMS Current Topics in Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery*, 22:347-355, 2012.
145. 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.
146. 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.
147. 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.
148. 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.
149. 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.
150. LÓPEZ, R. V.; LEVI, J. E.; ELUF-NETO, J.; KOIFMAN, R. J.; KOIFMAN, S.; CURADO, M. P.; MICHALUART-JUNIOR, P.; FIGUEIREDO, D. L.; SAGGIORO, F. P.; DE CARVALHO, M. B.;

- KOWALSKI, L. P.; ABRAHÃO, M.; DE GÓIS-FILHO, F.; TAJARA, E. H.; WATERBOER, T.; BOFFETTA, P.; BRENNAN, P.; WÜNSCH-FILHO, V. Human papillomavirus (HPV) 16 and the prognosis of head and neck cancer in a geographical region with a low prevalence of HPV infection. *Cancer Causes and Control*, 25:461-471, 2014.
151. 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.
152. MAHIMKAR, M. B.; SAMANT, T. A.; KANNAN, S.; TULSULKAR, J.; PAI, P. S.; ANANTHARAMAN, D. Polymorphisms in GSTM1 and XPD genes predict clinical outcome in advanced oral cancer patients treated with postoperative radiotherapy. *Molecular Carcinogenesis*, 51:E94-E103, 2012.
153. 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.
154. MARTIN, L. P.; HAMILTON, T. C.; SCHILDER, R. J. Platinum resistance: the role of DNA repair pathways. *Clinical Cancer Research*, 14:1291-1295, 2008.
155. 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.
156. 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.
157. MATAKIDOU, A.; EL GALTA, R.; WEBB, E. L.; RUDD, M. F.; BRIDLE, H.; EISEN, T.; HOULSTON, R. S. Genetic variation in the DNA repair genes is predictive of outcome in lung cancer. *Human Molecular Genetics*, 16:2333-2340, 2007.
158. MCALPINE, D.; JOHNSTONE, B. M. The ototoxic mechanism of cisplatin. *Hearing Research*, 47:191-203, 1990.
159. MEDINA, J. A.; RUEDA, A.; DE PASOS, A. S.; CONTRERAS, J.; COBO, M.; MORENO, P.; BENAVIDES, M.; VILLANUEVA, A. N.; ALBA, E. A phase II study of concomitant boost radiation plus concurrent weekly cisplatin for locally advanced unresectable head and neck carcinomas. *Radiotherapy and Oncology*, 79:34-38, 2006.
160. 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.

161. 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.
162. 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.
163. MILLIKAN, R. C.; HUMMER, A.; BEGG, C.; PLAYER, J.; DE CONTRET, A. R.; WINKEL, S.; MOHRENWEISER, H.; THOMAS, N.; ARMSTRONG, B.; KRICKER, A.; MARRET, L. D.; GRUBER, S. B.; CULVER, H. A.; ZANETTI, R.; GALLAGHER, R. P.; DWYER, T.; REBBECK, T. R.; BUSAM, K.; FROM, L.; MUJUMDAR, U.; BERWICK, M. Polymorphism in nucleotide excision repair genes and risk of multiple primary melanoma: the genes environment and melanoma study. *Carcinogenesis*, 27:610-618 2006.
164. 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.
165. 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.
166. 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.
167. 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.
168. 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.
169. 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.
170. 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.
171. NATIONAL CANCER INSTITUTE. Cancer Therapy Evolution Program. Common Terminalogy Criteria for Adverse Events (CTCAE) v 4.0, EUA, 2009. Disponível em: <<http://ctep.cancer.gov>>. Acesso em: 16 de Janeiro de 2013.

