

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACEUTICAS



**“Biomarcadores farmacogenómicos para reacciones
adversas a quimioterapéuticos en pacientes con cáncer
gástrico: Una aproximación pre-terapéutica”**

**Presentada a la Universidad de Chile
para optar al Grado de Doctor en Farmacología**

Por:

Miguel Córdova Delgado

Directores de Tesis

Luis A. Quiñones

Gareth I. Owen

**SANTIAGO- CHILE
2020**

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**

**INFORME DE APROBACIÓN
TESIS DE DOCTORADO**

Se informa a la Dirección de Postgrado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis presentada por el candidato:

Miguel Córdova Delgado

Ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al Grado de Doctor en Farmacología, en el examen de defensa de Tesis rendido el día 3 de **Septiembre** de 2020.

Directores de Tesis:

Dr. Luis A. Quiñones

Dr. Gareth Owen

Comisión Informante:

Dr. Hernán Lara (Presidente)

Dra. Katherine Marcelain

Dr. Mauricio Farfán

Dr. Patricio González

INDICE GENERAL

INDICE GENERAL	3
INDICE FIGURAS	6
RESUMEN	7
ABSTRACT	9
ABREVIACIONES	11
1. INTRODUCCION	13
1.1 Situación del Cáncer gástrico en Chile y el mundo	13
1.2 Toxicidades asociadas a platinos y fluoropirimidinas, bases en el Tratamiento de CG	15
1.3 Farmacogenética y variabilidad en la respuesta a fármacos	20
1.4 Combinando datos clínicos y genéticos para establecer riesgo de toxicidad asociado a quimioterapia	22
2. HIPOTESIS DE TRABAJO	24
2.1 OBJETIVO GENERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	25
3. METODOS	26
3.1 Diseño del estudio	26
3.2 PACIENTES	26
3.2.1 Criterios de inclusión/exclusión	26
3.2.2 Tratamientos de quimioterapia	27
3.2.3 Descripción y evaluación de toxicidades	29
3.3 GENOTIPIFICACION	30
3.3.1 Extracción y cuantificación de ADN	30
3.3.2 Sondas <i>Taqman</i> para detección de genotipos	30
3.4 ANALISIS ESTADISTICOS	31
3.4.1 Análisis de asociación de SNPs	31
3.4.2 Construcción de modelos para toxicidad general severa	31
3.4.3 Evaluación de modelos	32

3.4.4 Construcción de nomograma	33
3.4.5 Análisis estadísticos generales y programas/paquetes usados	33
3.5 ASPECTOS ETICOS	34
4. RESULTADOS	35
4.1 Selección de SNPs	35
4.2 Caracterización de pacientes estudio de asociación caso-control	41
4.2.1 Características clínico-patológicas, tratamiento y de sobrevivida de pacientes en estudio	41
4.3 Estudiar potenciales asociaciones entre las variaciones genéticas individuales y/o combinadas, las variables clínico-patológicas y las reacciones adversas a medicamentos, de los pacientes en estudio	48
4.3.1 Asociaciones entre variables clínicas/tratamiento, polimorfismos y toxicidad hematológica	48
4.3.2 Asociaciones entre variables clínicas/tratamiento, polimorfismos y toxicidad digestiva	56
4.3.3 Asociaciones entre variables clínicas/tratamiento, polimorfismos y toxicidad neurológica	63
4.3.4 Asociaciones entre variables clínicas/tratamiento, polimorfismos y toxicidad general	67
4.4 Establecer un modelo predictivo preliminar basado en SNPs y variables clínico-patológicas para evaluar el riesgo de desarrollar reacciones adversas a medicamentos por tratamiento quimioterapéutico basado en fluoropiridinas/platinos	76
4.4.1 Evaluación de modelos usando diferentes métodos de clasificación	76
4.4.2 Nomograma para predicción de toxicidad	79
5. DISCUSION	82
6. CONCLUSIONES	98
7. REFERENCIAS	99
8. ANEXO 1	114
9. ANEXO 2	126

10. ANEXO 3 129

INDICE FIGURAS

Figura 1 Algoritmo de tratamiento para pacientes con cáncer gástrico	15
Figura 2 Principales proteínas asociadas a los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos en platinos	17
Figura 3 Principales proteínas asociadas a los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos en fluoropirimidinas	19
Figura 4 Diagrama de flujo de los pacientes incluidos en este estudio	41
Figura 5 Tasa de sobrevida global para pacientes en estudio	44
Figura 6 Desempeño de los 4 modelos toxicidad de quimioterapia basada en platino/ fluoropirimidinas utilizando diferentes algoritmos de clasificación ...	78
Figura 7 Nomograma para estimar el riesgo de toxicidad general basado en el modelo 4	80

RESUMEN

Introducción: El tratamiento estándar de primera línea en pacientes con cáncer gástrico consiste en regímenes de quimioterapias combinadas, en donde se incluyen generalmente fluoropirimidinas y platinos, sin embargo, la respuesta terapéutica y toxicidad asociadas varían significativamente entre pacientes. La toxicidad severa es un obstáculo relevante para el éxito de la quimioterapia haciendo necesaria la búsqueda de modelos que ayuden a predecir toxicidad a quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas, especialmente en pacientes con cáncer gástrico.

Métodos: Un total de 224 pacientes con cáncer gástrico fueron registrados, de los cuales 93 se incluyeron en este estudio de asociación. Los polimorfismos genéticos (SNPs) candidatos para este estudio fueron seleccionados por un sistema de puntajes basado principalmente en la evidencia científica en cuanto a la relación variante genética/toxicidad y la base de datos *PharmGKB*. Doce SNPs en los genes candidatos *GSTP1*, *ERCC2*, *ERCC1*, *TP53*, *UMPS*, *SHMT1*, *MTHFR*, *ABCC2* y *DPYD* fueron genotipados en 93 pacientes con cáncer gástrico y su asociación con toxicidad hematológica, digestiva, neurológica y general severa fue estimada usando regresión logística. Se construyeron 4 modelos combinando factores clínicos y farmacogenéticos y se evaluaron con diferentes algoritmos de clasificación. El mejor modelo fue utilizado para la construcción de un nomograma.

Resultados: Se incluyeron 93 pacientes, de los cuales 32 desarrollaron toxicidad general de grado 3 a 4 (caso) y 61 grado 0 a 2 (control). En el análisis univariado los

genotipos AG/GG del SNPs en *GSTP1* (rs1695) se asociaron a una menor toxicidad hematológica con un OR de 0,35 (IC95% = 0,11-1,10, $p = 0,068$). Para el caso de toxicidad digestiva una asociación significativa para el polimorfismo en *DPYD* (rs1801159, modelo dominante) fue encontrada. Con respecto a toxicidad general los genotipos AG/GG del SNPs en *DPYD* (rs1801265) se asociaron a una alta toxicidad con un OR de 4,20 (IC95%: 1,70-10,95, $p = 0,002$). Una asociación *borderline* a una menor toxicidad se encontró en el *DPYD* (rs1801159) con un OR de 0,45 (IC95%: 0,19-1,08; $p = 0,071$). En un análisis combinado de pares de SNPs se encontraron asociaciones significativas entre los SNPs: *DPYD* (rs1801265), *UMPS* (rs1801019), *ABCC2* (rs717620), *ERCC1* (rs11615), *GSTP1* (rs1695) y *SHMT1* (rs1979277). El modelo que integró las variables edad, sexo, quimioterapia peri-operatorio, esquema que contenía 5-FU, la combinación binaria de los SNPs *DPYD* (rs1801265) + *ABCC2* (rs717620), más *DPYD* (rs1801159) usando regresión logística multivariada tuvo el mejor desempeño en cuanto a los parámetros sensibilidad, especificidad, exactitud y ABC en la predicción de toxicidad severa general. En la base de estos hallazgos, estructuramos un nomograma para evaluar el riesgo de desarrollar toxicidad general severa en pacientes con cáncer gástrico.

Conclusión: Aquí desarrollamos un modelo basado en regresión logística que integra variables clínicas, de tratamiento y marcadores farmacogenéticos que con una validación prospectiva podría ayudar en la práctica clínica en la predicción de toxicidad asociada a quimioterapia basada en fluoropirimidinas y platinos en cáncer gástrico.

ABSTRACT

Introduction: The standard first-line treatment in gastric cancer patients consists of combined chemotherapy regimens, where fluoropyrimidines and platins are generally included, however, therapeutic response and toxicity vary significantly between patients. Severe toxicity is a relevant obstacle to the success of chemotherapy, creating a clinical requirement to seek models that help predict toxicity to platinum / fluoropyrimidine-based chemotherapy.

Methods: A total of 224 gastric cancer patients were registered, of which 93 were included in this association study. The candidate single nucleotide polymorphisms (SNPs) for this study were selected based on a developed scoring system utilizing the scientific evidence regarding the genetic variant/ toxicity relationship and the PharmGKB database. Twelve SNPs in the candidate genes *GSTP1*, *ERCC2*, *ERCC1*, *TP53*, *UMPS*, *SHMT1*, *MTHFR*, *ABCC2* and *DPYD* were genotyped in 93 patients with gastric cancer and their association with hematological, digestive, neurological and severe overall toxicity was estimated using logistic regression. Four models combining clinical and pharmacogenetics factors were constructed and evaluated with different classification algorithms. The best model was used for the construction of a nomogram.