172. NATIONAL INSTITUTE ON ALCOHOL ABUSE AND ALCOHOLISM (NIAAA) N° 30 PH 359, 1995. Alcohol Res Health, 24:1-11, 2000.
173. NORTHERN, J. L.; DOWNS, M. P. Hearing in children. 3ed. Baltimore: Williams & Wilkins, p. 391, 1984.
174. 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.
175. 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.
176. OLIVEIRA, C.; RINCK-JUNIOR, J. A.; LOURENÇO, G. J.; MORAES, A. M.; LIMA, C. S. Assessment of the XPC (A2920C), XPF (T30028C), TP53 (Arg72Pro) and GSTP1 (Ile105Val) polymorphisms in the risk of cutaneous melanoma. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 39:1199-1206, 2013.
177. OLSHAN, A. F.; WEISLER, 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.
178. 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.
179. 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.
180. PABLA, N.; DONG, Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. Kidney International, 73:994-1007, 2008.
181. PEREZ-ORDOÑEZ, B.; BEAUCHEMIN, M.; JORDAN, R. C. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. Journal of Clinical Pathology, 59: 445-453, 2006.
182. POVEY, J. E.; DARAKHSHAN, F.; ROBERTSON, K.; BISSET, Y.; MEKKY, M.; REES, J.; DOHERTY, V.; KAVANAGH, G.; ANDERSON, N.; CAMPBELL, H.; MACKIE, R. M.; MELTON, D. W. DNA repair gene polymorphisms and genetic predisposition to cutaneous melanoma. Carcinogenesis, 28:1087-1093, 2007.
183. QIAO, Y.; SPITZ, M. R.; SHEN, H.; GUO, Z.; SHETE, S.; HEDAYATI, M.; GROSSMAN, L.; MOHRENWEISER H.; WEI, Q. Modulation of repair of ultraviolet damage in the host-cell reactivation assay by polymorphic XPC and XPD/ERCC2 genotypes. Carcinogenesis, 23:295-299, 2002.

184. 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.
185. QUINTERO, K.; GIRALDO, G. A.; URIBE, M. L.; BAENA, A.; LOPEZ, C.; ALVAREZ, E.; SANCHEZ, G. I. Human papillomavirus types in cases of squamous cell carcinoma of head and neck in Colombia. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*, 79:375-381, 2013.
186. 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.
187. RABIK, C. A.; DOLAN, M. E. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treatment Review*, 33:9-23, 2007.
188. RADES, D.; KRONEMANN, S.; MEYNER, T.; BOHLEN, G.; TRIBIUS, S.; KAZIC, N.; SCHROEDER, U.; HAKIM, S. G.; SCHILD, S. E.; DUNST, J. Comparison of four cisplatin-based radiochemotherapy regimens for nonmetastatic stage III/IV squamous cell carcinoma of the head and neck. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, 80:1037-1044, 2011.
189. 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.
190. 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.
191. REED, E. Cisplatin, Carboplatin, and Oxaliplatin. In: Chabner B, editor. *Cancer chemotherapy and biotherapy*. Lippincott Williams & Wilkins, 332-343, 2006.
192. REED, E. Platinum analogs. In: De Vita, V. T.; Lawrence, T. S.; Rosemberg, S. A. *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. 9 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 386-392, 2011.
193. REN, S.; ZHOU, S.; WU, F.; ZHANG, L.; LI, X.; ZHANG, J.; XU, J.; LV, M.; ZHANG, J.; ZHOU, C. Association between polymorphisms of DNA repair genes and survival of advanced NSCLC patients treated with platinum-based chemotherapy. *Lung Cancer*, 75:102-109, 2012.
194. 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.
195. ROILA, F.; HESKETH, P. J.; HERRSTEDT, J. Prevention of chemotherapy- and radiotherapy-induced emesis: results of the 2004 Perugia International Antiemetic Consensus Conference. *Annals of Oncology*, 17:20-28, 2006.

196. ROMANITAN, M.; NÄSMAN, A.; RAMQVIST, T.; DAHLSTRAND, H.; POLYKRETIS, L.; VOGIATZIS, P.; VAMVAKAS, P.; TASOPOULOS, G.; VALAVANIS, C.; ARAPANTONIDADIOTI, P.; BANIS, K.; DALIANIS, T. Human papillomavirus frequency in oral and oropharyngeal cancer in Greece. *Anticancer Research*, 28:2077-2080, 2008.
197. RUSSO, I. C. P.; BEHLAU, M. Percepção da fala: análise acústica do Português brasileiro. São Paulo: Lovise, p. 57, 1993.
198. RUSSO, I. C. P.; PEREIRA, L. D.; CARVALLO, R. M. M.; ANASTÁSIO, A. R. T. Encaminhamentos sobre a classificação do grau de perda auditiva em nossa realidade. *Revista da Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia*, 14:287-288, 2009.
199. 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.
200. RYU, J. S.; HONG, Y. C.; HAN, H. S.; LEE, J. E.; KIM, S.; PARK, Y. M.; KIM, Y. C.; HWANG, T. S. Association between polymorphisms of ERCC1 and XPD and survival in non-small-cell lung cancer patients treated with cisplatin combination chemotherapy. *Lung Cancer*, 44:311-316, 2004.
201. SANTOS, R. A.; PORTUGAL, F. B.; FELIX, J. D.; SANTOS, P. M. O.; SIQUEIRA, M. M. Avaliação Epidemiológica de Pacientes com Câncer no Trato Aerodigestivo Superior: Relevância dos Fatores de Risco Álcool e Tabaco. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 58: 21-29, 2012.
202. 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.
203. SHEIKH-HAMAD, D. Cisplatin-induced cytotoxicity: is the nucleus relevant? *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 295:F42-F43, 2008.
204. SHEN, M.; BERNDT, S. I.; ROTHMAN, N.; DEMARINI, D. M.; MUMFORD, J. L.; HE, X.; BONNER, M. R.; TIAN, L.; YEAGER, M.; WELCH, R.; CHANOCK, S.; ZHENG, T.; CAPORASO, N.; LAN, Q. Polymorphisms in the DNA nucleotide excision repair genes and lung cancer risk in Xuan Wei, China. *International Journal of Cancer*, 116:768-773, 2005.
205. 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*, 103:1843-1849, 2005.
206. 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.
207. 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.
208. SIDDIK, Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*, 22:7265-7279, 2003.
209. SIDDIK, Z. H.; JONES, M.; BOXALL, F. E.; HARRAP, K. R. Comparative distribution and excretion of carboplatin and cisplatin in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 21:19-24, 1988.
210. 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.
211. SILVERTHORN, D. U. *Human physiology: an integrated approach*. 5 ed. São Francisco: Pearson/Benjamin Cummings, p. 867, 2010.
212. 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.
213. 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.
214. 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.
215. SNOW, A. N.; LAUDADIO, J. Human papillomavirus detection in head and neck squamous cell carcinomas. *Advances in Anatomic Pathology*, 17:394-403, 2010.
216. 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*, 30:649-655, 2011.
217. SPITZ, M. R.; WU, X.; WANG, Y.; WANG, L. E.; SHETE, S.; AMOS, C. I.; GUO, Z.; LEI, L.; MOHRENWEISER, H.; WEI, Q. Modulation of nucleotide excision repair capacity by XPD polymorphism in lung cancer patients. *Cancer Research*, 61:1354-1357, 2001.
218. 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:e15-24, 2010.
219. 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.
220. SYRJANEN, S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *Journal of Clinical Virology*, 32 suppl 1:S59-66, 2005.

221. THAVARAJ, S.; STOKES, A.; GUERRA, E.; BIBLE, J.; HALLIGAN, E.; LONG, A.; OKPOKAM, A.; SLOAN, P.; ODELL, E.; ROBINSON, M. Evaluation of human papillomavirus testing for squamous cell carcinoma of the tonsil in clinical practice. *Journal of Clinical Pathology*,64:308-312, 2011.
222. TIBALDI, C.; GIOVANNETTI, E.; VASILE, E.; MEY, V.; LAAN, A. C.; NANNIZZI, S.; DI MARSICO, R.; ANTONUZZO, A.; ORLANDINI, C.; RICCIARDI, S.; DEL TACCA, M.; PETERS, G. J.; FALCONE, A.; DANESI, R. Correlation of CDA, ERCC1, and XPD polymorphisms with response and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clinical Cancer Research*, 14:1797-1803, 2008.
223. TISEO, M.; BORDI, P.; BORTESI, B.; BONI, L.; BONI, C.; BALDINI, E.; GROSSI, F.; RECCHIA, F.; ZANELLI, F.; FONTANINI, G.; NALDI, N.; CAMPANINI, N.; AZZONI, C.; BORDI, C.; ARDIZZONI, A.; BIO-FAST TRIAL GROUP. ERCC1/BRCA1 expression and gene polymorphisms as prognostic and predictive factors in advanced NSCLC treated with or without cisplatin. *British Journal of Cancer*, 108:1695-1703, 2013.
224. VANDENDRIES, E. R.; DREWS, R. E. Drug-associated disease: hematologic dysfunction. *Critical Care Clinics*, 22:347-355, 2006.
225. 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.
226. 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.
227. 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.
228. 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.
229. WANG, D.; LIPPARD, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4:307-320, 2005.
230. WANG, S. L.; ZHAO, H.; ZHOU, B.; CHEN, Y. L.; ZOU, Y.; ZHU, X. F.; LI, Q. S.; HAN, M. Z.; YANG, R. C.; HAN, Z. C. Polymorphisms in ERCC1 and susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia in a Chinese population. *Leukemia Research*, 30:1341-1345, 2006.
231. WANG, Y.; CHEN, J.; LI, X.; HE, Y.; HU, B.; JI, C.; XU, J. Genetic polymorphisms of ERCC1 and their effects on the efficacy of cisplatin-based chemotherapy in advanced esophageal carcinoma. *Oncology Reports*, 25:1047-52, 2011.