Results: 93 patients were included, of which 32 developed grade 3 to 4 overall toxicity (case) and 61 grade 0 to 2 (control). In the univariate analysis, the AG/GG genotypes of the SNPs in *GSTP1* (rs1695) were associated with a lower hematological toxicity with an OR of 0.35 (95% CI = 0.11-1.10, p = 0.068). In the case of digestive toxicity, a

significant association for the polymorphism in *DPYD* (rs1801159, dominant model) was found. Regarding overall toxicity, the AG/GG genotypes of the SNPs in *DPYD* (rs1801265) were associated with high toxicity with an OR of 4.20 (95% CI: 1.70-10.95, $p = 0.002$). A borderline association with lower toxicity was found in the *DPYD* (rs1801159) with an OR of 0.45 (95% CI: 0.19-1.08; $p = 0.071$). In a combined analysis of pairs of SNPs, significant associations were found between the SNPs: *DPYD* (rs1801265), *UMPS* (rs1801019), *ABCC2* (rs717620), *ERCC1* (rs11615), *GSTP1* (rs1695) and *SHMT1* (rs1979277). The model that integrated the variables age, sex, peri-operative chemotherapy, scheme containing 5-FU, the binary combination of the SNPs *DPYD* (rs1801265) + *ABCC2* (rs717620), plus *DPYD* (rs1801159) using multivariate logistic regression had the best performance in terms of sensitivity, specificity, accuracy and AUC parameters in predicting overall severe toxicity. On the basis of these findings, we structured a nomogram to assess the risk of developing severe overall toxicity in patients with gastric cancer.

Conclusion: Herein, we have developed a model based on logistic regression that integrates clinical, treatment and pharmacogenetic marker variables and pending prospective validation may help clinical practice in predicting toxicity associated with fluoropyrimidine and platinum-based chemotherapy in gastric cancer.

ABREVIACIONES

5-FU	: 5-FluoroUracilo
A	: Adenina
ABC	: Area Bajo la Curva
ABCC2	: <i>ATP Binding Cassette Subfamily C Member 2</i>
ADN	: Acido desoxirribonucleico
AIC	: <i>Akaike Information Criterion</i>
Arg	: Arginina
ARN	: Acido ribonucleico
ARNm	: Acido ribonucleico mensajero
ATP	: Adenosín TriFosfato
BIC	: <i>Bayesian Information Criterion</i>
Bp	: Base pair
C	: Citosina
CG	: Cáncer Gástrico
Cys	: Cisteína
DPYD	: <i>Dihydropyrimidine Dehydrogenase</i>
ERCC1	: <i>Excision Repair Cross-Complementation Group 1</i>
ERCC2	: <i>Excision Repair Cross-Complementation Group 2</i>
FdUMP	: Fluorodeoxiuridina Monofostato
FdUTP	: Fluorodeoxiuridina Trifostato
G	: Guanina
GCP	: <i>Good Clinical Practice</i>
GSTP1	: <i>Glutathione S-Transferase Pi 1</i>
HER-2	: <i>Human Epidermal growth factor Receptor 2</i>
IC	: Intervalo de Confianza
Indel	: Inserción-delección
Iso	: Isoleucina
IV	: Intravenoso

MTHFR : *MethyleneTetraHydroFolate Reductase*
NCI : *National Cancer Institute*
OMS : *Organización Mundial de la Salud*
OR : *Odd Ratio*
PCR : *Polymerase Chain Reaction*
SG : *Sobrevida Global*
SHMT1 : *Serine HydroxyMethylTransferase 1*
SNP : *Single Nucleotide Polymorphism*
T : *Timina*
TP53 : *Tumor Protein P53*
TYMS : *Thymidylate Synthase*
UMPS : *Uridine 5'-MonoPhosphate Synthase*
UTR : *UnTranslated Region*
Val : *Valina*
VO : *Vía Oral*

1. INTRODUCCION

1.1 Situación del Cáncer gástrico en Chile y el mundo

El cáncer gástrico (CG), que generalmente corresponde a un adenocarcinoma, es el sexto cáncer más común en el mundo y el quinto en mortalidad¹. Su incidencia varía en forma relevante de acuerdo a la localización geográfica, en donde Chile junto con Costa Rica, Singapur, Japón y Corea del Sur muestran las tasas de incidencia más altas en el mundo². Si bien, no representa uno de los cánceres con mayor incidencia, tiene altas tasas de mortalidad, debido principalmente al diagnóstico en etapas avanzadas de la enfermedad. Por otro lado, en la última década se ha observado una disminución constante y consistente en la tasa de incidencia y mortalidad de esta enfermedad³. Parte de esta disminución se puede explicar por mejoras en las prácticas sanitarias, reducción en la infección por H. Pylori (un agente confirmado que causa CG) y en países como Japón y Corea del Sur una política de *screening* basado en métodos endoscópicos y/o radiológicos a nivel nacional para detectar casos en etapas tempranas³.

En nuestro país, representa la primera causa de muerte por tumores malignos para sexo masculino⁴. La cirugía representa la principal estrategia terapéutica con fines curativos para esta enfermedad, aunque las tasas de recurrencia son cercanas al 50%⁵. El cáncer gástrico debería ser considerada una enfermedad sistémica desde su inicio y tendría que tratarse con quimioterapia sistémica pre y/o post operatoria para

potenciar la disminución del tamaño tumoral y la irradiación de focos metastásicos microscópicos. Resección endoscópica o sólo cirugía es recomendada sólo para pacientes en etapa 1a⁶. Para etapas mayores a 1b la quimioterapia basada en platinos y fluoropiridinas son recomendadas (terapia doblete). En el estudio fase II (llamado MAGIC) se demostró una mejora en la sobrevida global a 5 años (desde un 23% a 36%) cuando se usó 6 ciclos de quimioterapia perioperatoria basada en epirubicina, cisplatino y 5- fluorouracilo (ECF) comparado con sólo cirugía, en pacientes en cáncer gástrico etapa II y III⁵. En el año 2017 un grupo alemán demostró un mayor beneficio con la adición de un taxano al doblete de platinos-fluoropirimidinas (terapia triplete). Se comparó un régimen basado en 5-fluorouracilo, leucovorina, oxaliplatino y docetaxel (FLOT) *versus* ECF/X. Los pacientes tratados con FLOT mostraron una respuesta patológica más alta y una mejora en la sobrevida global. Las toxicidades fueron similares en ambos grupos, sin embargo, para el grupo con régimen FLOT, se presentaron más leucopenias/neutropenias y neuropatía periférica⁷. Por otro lado, en estadios avanzados del cáncer gástrico (no operable o metastásico), la quimioterapia combinada (doblete) basada en platinos (cisplatino u oxaliplatino) y fluoropirimidinas (5-fluorouracilo, capecitabina, tegafur/S-1) ha demostrado en forma consistente un beneficio, tanto en sobrevida global como calidad de vida, por lo tanto, es considerada el estándar de tratamiento para este grupo de pacientes⁶. Además, pacientes con sobreexpresión de *HER-2* podrían recibir trastuzumab. En segunda línea, podrían usarse quimioterapéuticos como monoterapia entre ellos: paclitaxel, docetaxel o irinotecan, todo de acuerdo a las comorbilidades, función orgánica y estado funcional

del paciente. Un esquema que resume las opciones terapéuticas para pacientes con cáncer gástrico se observa en la **Figura 1**.

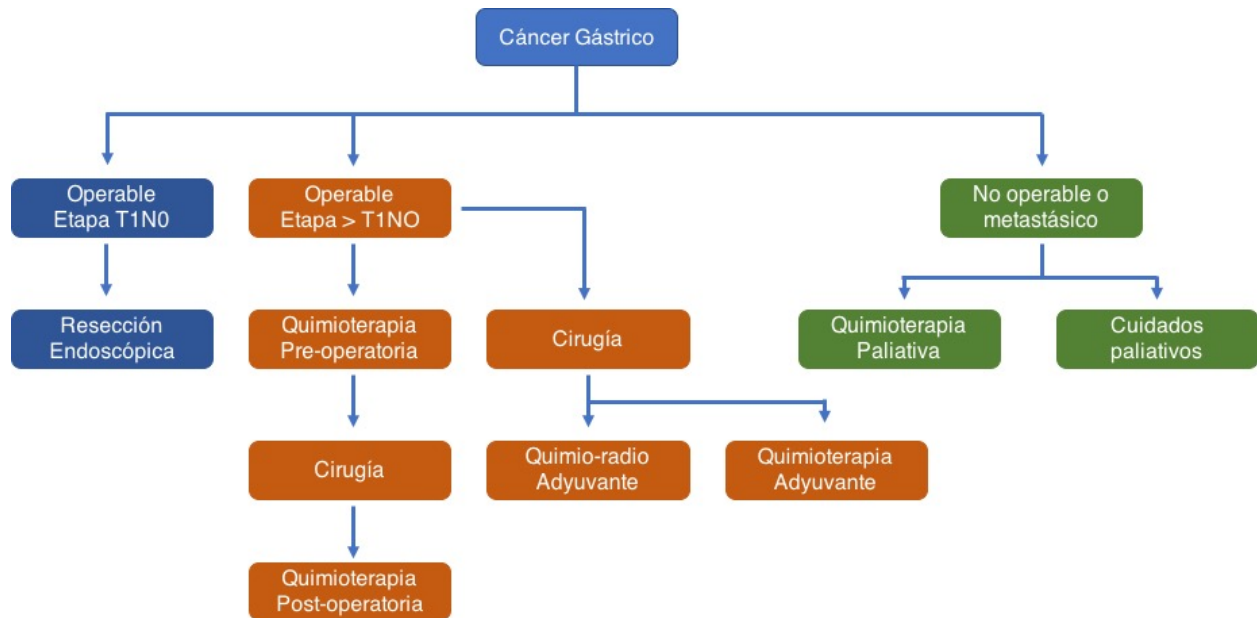


Figura 1. Algoritmo de tratamiento para pacientes con cáncer gástrico. En azul el tratamiento para pacientes con enfermedad temprana (*in situ* o etapa I-II), en donde la resección endoscópica es considerada un tratamiento curativo. En naranja el manejo de pacientes en etapas II-III (etapa II con invasión de nódulos linfáticos), el tratamiento estándar consiste en quimioterapia perioperatoria, basada en platinos y fluoropirimidinas principalmente. Finalmente, en verde el esquema de tratamiento para pacientes en etapas avanzadas (no operables o metastásicos), en donde, dependiendo del estado general del paciente puede recibir quimioterapia paliativa o solo cuidados paliativos. Para la primera línea el tratamiento se usan platinos/fluoropirimidinas, en donde se puede incluir un anti-HER2 si el tumor es HER2+. En general, para segunda/tercera línea de tratamiento se pueden utilizar taxanos, ramucirumab e inmunoterapia.