232. 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*, 11:507-515, 2010.
233. WANG, Y.; SPITZ, M. R.; LEE, J. J.; HUANG, M.; LIPPMAN, S. M.; WU, X. Nucleotide excision repair pathway genes and oral premalignant lesions. *Cancer Prevention*, 13:3753-3758, 2007.
234. WEIJL, N. I.; ELSEENDOORN, T. J.; LENTJES, E. G.; HOPMAN, G. D.; WIPKINK-BAKKER, A.; ZWINDERMAN, A. H.; CLETON, F. J.; OSANTO, S. Supplementation with antioxidant micronutrients and chemotherapy-induced toxicity in cancer patients treated with cisplatin-based chemotherapy: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *European Journal of Cancer*, 40:1713-1723, 2004.
235. WEI, S. Z.; ZHAN, P.; SHI, M. Q.; SHI, Y.; QIAN, Q.; YU, L. K.; SONG, Y. Predictive value of ERCC1 and XPD polymorphism in patients with advanced non-small cell lung cancer receiving platinum-based chemotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Medical Oncology*, 28:315-321, 2011.
236. 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.
237. WHITE, R.; BRANDNAM, V. *Handbook of Drug Administration via Enteral Feeding Tubes*. Londres: Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2007.
238. 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.
239. WILCZYNSKI, S. P.; LIN, B. T.; XIE, Y.; PAZ, I. B. Detection of human papillomavirus DNA and oncoprotein overexpression are associated with distinct morphological patterns of tonsillar squamous cell carcinoma. *American Journal of Pathology*, 152:145-156, 1998.
240. WINSEY, S. L.; HALDAR, N. A.; MARSH, H. P.; BUNCE, M.; MARSHALL, S. E.; HARRIS, A. L.; WOJNAROWSKA, F.; WELSH, K. I. A variant within the DNA repair gene XRCC3 is associated with the development of melanoma skin cancer. *Cancer Research*, 60:5612-5616, 2000.
241. WITTEKINDT, C.; GÜLTEKIN, E.; WEISSENBORN, S. J.; DIENES, H. P.; PFISTER, H. J.; KLUSSMANN, J. P. Expression of p16 protein is associated with human papillomavirus