1.2 Toxicidades asociadas a platinos y fluoropirimidinas, bases en el tratamiento de CG

Las familias de agentes quimioterapéuticos basados en platinos son ampliamente utilizados en una variedad de tumores, como por ejemplo, ginecológicos, cuello y cabeza, pulmón, vejiga y gastro-intestinales. Su mecanismo de acción se

relaciona con la capacidad que tienen de formar aductos de ADN-Pt, lo cual lleva a arresto celular o muerte por apoptosis⁸. Además, estos compuestos pueden interactuar y formar enlaces covalentes con otros elementos subcelulares como proteínas, ARN y lípidos. El representante más antiguo de este grupo corresponde al cisplatino, el cual posee un perfil de toxicidad bien documentado, el cual se caracteriza por vómitos, mielosupresión, nefrotoxicidad, neuropatía periférica y ototoxicidad. Por su parte, el carboplatino, muestra una eficacia terapéutica similar al cisplatino con menores efectos secundarios a nivel hepático y neurológico, sin embargo, tiene una significativa toxicidad hematológica⁹. La tercera generación de estos agentes es representada por oxaliplatino, el cual tiene un perfil de eficacia y seguridad mejor que cisplatino y carboplatino, sin embargo, la neuropatía sensorial periférica inducida por este agente resulta ser un efecto tóxico que limita su uso¹⁰. En términos farmacocinéticos, los platinos son principalmente excretados por vía renal, sin sufrir reacciones de biotransformación. En el túbulo proximal renal los transportadores del tipo ABC (*ATP Binding Cassette*), del tipo B1/C2/G2, aceleran la excreción de estos agentes en la orina. Además, las células endoteliales capilares a nivel de barrera hemato-encefálica expresan el transportador ABCB1, limitando así el paso de estas sustancias al cerebro. También, se ha reportado que los transportadores de Cu^{+2} del tipo ATP7A y ATP7B están relacionados con la eliminación de platinos de la célula^{11,12}. Por otro lado, hay una gran variedad de enzimas encargadas de disminuir los niveles intracelulares de platinos, entre estas se encuentran: las glutatión S-transferasas GSTP1 y GSTM1, NADPH Quinona deshidrogenasa 1 (NQO1) y superóxido dismutasa 1 (SOD1). En

términos, farmacodinámicos, una vez dentro de la célula el principal blanco de los platinos es el ADN, formando complejos ADN-Pt. La enzima HMGB1 (*high mobility group box 1*) reconoce este daño en el material genético y este es reparado por las enzimas de reparación por escisión de nucleótidos del tipo: ERCC (*Excision repair cross-complementary 1*), XPA (*Xeroderma Pigmentosum, Complementation Group A*), XRCC (*X-ray cross-complementing*). Por lo tanto, son muchos los genes que están involucrados en transporte, metabolismo y efecto farmacológico de esta familia de compuestos, en donde variaciones genéticas en estos pueden dar cuenta de la variabilidad interpersonal en la respuesta y tolerancia a estos fármacos. En la **Figura 2** se destacan las principales proteínas relacionadas con los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos en platinos.

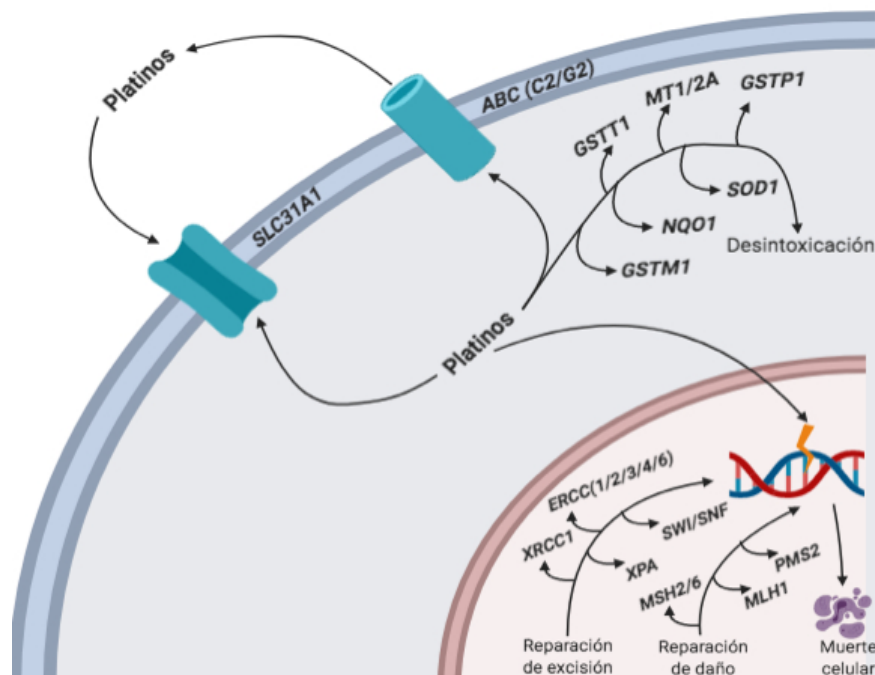


Figura 2. Principales proteínas asociadas a los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos en platinos.

Por otro lado, el 5-fluorouracilo (5-FU), y su pro-droga capecitabina, sufren una serie de transformaciones mediadas por enzimas para poder ejercer su efecto farmacológico. Su mecanismo de acción no está completamente dilucidado y se sabe que actúa a varios niveles, sin embargo, uno de los principales efectos es a través de la inhibición de la timidilato sintasa (TS). Esto da como resultado la supresión de la producción de timidilato a partir de uracilo, lo que conduce a la inhibición de la síntesis de ADN y ARN y la consecuente muerte celular¹³. Además, el 5-FU se administra junto con leucovorina (ácido folínico) lo cual produce una sinergia en el efecto inhibitorio del primero sobre la timidilato sintasa. Se han reportado reacciones adversas que cuales dependen del tipo de administración, el género y la edad de los pacientes, entre estas se encuentra toxicidad gastrointestinal, mielosupresión y en pocas ocasiones neurotoxicidad. Sin embargo, existen casos de toxicidad grave a 5-fluorouracilo, incluso con consecuencias fatales¹⁴. El metabolismo del 5-FU es principalmente hepático, en donde la enzima DPD (codificada por el gen *DPYD*) es la encargada de metabolizar cerca del 80% del fármaco produciendo el metabolito inactivo 5,6 dihidroxi-5-FU. Esta ampliamente documentado que una actividad disminuida de esta enzima está fuertemente asociada a toxicidad severa¹⁵⁻¹⁷. La fracción no metabolizada de 5-FU (20%) es metabolizada por una serie de enzimas (TP, TK), para de esta forma producir los metabolitos activos que van a causar la inhibición de la TS promoviendo el daño a nivel de ADN/ARN¹⁸. Variaciones en los genes *TYMS* (gen que codifica para TS) y *MTHFR* (metilén tetrahidrofolato reductasa), relacionada a la síntesis de folato reducido, aumentado el efecto de 5-FU, han sido asociados a toxicidad por tratamiento

con 5-FU, aunque la relevancia clínica no está completamente comprobada¹⁹. Por otro lado, se han asociado enzimas de reparación del ADN con el efecto citotóxico del 5-FU, como por ejemplo, ERCC, XRCC, SMUG1 (*Single-strand selective monofunctional uracil DNA glycosylase 1*) y TDG (*Thymine DNA Glycosylase*)^{20,21}. En la **Figura 3** se destacan las principales proteínas relacionadas con los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos en fluoropirimidinas.

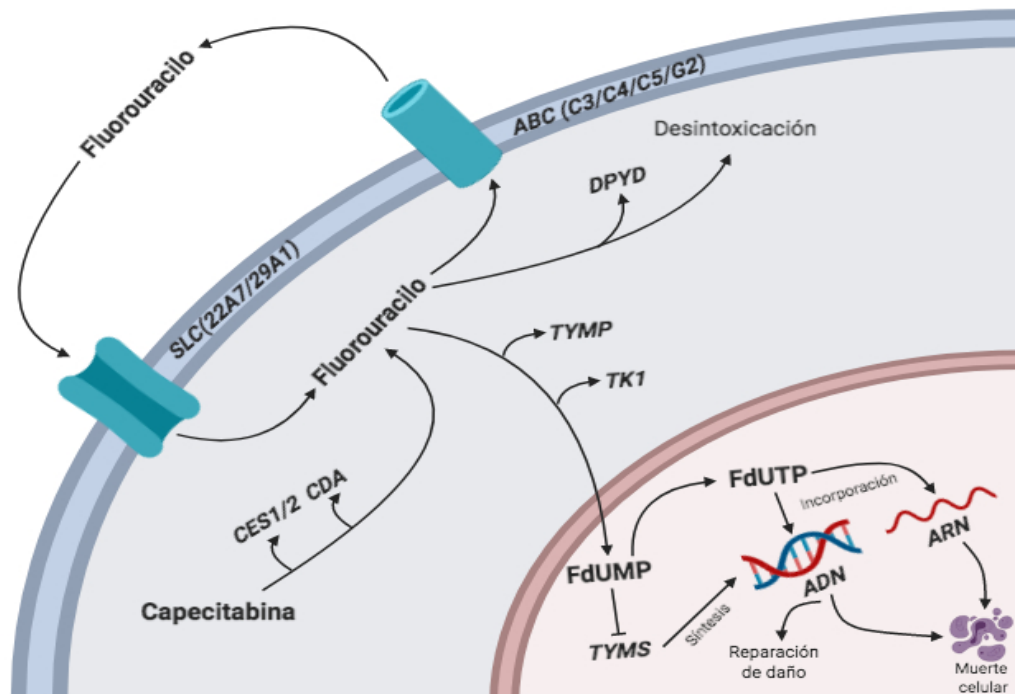


Figura 3. Principales proteínas asociadas a los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos en fluoropirimidinas. FdUMP, Fluorodeoxiuridina Monofostato; FdUTP, Fluorodeoxiuridina Trifostato.

Como se evidencia anteriormente, existe un gran número de genes relacionados con el transporte, el metabolismo y la diana farmacológica para los quimioterapéuticos mencionados que han sido asociados a la farmacocinética y farmacodinamia de los fármacos^{22,23}. Estos dos últimos procesos son, en gran medida, los que determinarán el

desarrollo de una reacción adversa, por lo tanto, estudiar variaciones en los genes que codifican para proteínas que participan en tales procesos nos permitirá obtener información acerca de asociaciones toxicidad-genotipo.

1.3 Farmacogenética y variabilidad en la respuesta a fármacos

Durante mucho tiempo se ha tratado a los pacientes con un mismo régimen farmacológico de acuerdo a estudios clínicos que han establecido las dosis, las formas de administración y la posología. Sin embargo, muchos pacientes no respondían de la misma forma al tratamiento, tanto en términos de eficacia como de toxicidad. Entre las potenciales causas que explican lo anterior, se encuentran: la patogénesis, la gravedad de la enfermedad, la edad, el estado nutricional, la función hepática y renal^{24,25}. A pesar de la relevancia tienen estos parámetros clínicos, sigue existiendo una variabilidad en la respuesta a fármacos, lo que llevo a pensar en diferencias inherentes de cada paciente, y que estas diferencias se podrían encontrar en los genes²⁶. En términos más específicos, variaciones en genes relacionados al metabolismo y transporte de fármacos, como también en los blancos farmacológicos, podrían dar cuenta de los diferentes efectos de un fármaco. De esta manera la farmacogenética se asoma como una interesante rama de la farmacología, encargada de estudiar las bases genéticas en la respuesta terapéutica²³.

Gran parte de los estudios en farmacogenética se enfocan en polimorfismos de nucleótido único (SNP, por su sigla en inglés *Single Nucleotide Polymorphism*), es

decir, variaciones en la secuencia de ADN que afectan sólo una base nucleotídica de una secuencia en el genoma. Además, para que estas variaciones en el ADN puedan ser consideradas polimorfismos genéticos deben estar presentes en al menos un 1% de la población²⁷. En términos de función proteica, los SNPs que tienen mayor relevancia son los que se encuentran en regiones codificantes del genoma, debido a que modifican la secuencia aminoacídica, generando proteínas no funcionales al estar truncadas, mal plegadas o con modificaciones en el sitio activo²⁷. Sin embargo, estos SNPs en secuencias codificantes no siempre tienen el efecto anteriormente descrito, sino que existen SNPs sinónimos o silenciosos donde no se afecta la secuencia de aminoácidos²⁸. Por otra parte, en relación a la expresión de un gen, SNPs que se encuentren en regiones intergénicas (zona promotora, de unión de factores de transcripción) o bien en zonas intrónicas pueden alterar en forma positiva o negativa la expresión del gen o bien el proceso de *splicing*^{29,30}.

Para ejemplificar lo anterior podemos mencionar a la enzima glutatión S-transferasa P1 (GSTP1), la cual tiene la capacidad de catalizar la conjugación de la forma reducida del glutatión a sustratos, entre los que se encuentran los fármacos, con el propósito de excretarlos. Esta enzima está directamente relacionada con la eliminación de platinos. Se ha reportado un SNP en la posición 652 del gen lo que produce un cambio de una adenina por una guanina (A/G), lo que a nivel proteico se traduce en el cambio de la isoleucina 105 por una valina (Iso/Val), en donde la capacidad de la GSTP1 de conjugar platinos es menor para GSPT1 Iso105 que para la Val105^{31,32}. Como

consecuencia de lo anterior podría disminuir la eliminación de platinos lo que podría conllevar a una mayor toxicidad sistémica de estos fármacos³³.

1.4 Combinando datos clínicos y genéticos para establecer riesgo de toxicidad asociado a quimioterapia

En la actualidad existe una gran cantidad de información con respecto a las variaciones genéticas (enfocadas principalmente a SNPs), las cuales se relacionan tanto con la eficacia, como con reacciones adversas o toxicidad en la mayoría de los fármacos quimioterapéuticos. Sin embargo, existe mucha discrepancia en las asociaciones resultantes en los diferentes estudios³⁴. Reflejo de lo anterior, es que la mayoría de los regímenes o pautas clínicas para antitumorales no consideran el genotipo del paciente al momento de recibir el tratamiento. Por lo tanto, se deben mejorar las estrategias de búsqueda de marcadores con el fin de lograr asociaciones relevantes y certeras. Dado que los análisis de SNPs uno a uno tienen una baja potencia estadística para fenotipos complejos como una reacción adversa, queremos explorar si los factores clínicos combinado con factores genéticos podrían lograr mejores resultados predictivos. Esta aproximación ha sido utilizado con resultados prometedores en la predicción de respuesta y toxicidad a quimioterapia basada en platinos en cáncer pulmón de células no pequeñas³⁵. También, en pacientes con cánceres gastrointestinales con terapia basada con 5-FU³⁶. Además, recientemente se usó un *score* de riesgo compuesto de múltiples factores clínicos y genes candidatos

para predecir leucopenia asociada a azatioprina³⁷. Por lo tanto, el foco de nuestra investigación será explorar la asociación de factores genéticos y clínicos con reacciones adversas en pacientes con cáncer gástrico tratados con quimioterapia basada en fluoropirimidinas y platinos.

De acuerdo a los antecedentes anteriormente expuestos, el presente trabajo de tesis propone la siguiente hipótesis:

2. HIPOTESIS DE TRABAJO

“Una alta toxicidad a fluoropiridinas y platinos se asocia a la presencia de una combinación entre polimorfismos de nucleótido único y variables clínicas, en pacientes con cáncer gástrico”

2.1 OBJETIVO GENERAL

Investigar la asociación entre polimorfismos de nucleótido único en genes involucrados en el metabolismo, transporte y efecto, de agentes quimioterapéuticos, las variables clínico-patológicas y la presencia de reacciones adversas, en pacientes con cáncer gástrico.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1.- Establecer SNPs candidatos a genotipificar para el estudio de asociación con toxicidad severa.

- 2.- Caracterizar en términos clínico-patológicos los pacientes con cáncer gástrico incluidos para el estudio de asociación con toxicidad severa.

- 3.- Analizar las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNPs en proteínas involucradas en la farmacocinética y farmacodinamia de agentes quimioterapéuticos en pacientes con cáncer gástrico.

- 4.- Estudiar potenciales asociaciones entre las variaciones genéticas individuales y/o combinadas, las variables clínico-patológicas y las reacciones adversas a medicamentos, de los pacientes en estudio.

- 5.- Establecer un modelo predictivo preliminar basado en SNPs y variables clínico-patológicas para evaluar el riesgo de desarrollar reacciones adversas a medicamentos por tratamiento quimioterapéutico basado en fluoropiridinas/platinos.

3. METODOS

3.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio epidemiológico, retrospectivo observacional, de tipo caso-control. Un total de 224 pacientes con cáncer gástrico diagnosticados entre abril del 2005 y marzo del 2018 fueron registrados en el Centro del Cáncer UC-CHRISTUS en la Pontificia Universidad Católica de Chile (PUC). Los pacientes se seleccionaron en función de la presencia de reacciones adversas a la quimioterapia, considerados casos y ausencia de ellos, considerados como controles, y en función de la severidad de las reacciones adversas. Se consideró la presencia de la variante genética de riesgo como factor de exposición.

3.2 PACIENTES

3.2.1 Criterios de inclusión/exclusión

Los criterios de **inclusión** fueron: a) cáncer gástrico histológicamente confirmado, b) régimen de quimioterapia este basado en fluoropiridinas y/o platinos, c) al momento de iniciar la quimioterapia, paciente con adecuada función renal, hepática y de la medula ósea, determinada por el médico tratante d) Al menos 2 ciclos de quimioterapia y e) mayor de 18 años. Se **excluyeron** los pacientes con las siguientes condiciones médicas: neuropatías y/o daños hematológicos previos causadas por otras enfermedades (Ej. Alcoholismo, diabetes).

Basado en los criterios de inclusión/exclusión 93 pacientes fueron seleccionados para investigar el impacto de distintos polimorfismos genéticos (SNPs) en el desarrollo de reacciones adversas.

3.2.2 Tratamientos de quimioterapia

Los esquemas de tratamiento para el grupo de pacientes se encuentran fueron:

FOLFOX: Esquema de quimioterapia que combina los fármacos 5-fluorouracilo y oxaliplatino. Además, se agrega leucovorina para aumentar la eficacia terapéutica de la pirimidina. Cada ciclo consiste en 85 mg/m² de oxaliplatino IV (día 1), 200 mg/m²/día de leucovorina IV (día 1 y 2), bolo IV de 400 mg/m²/día de 5-fluorouracilo (día 1 y 2) e infusión IV continua de 24 h de 1200 mg/m² de 5-fluorouracilo (día 1). Cada ciclo se repite cada 15 días.