- status in tonsillarcarcinomas and has implications on survival. *Advances In Oto-Rhino-Laryngology*, 62:72-80, 2005.
242. 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.
  243. 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.
  244. 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.
  245. WOOD, P. A.; HRUSHESKY, W. J. Cisplatin-associated anemia: an erythropoietin deficiency syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 95:1650-1959, 1995.
  246. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Report of a joint WHO/FAO expert consultation. WHO technical report series 916, Geneva, 2003.
  247. WU, W.; LI, H.; WANG, H.; ZHAO, X.; GAO, Z.; QIAO, R.; ZHANG, W.; QIAN, J.; WANG, J.; CHEN, H.; WEI, Q.; HAN, B.; LU, D. Effect of polymorphisms in XPD on clinical outcomes of platinum-based chemotherapy for Chinese non-small cell lung cancer patients. *PLoS One*, 7:e33200, 2012.
  248. 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.
  249. WU, W.; ZHANG, W.; QIAO, R.; CHEN, D.; WANG, H.; WANG, Y.; ZHANG, S.; GAO, G.; GU, A.; SHEN, J.; QIAN, J.; FAN, W.; JIN, L.; HAN, B.; LU, D. Association of XPD polymorphisms with severe toxicity in non-small cell lung cancer patients in a Chinese population. *Clinical Cancer Research*, 15:3889-3895, 2009.
  250. XU, X.; DUAN, L.; ZHOU, B.; MA, R.; ZHOU, H.; LIU, Z. Genetic polymorphism of copper transporter protein 1 is related to platinum resistance in Chinese non-small cell lung carcinoma patients. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 786-792, 2012a.
  251. XU, X.; REN, H.; ZHOU, B.; ZHAO, Y.; YUAN, R.; MA, R.; ZHOU, H.; LIU, Z. Prediction of copper transport protein 1 (CTR1) genotype on severe cisplatin induced toxicity in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. *Lung Cancer*, 77:438-442, 2012b.
  252. 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.
253. 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, 2009a.
254. YANG, Z. H.; DAI, Q.; KONG, X. L.; YANG, W. L.; ZHANG, L. Association of ERCC1 polymorphisms and susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. *Molecular Carcinogenesis*, 48:196-201, 2009b.
255. YANG, Z-H.; LIANG, W-B.; JIA, J.; WEI, Y. S.; ZHOU, B.; ZHANG, L. The xeroderma pigmentosum group C gene polymorphisms and genetic susceptibility of nasopharyngeal carcinoma. *Acta Oncologica*, 47:379-384, 2008.
256. YU, J. J.; LEE, K. B.; MU, C.; LI, Q.; ABERNATHY, T. V.; BOSTICK-BRUTON, F.; REED, E. Comparison of two human ovarian carcinoma cell lines (A2780/CP70 and MCAS) that are equally resistant to platinum, but differ at codon 118 of the ERCC1 gene. *International Journal of Oncology*, 16:555-560, 2000.
257. 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.
258. ZHOU, C.; REN, S.; ZHOU, S.; ZHANG, L.; SU, C.; ZHANG, Z.; DENG, Q.; ZHANG, J. Predictive effects of ERCC1 and XRCC3 SNP on efficacy of platinum-based chemotherapy in advanced NSCLC patients. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 40:954-960, 2010.
259. ZHOU, W.; GURUBHAGAVATULA, S.; LIU, G.; PARK, S.; NEUBERG, D. S.; WAIN, J. C.; LYNCH, T. J.; SU, L.; CHRISTIANI, D. C. Excision repair cross-complementation group 1 polymorphism predicts overall survival in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clinical Cancer Research*, 10:4939-4943, 2004.
260. ZHU, Y.; YANG, H.; CHEN, Q.; LIN, J.; GROSSMAN, H. B.; DINNEY, C. P.; WU, X.; GU, J. Modulation of DNA damage/DNA repair capacity by XPC polymorphisms. *DNA Repair (Amst)*, 7:141-148, 2008.
261. ZIENOLDDINY, S.; CAMPA, D.; LIND, H.; RYBERG, D.; SKAUG, V.; STANGELAND, L.; PHILLIPS, D. H.; CANZIAN, F.; HAUGEN, A. Polymorphisms of DNA repair genes and risk of non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis*, 27:560-567, 2006.

## 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 conseguiu comer absolutamente nada
D1					
D2					
D3					
D4					
D5					

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

#### ***Vômito***

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

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

### Anexo 3

#### TESTE DE MEDIDA DE ADESÃO DE MORISKY

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	***

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



## Anexo 4

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

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

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

**Endereço:** .....

.....

.....

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

.....

.....

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

**Endereço:** .....

.....

.....

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

Estou ciente de que fornecerei amostras de urina para quantificar o quimioterápico utilizado para tratar a minha doença. Sei que serei submetido a testes para verificar se os meus ouvidos foram lesados pelo tratamento, nos quais serei submetido a sons de diferentes frequências (agudo e grave) e intensidades (alto e baixo) para avaliar. Estou ciente de que não terei prejuízos com a realização destes exames. Sei que terei direito de saber o resultado dos meus exames, caso esteja interessado. Sei que posso sair do estudo a qualquer momento e que isto não vai prejudicar o meu tratamento na UNICAMP.

Ainda, estou ciente que participarei de consultas com o farmacêutico e responderei a uma série de questionários que este profissional aplicará, sobre qualidade de vida, utilização de medicamentos e efeitos colaterais da quimioterapia.

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

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

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

( ) aceito o armazenamento ( ) não aceito o armazenamento

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

---

**Assinatura do paciente**

---

**Assinatura do responsável legal**

---

**Assinatura do pesquisador legal**

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

## Anexo 5



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

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

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

**Endereço:** .....

.....  
.....

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

.....  
.....