CAPEOX: Esquema de quimioterapia que combina los fármacos capecitabina y oxaliplatino. Cada ciclo consiste en 130 mg/m² de oxaliplatino IV (día 1) y 2000 mg/m²/día de capecitabina VO en día 1 hasta día 14. Cada ciclo se repite cada 21 días.

CF: Esquema de quimioterapia que combina los fármacos cisplatino y 5-fluorouracilo. Cada ciclo consiste en 80 mg/m² de cisplatino IV (día 1) e infusión IV continua de 24 h de 800 mg/m²/día de 5-fluorouracilo en día 1 hasta día 5. Cada ciclo se repite cada 21 días.

DFCm: Esquema de quimioterapia que combina los fármacos docetaxel, cisplatino y 5-fluorouracilo. Cada ciclo consiste en 75 mg/m² de docetaxel IV, 75 mg/m² de cisplatino IV (día 1) e infusión IV continua de 24 h de 750 mg/m²/día de 5-fluorouracilo en día 1 hasta día 5. Cada ciclo se repite cada 21 días.

ECF: Esquema de quimioterapia que combina los fármacos epirubicina, cisplatino y 5-fluorouracilo. Cada ciclo consiste en 50 mg/m² de epirubicina IV, 50 mg/m² de cisplatino IV (día 1) e infusión IV continua de 24 h de 200 mg/m²/día de 5-fluorouracilo en día 1 repetido 2 veces por semana hasta día 21. Cada ciclo se repite cada 21 días.

EOX: Esquema de quimioterapia que combina los fármacos epirubicina, oxaliplatino y capecitabina. Cada ciclo consiste en 130 mg/m² de oxaliplatino IV (día 1), 50 mg/m² de epirubicina IV (día 1) y 1250 mg/m²/día de capecitabina VO en día 1 hasta día 14. Cada ciclo se repite cada 21 días.

FLOT: Esquema de quimioterapia que combina los fármacos 5-fluorouracilo, oxaliplatino, leucovorina y docetaxel. Cada ciclo consiste en 85 mg/m² de oxaliplatino IV (día 1), 200 mg/m² de leucovorina IV (día 1), 50 mg/m² de docetaxel IV (día 1) e infusión IV continua de 24 h de 2600 mg/m² de 5-fluorouracilo (día 1). Cada ciclo se repite cada 15 días.

Capecitabina-Monoterapia. Cada ciclo consiste en 2000 mg/m²/día de capecitabina VO en día 1 hasta día 14. Cada ciclo se repite cada 21 días.

3.2.3 Descripción y evaluación de toxicidades

Las toxicidades se graduaron de acuerdo al *National Cancer Institute Common Toxicity Criteria 4.0* (NCI-CTC 4.0) en cada ciclo de quimioterapia para todos los pacientes. Se colectaron los datos de anemia, neutropenia, neutropenia febril, trombocitopenia, náuseas, vómitos, diarrea, estomatitis, síndrome mano-pie y neuropatía periférica. Luego estas fueron categorizadas tanto en toxicidad hematológica, gastrointestinal y neurológica, y si presentaba alguna de las anteriores como toxicidad general. Grados de 0-2 fueron consideradas como toxicidad leve-moderada y toxicidades 3-4 fueron identificadas como toxicidad severa. Los análisis de asociación consideran toxicidad severa vs leve/moderada.

En nuestro estudio se definió el evento como una reacción adversa \geq a grado 3, ya sea a nivel hematológico, digestivo o neurológico, según los Criterios de Terminología Común para Reacciones Adversas v.4.0 (CTCAE). Basado en el criterio anterior: para toxicidad hematológica los grupos caso/control están compuestos por 15 y 78 pacientes, respectivamente; para toxicidad digestiva los grupos caso/control están compuestos por 17 y 76 pacientes, respectivamente; para toxicidad neurológica los grupos caso/control están compuestos por 4 y 89 pacientes, respectivamente; finalmente para toxicidad general los grupos caso/control están compuestos por 32 y 61 pacientes, respectivamente.

3.3 GENOTIPIFICACION

3.3.1 Extracción y cuantificación de ADN

Como material biológico para la extracción de ADN se utilizó tejido tumoral embebido en parafina. Se utilizó el kit “AllPrep DNA/RNA Mini Kit®” (Cat #AM1975, Thermo Fisher), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Para la cuantificación del ADN se usó el kit “Qubit® dsDNA HS Assay” (Thermo Fisher). Además, la integridad del ADN de cada muestra se evaluó a través de un PCR- convencional para amplificar el gen de β -globina.

3.3.2 Sondas *Taqman* para detección de genotipos

La genotipificación de los SNPs candidatos se realizó utilizando la tecnología *TaqMan® SNP Genotyping Assay* en un *Applied Biosystems® 7500 Fast Real-Time PCR System (Thermo Fisher)*. Este sistema de genotipificación hace uso de un par de *primers* no marcados, y de dos sondas capaces de hacer la discriminación alélica. Además, utiliza la actividad 5´-3´ nucleasa de la enzima *Taq* polimerasa para que el fluoróforo de la sonda, la cual se encuentra unida a la secuencia “blanco”, se escinda de su “quencher”. Detectándose de esa manera la fluorescencia de la sonda específica para cada alelo. Cada ensayo se realizó con los respectivos controles (*wild type*/heterocigoto/mutante) para SNPs, además muestras aleatoriamente fueron reanalizadas para reconfirmación. Curvas representativas del ensayo de PCR en tiempo real se muestra en la **Figura suplementaria 1 (Anexo 1)**. En la **Tabla suplementaria 1 (Anexo 1)** se encuentran ID *assay* para las sondas *TaqMan®*.

3.4 ANALISIS ESTADISTICOS

3.4.1 Análisis de asociación de SNPs

La asociación entre cada SNPs y reacciones adversas/toxicidad fue analizada usando modelos de regresión logística univariada, reportándose los valores de *Odd Ratio* (OR) con su respectivo intervalo de confianza al 95%. Estos análisis fueron ensayados testeando 3 modelos de herencia; dominante, codominante y recesivo, basado en los parámetros de AIC y BIC se escogió el mejor modelo de herencia para cada SNPs³⁸. Para establecer si combinaciones de SNPs se asocian a toxicidad en un primer paso se realizó un análisis de regresión logística multivariada usando los 12 SNPs candidatos. Luego, para reducir el número de combinaciones y evitar el *overfitting* aplicamos “*Stepwise algorithm*” basado en *AIC* (<http://www.math.umt.edu/olear/STAT458s14/stepaic.pdf>). Con los SNPs previamente seleccionados, se realizaron combinaciones binarias y se estableció su asociación con toxicidad general usando sus respectivos modelos de herencia.

3.4.2 Construcción de modelos para toxicidad general severa

Se desarrollaron 4 modelos para toxicidad general severa con diferentes variables, tanto clínicas/tratamiento como SNPs. En cada modelo se incluyeron variables potencialmente relevantes, basándonos en potente evidencia de literatura o que el valor de p de asociación fuera $< 0,2$. Luego, se construyeron modelos de regresión logística multivariado incluyendo las variables que maximizaran el valor de Pseudo R^2 (MacFadden), usando este último como un indicador de ajuste de las

variables al modelo^{39,40}. Modelo 1 incluyó las variables edad, sexo, quimioterapia peri-operatorio y esquema que contenía 5-FU. El modelo 2 incluyó los siguientes SNPs: *ERCC2* (rs13181), *DPYD* (rs2297595), *DPYD* (rs1801159), *DPYD* (rs1801265) y *GSTP1* (rs1695), con sus respectivos modelos de herencia. El modelo 3 incluyó las variables clínicas/tratamiento y SNPs, ellos fueron: edad, sexo, quimioterapia peri-operatorio, esquema que contenía 5-FU, *ERCC2* (rs13181), *DPYD* (rs2297595), *DPYD* (rs1801159), *DPYD* (rs1801265) y *GSTP1* (rs1695). Finalmente, el modelo 4 incluyó las siguientes variables: edad, sexo, quimioterapia peri-operatoria, esquema que contenía 5-FU, la combinación binaria de los SNPs *DPYD* (rs1801265) + *ABCC2* (rs717620), mas *DPYD* (rs1801159). Todos los modelos fueron construidos usando regresión logística multivariada.

3.4.3 Evaluación de modelos

Se utilizaron diferentes algoritmos de clasificación para la validación interna de los diferentes modelos. Entre los algoritmos de clasificación se encuentran: *Logistic Regression* (LR); *Support Vector Machine* (SVM); *Naïve Bayesian* (NB); *K-Nearest Neighbor* (KNN); *Artificial Neural Network* (ANN); *Random Forest* (RF); *Decision Tree* (DT). Los detalles de los diferentes algoritmos de clasificación utilizados y la evaluación del desempeño (sensibilidad, especificidad, exactitud y área bajo la curva (ABC)) de cada uno fueron proporcionados en **Anexo 1**.

3.4.4 Construcción de nomograma

Un nomograma es una representación gráfica de un modelo que entrega una aproximación de la probabilidad de un *outcomes* de interés. Usando como base los coeficientes del análisis multivariado del modelo 4 (que incluye las siguientes variables: edad, sexo, quimioterapia peri-operatorio, esquema que contenía 5-FU, la combinación binaria de los SNPs *DPYD* (rs1801265) + *ABCC2* (rs717620), más *DPYD* (rs1801159)), se construyó un nomograma que provee una estimación visual de la probabilidad de sufrir toxicidad severa usando el paquete “rms” del programa R⁴¹. Además, para evaluar la capacidad predictiva, se estimó el valor del índice c corregido por *bias* usando como *subset* de validación interna 1000 replicaciones (*bootstrap*), además, el gráfico de calibración fue incluido.

3.4.5 Análisis estadísticos generales y programas/paquetes usados

Las variables continuas fueron comparadas con test de ANOVA. Para establecer las diferencias entre las frecuencias genotípicas y alélicas entre los distintos grupos de datos se utilizó la prueba de χ^2 (o la prueba exacta de Fisher cuando fue necesario). Los análisis de sobrevida fueron realizados usando el método de *Kaplan-Meir* y las curvas fueron comparadas usando test de *log-rank*. Un valor de $p \leq 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Los análisis de asociación de SNPs y toxicidad severa, usando diferentes modelos de herencia, se realizaron usando el programa SNPstat²⁸. Los modelos de regresión logística uni/multivariado fueron contruidos usando los paquetes *Stats* y *DescTools*. Los diversos algoritmos de

clasificación se construyeron usando los paquetes *caret*, *ROCR* y *cutpointr*. Para los análisis de sobrevida se utilizaron los paquetes *survival* and *survminer*. Todos los análisis fueron hechos usando R versión 3.5.1 (The R Foundation, Vienna, Austria). Los datos de los pacientes anonimizados se encuentran disponibles en el **Anexo 3**.

3.5 ASPECTOS ETICOS

El estudio se llevó a cabo bajo estrictas normas éticas recomendadas por el Comité de Ética de la Pontificia Universidad Católica, de acuerdo con las normas sugeridas en la Declaración de Helsinki y considerando el uso de buenas prácticas clínicas (GCP). Cada paciente firmó un documento de consentimiento informado, en función de su participación en la determinación del análisis de genotípico. Todos los procedimientos realizados en esta investigación se llevaron a cabo de acuerdo a las leyes nacionales N° 20.120 (sobre la investigación científica en el ser humano, su genoma prohíbe la clonación humana), N° 19.628 (sobre la protección de la vida privada) y N° 20.584 (Regula los derechos y deberes que tienen las personas en relación con acciones vinculadas a su atención de salud).

4. RESULTADOS

4.1 Selección de SNPs

Los SNPs candidatos para este estudio de asociación fueron seleccionados en base a sistema de puntajes de acuerdo los siguientes criterios. El primer criterio utilizado fue la evidencia científica en cuanto a la relación variante genética/toxicidad, utilizando la base de datos PharmGKB⁴². Donde evidencia nivel 1 significa que las asociaciones han sido verificadas en diferentes estudios y nivel 4 significa que solo hay evidencia in-vitro o basada en reporte de casos. Para nivel de evidencia 1 se asigna un puntaje de 4, nivel 2 un puntaje de 3, nivel 3 un puntaje de 2 y para nivel 4 un puntaje de 1. El segundo criterio fue la frecuencia del alelo de riesgo del correspondiente SNPs de acuerdo se utiliza a la base de datos 1000-g *Project*⁴³, considerando como referencia los datos de población Americana a una frecuencia del alelo asociado a riesgo de 1% a 25%, de 26% a 50%, de 51% a 75% y de 76 a 99% se asigna un valor de 1, 2, 3 y 4, respectivamente. El tercer criterio se basa en la relación que tiene el SNP con el efecto adverso de mayor relevancia clínica, para este estudio las toxicidades más relevantes son la hematológica, neurológica y gastrointestinal, si la asociación se corresponde con el efecto adverso más relevante se asigna un valor de 2 y si no corresponde se asigna valor de 1. El cuarto criterio utilizado esta en relación con el efecto funcional del SNP en la proteína correspondiente. Para un cambio en las regiones inter/intragénica, intrónica o un cambio silente se asigna un valor de 2 y para un cambio en la secuencia de aminoacídica un valor de 4. Finalmente se agregó un

puntaje extra a los SNP que pudieran alterar la función de la proteína, esto a partir del uso de programas de predicción, estos programas son *PolyPhen* y *SIFT*. El primero se basa en la conservación de secuencias, el plegamiento y la estructura cristalina de la proteína⁴⁴, en cambio, el segundo programa usa las homologías de secuencia⁴⁵ para tratar de predecir las consecuencias moleculares de la sustitución de un aminoácido⁴⁶. De acuerdo al puntaje obtenido en Polyphen, se asignó un valor de 0,5 para las variaciones benignas y 1 para las dañinas. De acuerdo al puntaje obtenido en *SIFT*, para las variaciones toleradas se asignó un puntaje de 0,5 y para las dañinas de 1. Para la selección final, se promediaron los puntajes de obtenidos por cada SNP en fluoropirimidinas y platinos, la elección fue de aquellos SNPs que tenían un puntaje igual o mayor al promedio. Todo el detalle se encuentra en el **Anexo 2**. Para las fluoropirimidinas se seleccionaron 14 SNPs en 7 genes distintos, por su parte, para los platinos fueron seleccionados 4 SNPs en 4 genes distintos (archivo suplementario 1). Luego de evaluar la factibilidad de la genotipificación, 12 SNPs en 9 genes fueron los candidatos para los estudios de asociación. Una descripción de los SNPs seleccionados se enlista en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Breve descripción de los SNPs seleccionados en este estudio

Gen	SNP ID	Cambio AA	Efecto SNP	Genotipo asociado a toxicidad	Frecuencia genotipo (n)*	Toxicidad asociada
					AA: 0,282, AG:	Toxicidad
<i>GSTP1</i>	rs1695, A>G	I105V	Alteración proteína	AA y AG	0,484 (347)	Hematológica
					GG: 0,032, GT:	Toxicidad
<i>ERCC2</i>	rs13181, T>G	K751Q	Alteración proteína	GG y GT	0,366 (347)	Hematológica
					CG: 0,438, GG:	Toxicidad
<i>TP53</i>	rs1042522, C>G	P72R	Alteración proteína	CG y GG	0,098 (347)	Hematológica
<i>UMPS</i>	rs1801019, G>C	G213A	Alteración proteína	CC	CC: 0,078 (347)	Toxicidad G.I
						Toxicidad
<i>SHMT1</i>	rs1979277, G>A	L474F	Alteración proteína	AA	AA: 0,084 (347)	General
						Toxicidad
<i>MTHFR</i>	rs1801131, T>G	E429A	Alteración proteína	TT	TT: 0,720 (347)	General
						Toxicidad
<i>ABCC2</i>	rs717620, C>T	----	Cambio en 5'-UTR	TT	TT: 0,023 (347)	Neurológica
<i>ERCC1</i>	rs11615, A>G	N118=	Sinónimo	AA	AA: 0,164 (347)	Toxicidad G.I
						Toxicidad
<i>DPYD</i>	rs55886062, A>C	I560S	Alteración proteína	CC	CC: 0,00 (347)	General
					CC: 0,003, CT:	Toxicidad
<i>DPYD</i>	rs2297595, T>C	M166V	Alteración proteína	CC y CT	0,121 (347)	General
					CC: 0,081, CT:	Toxicidad
<i>DPYD</i>	rs1801159, T>C	I543V	Alteración proteína	CC y CT	0,372 (347)	General
					GG: 0,049, AG:	Toxicidad
<i>DPYD</i>	rs1801265, A>G	C29R	Alteración proteína	GG y AG	0,352	General

* Frecuencia genotípica de acuerdo a la población americana del "1000-G Project".
AA, Aminoácido; G.I, Gastrointestinal.

Además, se calcularon las frecuencias genotípicas y alélicas de los 12 SNPs, y para cada uno de los polimorfismos se evaluó el cumplimiento del equilibrio de “Hardy–Weinberg” (HW) (**Tabla 2**). Todos los SNPs cumplen el equilibrio de HW a excepción del SNP en *ERCC1* (rs11615) ($p < 0,006$, para *test* de equilibrio HW).

Tabla 2. Frecuencias genotípicas y alélicas, equilibrio de HW para los SNPs en 93 pacientes con cáncer gástrico.

Gen	SNP ID	Frecuencia n (%) N = 93	<i>p- valor*</i>	Cumple Equilibrio de HW
<i>GSTP1</i> rs1695 A>G				
	AA	36 (39%)	1	Si
	AG	44 (47%)		
	GG	13 (14%)		
	Alelo			
	A	116 (62%)		
	G	70 (38%)		
<i>ERCC2</i> rs13181 T>G				
	TT	55 (59%)	0,22	Si
	TG	36 (39%)		
	GG	2 (2%)		
	Alelo			
	T	146 (78%)		
	G	40 (22%)		
<i>TP53</i> rs1042522 C>G				
	CC	56 (62%)	0,38	Si
	CG	29 (32%)		
	GG	6 (7%)		
	ND	2 (2,15%)		
	Alelo			
	C	141 (77%)		
	G	41 (23%)		
<i>UMPS</i> rs1801019 G>C				
	GG	61 (66%)	0,74	Si
	GC	28 (30%)		

CC	4 (4%)		
Alelo			
G	150 (81%)		
C	36 (19%)		
SHMT1 rs1979277 G>A			
GG	50 (54%)	0,79	Si
GA	35 (38%)		
AA	7 (8%)		
ND	1 (1%)		
Alelo			
G	135 (73%)		
A	49 (27%)		
MTHFR rs1801131 T>G			
TT	52 (56%)	1	Si
TG	36 (39%)		
GG	5 (5%)		
Alelo			
T	145 (75%)		
G	46 (25%)		
ABCC2 rs717620 C>T			
CC	76 (83%)	0,56	Si
CT	15 (16%)		
TT	1 (1%)		
ND	1 (1%)		
Alelo			
C	167 (91%)		
T	17 (9%)		
DPYD rs55886062 A>C			
AA	92 (100%)	NA	NA
AC	0 (0%)		
CC	0 (0%)		
NA	1 (1%)		
Alelo			
A	184 (100%)		
C	0 (0%)		
DPYD rs2297595 T>C			
TT	85 (92%)	1	Si
TC	7 (8%)		
CC	0 (0%)		
ND	1 (1%)		