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

**Endereço:** .....

.....  
.....

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

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

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

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

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

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

Estou ciente 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, 28/02/02.  
(PARECER CEP: Nº 274/2011)

FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

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

## 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 ERCCI C118T, XPC Lys939Gln, XPD Lys751Gln e Asp312Asn e XPF T30028C, Relacionados com Reparo de DNA por Excisão de Nucleotídeos, na Farmacogenética da Cisplatina Associada à Radioterapia em Portadores de Carcinoma de Células Escamosas de Cabeça e Pescoço**” sob responsabilidade da aluna Leisa Lopes Aguiar, 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

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 consecutivos, inseridos inicialmente no estudo, de acordo com a situação final e as causas de exclusão (quando pertinente)

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 etnia, o índice de massa corpórea, a presença de hipertensão arterial e diabetes mellitus e os padrões de etilismo e de tabagismo

Caso	Idade (anos)	Sexo	Etnia	IMC	HAS	DM	Etilismo	Tabagismo
1	59	M	C	18,2	N	N	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, o estágio, o grau de diferenciação do tumor e a presença do HPV

Caso	Localização		Sistema TNM		Grau de diferenciação	Imunohistoquímica p16	Hibridização <i>in situ</i>
	Sítio	Região	Combinação	Estágio			
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 casos encontramos dificuldade 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 <sup>2</sup> )	(mg total)	(mg/m <sup>2</sup> )	(mg total)	(mg/m <sup>2</sup> )	(mg/m <sup>2</sup> )
1	163	100	126	80	120	80	260
2	150	100	150	100	140	100	300
5	164	100	131	80	120	80	260
6	185	100	143	80	136	80	260
8	180	100	190	100	152	80	280
9	121	80	120	80	115	80	240
11	170	100	167	100	NA	NA	200
12	115	80	150	100	NA	NA	180
14	90	50	90	50	NA	NA	100
16	180	100	180	100	NA	NA	200
17	150	100	126	90	NA	NA	190
19	150	100	150	100	150	100	300
20	188	100	194	100	NA	NA	200
21	173	100	168	100	165	100	300
23	150	100	120	80	120	80	260

---

24	130	100	130	100	104	80	280
26	190	100	190	100	180	100	300
29	140	100	112	80	98	75	255
31	160	100	160	100	160	100	300
32	115	80	114	80	114	80	240
33	170	100	168	100	NA	NA	200
36	190	100	190	100	135	75	275
38	146	80	148	100	148	100	280
39	190	100	152	100	144	80	280
40	154	100	122	80	90	60	240
41	130	80	130	80	131	80	240
43	90	60	112	80	NA	NA	140
44	170	100	158	100	125	80	280
45	120	80	105	75	100	80	235
46	110	80	139	100	108	80	260
48	124	80	120	80	NA	NA	160
49	172	100	167	100	NA	NA	200
50	156	100	156	100	151	100	300
55	102	80	128	100	103	80	260
56	159	100	159	100	NA	NA	200
57	130	80	130	80	130	80	240
58	144	80	138	80	NA	NA	160
60	150	100	159	100	155	100	300
62	169	100	170	100	115	70	270
63	163	100	160	100	117	75	275
64	108	80	144	90	NA	NA	170

---

---

69	210	100	200	100	150	80	280
71	185	100	180	100	170	100	300
72	118	80	118	80	118	80	240
78	145	100	145	100	140	100	300
79	240	100	240	100	230	100	300
86	132	100	97	75	97	75	250
87	180	100	142	80	142	80	260
88	171	100	137	80	120	80	260
89	170	100	130	80	125	80	260
90	183	100	138	80	134	80	260
93	180	100	133	75	NA	NA	175
94	175	100	135	80	136	80	260
95	110	80	83	60	112	80	220
97	127	80	160	100	120	75	255
98	180	100	120	75	130	75	250
99	180	100	177	100	171	100	300
101	195	100	153	80	NA	NA	180
102	122	80	92	60	91	60	200
103	140	80	140	80	134	80	240
105	120	80	132	90	118	80	250
106	157	100	155	100	153	100	300
108	146	100	150	100	151	100	300
109	129	80	129	80	123	80	240
110	174	100	174	100	172	100	300
111	131	80	129	80	120	75	235
112	187	100	185	100	182	100	300

---

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

(CDDP) cisplatina; (NA) não se aplica