Alelo			
T	177 (96%)		
C	7 (4%)		
DPYD rs1801159 T>C			
TT	40 (43%)	1	Si
TC	41 (45%)		
CC	11 (12%)		
ND	1 (1%)		
Alelo			
T	121 (66%)		
C	63 (34%)		
DPYD rs1801265 A>G			
AA	50 (55%)	0,073	Si
AG	30 (33%)		
GG	11 (12%)		
ND	2 (2,15%)		
Alelo			
A	130 (71%)		
G	52 (29%)		
ERCC1 rs11615 A>G			
AA	16 (17%)	0,0063	No
AG	60 (65%)		
GG	16 (17%)		
ND	1 (1%)		
Alelo			
A	92 (50%)		
G	92 (50%)		

* p-valor usando la prueba exacta de Fisher. HW, Hardy-Weinberg. ND, No Disponible; NA, No Aplicable

4.2 Caracterización de pacientes estudio de asociación caso-control

4.2.1 Características clínico-patológicas, tratamiento y de supervivencia de pacientes en estudio.

Caracterización general de los pacientes

La **figura 4** muestra el diagrama de flujo de los pacientes incluidos en este estudio. Se registraron 224 pacientes con diagnóstico confirmado de cáncer gástrico, de ellos 79 de ellos se excluyeron por: no recibieron quimioterapia o lo hicieron en otro centro, recibieron quimioterapia más un fármaco biológico, menos de 2 ciclos de quimioterapia, sin información de esquema o por una condición hematológica previa. Además, se excluyeron 52 pacientes debido a insuficiente material biológico disponible para extracción de ácidos nucleicos. Finalmente, 93 pacientes fueron incluidos en este estudio de caso/control.

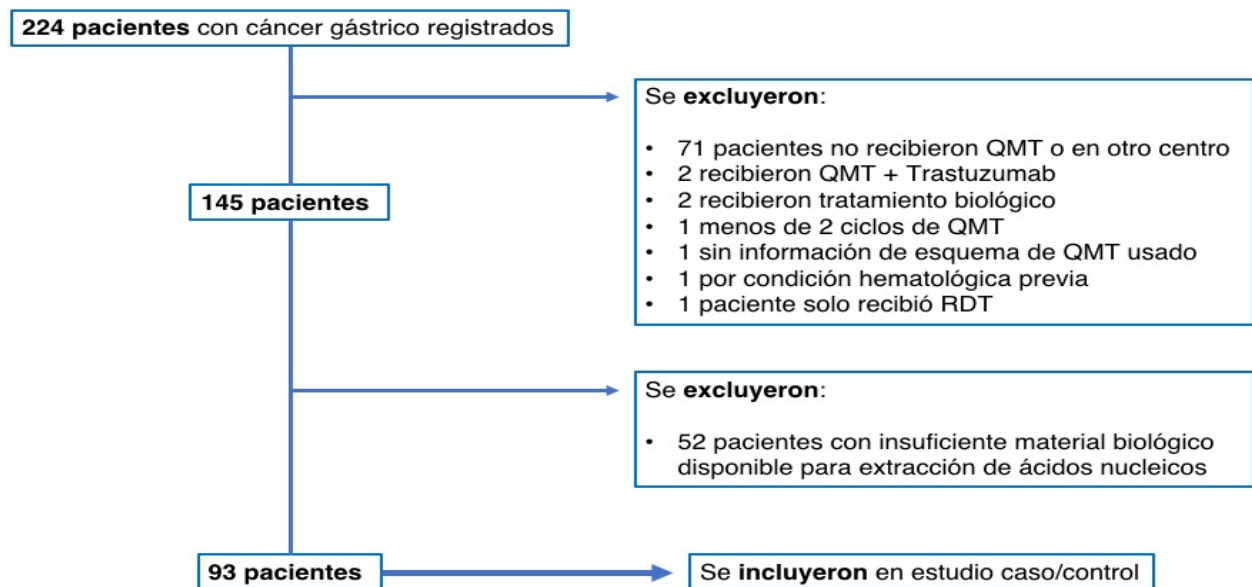


Figura 4. Diagrama de flujo de los pacientes incluidos en este estudio.

Las principales características clínico-patológicas de los pacientes se encuentran resumidas en la **Tabla 3**. Brevemente, los pacientes fueron predominantemente hombres (62,4%) y diagnosticados en etapas avanzadas III/IV (71,0%). La mayoría de los tumores se localizaron en el cuerpo del estómago (31,2%). Histológicamente, un 32,3% de las muestras se clasificó como de tipo difuso por Lauren y un 77,3% correspondió a un adenocarcinoma gástrico de acuerdo a la clasificación de la OMS.

Tabla 3. Características demográficas y clínico-patológicas de los pacientes en estudio(N=93)

Características	N (%)
Edad, mediana (años, rango)	59 (26-79)
Sexo	
Hombre	58 (62,4%)
Mujer	33 (37,4%)
Etapas clínicas	
I	3 (3,2%)
II	24 (25,8%)
III	44 (47,3%)
IV	22 (23,7%)
ECOG	
0	42 (45,2%)
1	37 (39,8%)
2	3 (3,2%)
≥ 3	0
ND	11 (11,8%)
Ubicación tumor primario	
Cardias	11 (11,8%)
Esófago distal y UGE	14 (15,1%)
Fondo	5 (5,4%)
Cuerpo	29 (31,2%)
Antro	19 (20,4%)
Píloro	4 (4,3%)

Múltiple	8 (8,6%)
ND	3 (3,2%)
Histología según Lauren	
Intestinal	26 (28,0%)
Difuso	30 (32,3%)
Mixto	11 (11,8%)
ND	26 (28,0%)
Histología según OMS	
Adenocarcinoma	71 (76,3%)
Carcinoma indiferenciado	5 (5,4%)
Carcinoma adenoescamoso	1 (1,1%)
ND	16 (17,2%)
Presencia células anillo de sello	
No	54 (58,1%)
Si	39 (41,9%)

ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group;

OMS, Organización Mundial de la Salud;

ND, No Disponible

Las curvas de sobrevida de *Kaplan-Meier* para los pacientes se muestran en la **Figura 5**. La mediana de sobrevida global (SG) para todo el grupo de pacientes fue de 29 meses (Fig. 5A). Los hombres en el grupo analizado mostraron mejores tasas de SG contra mujeres, sin embargo, estas diferencias no alcanzaron significancia estadística (Log Rank $p = 0,45$, Fig. 5B). Como se esperaba, la etapa del cáncer tuvo un impacto significativo en las tasas de SG del grupo de pacientes. Los pacientes en etapas avanzadas (30 y 13 meses para los estadios III y IV, respectivamente) mostraron medianas de SG más bajas en comparación con las etapas tempranas (62 meses en el estadio II, no alcanzada para etapa I) (Fig. 5C, Log Rank $p < 0,0001$).

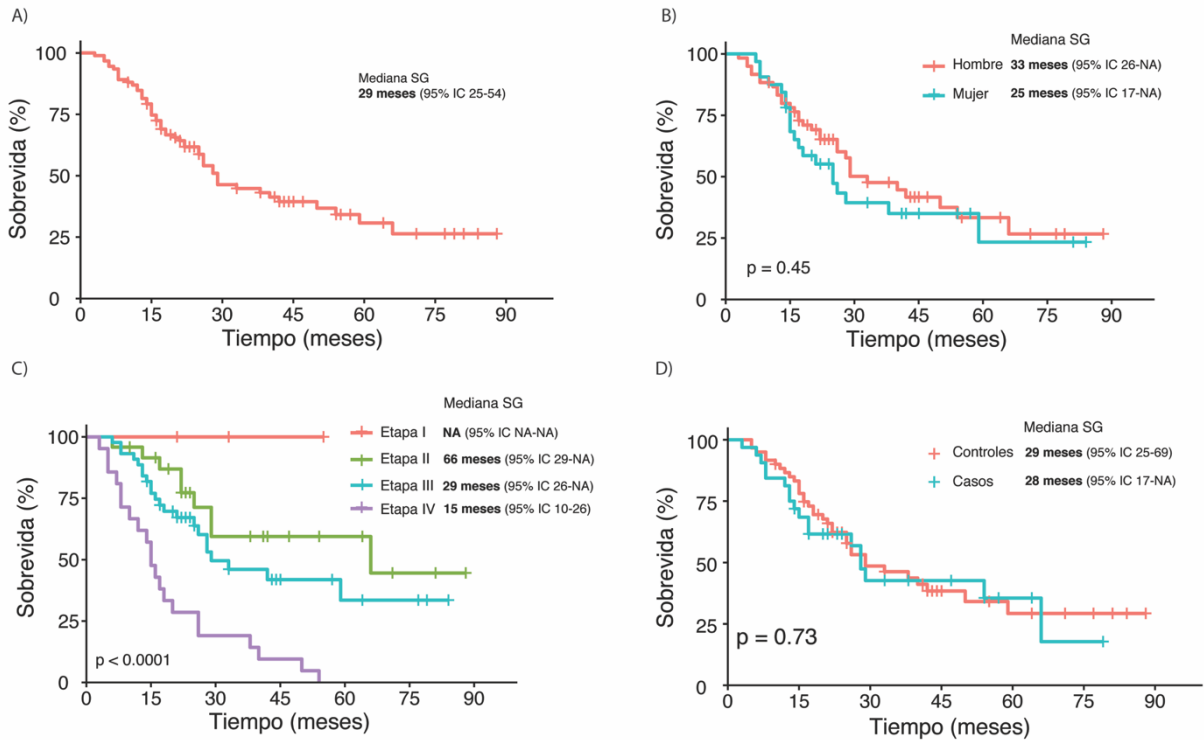


Figura 5. Tasa de supervivencia global para pacientes en estudio. Curvas de *Kaplan–Meier* indican la supervivencia global para: (A) todos los pacientes. (B) por sexo. (C) por etapa. (D) por casos/controles. *Significancia: P < 0,05*

En la **Tabla 4** se resumen las características de los tratamientos de los 93 pacientes de este estudio. Los porcentajes para los distintos tipos de quimioterapia fueron: 34,4%, 32,2% y 28% para peri-operatoria, paliativa y adyuvante, respectivamente. Además, solo un 4,4% (n=5) de los pacientes recibió quimio-radioterapia. Además, el principal esquema utilizado fue FOLFOX con un 49,5%, los esquemas CAPEOX y CF fueron utilizados en un 18,3% y 14,0% de los pacientes, respectivamente.

Tabla 4. Características de los tratamientos en los pacientes con cáncer gástrico (N = 93).

Características	N (%)
Régimen de quimioterapia	
Peri-operatoria	32 (34,4%)
Paliativa	30 (32,2%)
Adyuvante	26 (28,0%)
QMT + RDT Adyuvante	4 (4,3%)
QMT + RDT Peri-operatoria	1 (1,1%)
Esquema de quimioterapia	
FOLFOX	46 (49,5%)
CAPEOX	17 (18,3%)
CF	13 (14,0%)
DCFm	5 (5,4%)
ECF	2 (2,2%)
EOX	2 (2,2%)
Capecitabina	2 (2,2%)
FLOT	1 (1,1%)
RDT + 5-FU/Leu	3 (3,2%)
RDT + CAPEOX	1 (1,1%)
RDT + Cis/Cape	1 (1,1%)
Tratamiento Previo	
No	83 (89,3%)
Si	10 (10,7%)
Esquema contuvo	
RDT	5 (5,3%)
5-FU	70 (75,3%)
Capecitabina	21 (22,6%)
Oxaliplatino	67 (72,0%)
Cisplatino	21 (21,3%)
Docetaxel	6 (6,5%)
Cirugía	
No	10 (10,7%)
Si	83 (89,3%)

QMT, quimioterapia; RDT, radioterapia; FOLFOX, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+leucovorina; CAPEOX, capecitabina+oxaliplatino; CF, cisplatino+5-fluorouracilo; DCFm, docetaxel+cisplatino+5-fluorouracilo; ECF, etóposido+ cisplatino+5-fluorouracilo; FLOT, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+ docetaxel+ leucovorina; 5-FU, 5-fluorouracilo; Leu, leucovorina; Cis, cisplatino; Cape, capecitabina.

La **Tabla 5** resume todas las reacciones adversas que se registraron para este estudio de acuerdo a CTCAE v.4.0. Se agruparon de acuerdo al tipo de toxicidad, entre ellas: toxicidad hematológica, gastrointestinal y neurológica. La toxicidad de grado 1 mayormente registrada fue neuropatía periférica (34,1% entre las grado 1 registradas). Las náuseas con un 31,5% fue la toxicidad grado 2 más predominante. Por su parte, neutropenia fue la toxicidad grado 3 dominante con un 22,6% seguida de diarrea con un 20%. Finalmente, de los 5 eventos grado 4 registrados, 3 correspondieron a neuropatía (60%). Ninguno de estos pacientes reportó muerte asociada a toxicidad por quimioterapia. En relación a las toxicidades clínicamente relevantes, es decir, \geq grado 3, se observaron en mayor medida a nivel digestivo, con 19 eventos registrados, en donde la diarrea y estomatitis fueron las que predominaron. También, a nivel hematológico se registraron 17 eventos de toxicidad \geq grado 3, entre las que predominaron la neutropenia y neutropenia febril (**Tabla 5**).

Tabla 5. Graduación de toxicidad para pacientes con cáncer gástrico de acuerdo al *Common Toxicity Criteria for Adverse Events (CTCAE)*.

Toxicidad	N (%)				
	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3	Grado 4
Hematológica					
Anemia	87 (93,5%)	2 (2,2%)	3 (3,3%)	1 (1,1%)	0
Neutropenia	77 (84,7%)	1 (1,1%)	4 (4,4%)	8 (8,8%)	3 (3,3%)
Neutropenia febril	89 (95,6%)	0	0	4 (4,4%)	0
Trombocitopenia	82 (87,9%)	3 (3,3%)	7 (7,7%)	1 (1,1%)	0
Gastrointestinal					
Náuseas	56 (59,3%)	17 (18,7%)	17 (18,7%)	2 (2,2%)	1 (1,1%)
Vómitos	78 (83,5%)	10 (11,0%)	2 (2,2%)	3 (3,3%)	0
Diarrea	68 (72,5%)	14 (15,4%)	4 (4,4%)	7 (7,7%)	0
Estomatitis	78 (83,5%)	6 (6,6%)	3 (3,3%)	5 (5,5%)	1 (1,1%)
Neurológica					
Síndrome mano pie	85 (91,2%)	3 (3,3%)	3 (3,3%)	2 (2,2%)	0
Neuropatía periférica	53 (56,0%)	27 (29,7%)	11 (12,1%)	2 (2,2%)	0

* Ningún paciente desarrollo toxicidad grado 5

4.3 Estudiar potenciales asociaciones entre las variaciones genéticas individuales y/o combinadas, las variables clínico-patológicas y las reacciones adversas a medicamentos, de los pacientes en estudio

Noventa y tres pacientes cumplieron los criterios de inclusión, estos se agruparon en casos y controles dependiendo de la presencia de eventos \geq a grado 3 para toxicidad hematológica, digestiva, neurológica y general. Para estudiar posibles asociaciones entre las características clínico-patológicas, las variaciones genéticas y el desarrollo de reacciones adversas a tratamiento se utilizó un modelo de regresión logística. A continuación, se detalla el análisis por tipo de toxicidad.

4.3.1 Asociaciones entre variables clínicas/tratamiento, polimorfismos y **toxicidad hematológica.**

Con respecto a la relación casos/controles, esta fue de 15 y 78 pacientes, respectivamente. Fueron registradas las principales características clínico-patológicas de los pacientes, entre las que se encuentra: edad, sexo, etapa, ECOG, clasificación histológica, entre otras. Además, registramos los factores asociados a tratamiento, entre ellos se encuentran, el tipo de quimioterapia, los esquemas de tratamiento, la presencia de un determinado tipo de fármaco. Las asociaciones entre estos factores y toxicidad hematológica \geq 3 se presentan en la **Tabla 6**. Si bien no se encontraron asociaciones significativas entre los factores clínicos/tratamiento y toxicidad

hematológica, podemos mencionar relaciones previamente reportadas. Como por ejemplo la edad, en donde pacientes mayores o iguales a 59 años tiene una mayor probabilidad de desarrollar toxicidad hematológica (OR = 2,0, IC95% = 0,64-6,91, p = 0,23). También, el sexo femenino, la terapia peri-operatoria y un esquema con 5-FU mostraron una mayor probabilidad de toxicidad.

Tabla 6. Análisis de regresión logística univariada para la asociación entre factores clínico-patológicos/tratamiento y toxicidad hematológica \geq a grado 3.

Características	Control (N = 78) N (%)	Caso (N = 15) N (%)	OR 95% IC	p-valor
Edad (mediana, años)				
< 59	39 (50,0%)	5 (33,3%)	Ref.	0,23
\geq 59	39 (50,0%)	10 (66,7%)	2,0 (0,64-6,91)	
Sexo				
Hombre	52 (66,7%)	8 (53,3%)	Ref.	0,33
Mujer	26 (33,3%)	7 (46,7%)	1,75 (0,55-5,40)	
Etapa agrupada				
I-II	24 (30,8%)	3 (20,0%)	Ref.	0,38
III-IV	54 (69,2%)	12 (80,0%)	1,77 (0,50-8,31)	
ECOG				
0	35 (44,9%)	7 (46,7%)	Ref.	0,57
1	32 (41,0%)	5 (33,3%)	0,78 (0,21-2,69)	
2	3 (3,8%)	0 (0%)	NA	
ND	8 (10,3%)	3 (20,0%)		
Histología según Lauren				
Difuso	23 (29,5%)	7 (46,7%)	Ref.	0,5
Intestinal	22 (28,2%)	4 (26,7%)	0,59 (0,14-2,26)	
Mixto	10 (12,8%)	1 (6,7%)	0,32 (0,016-2,21)	
ND	23 (29,5%)	3 (20,0%)		
Anillo de sello				
No	45 (57,7%)	9 (60,0%)	Ref.	0,86
Si	33 (42,3%)	6 (40,0%)	0,9 (0,28-2,77)	
Comorbilidades				

Enfermedad cardíaca crónica	6 (7,7%)	1 (6,7%)	0,85 (0,04-5,57)	0,88
Enfermedad hepática crónica	1 (1,3%)	1 (6,7%)	5,5 (0,20-144,68)	0,26
Evento tromboembólico previo	2 (2,6%)	0 (0%)	NA	NA
Diabetes	9 (11,5%)	2 (13,3%)	1,17 (0,16-5,27)	0,84
Factores de tratamiento				
Régimen de Quimioterapia				
Adyuvante	24 (30,8%)	2 (13,3%)	Ref.	0,16
Peri-operatorio	23 (29,5%)	9 (60,0%)	4,69 (1,06-33,0)	
Paliativa	26 (33,3%)	4 (26,7%)	1,84 (0,32-14,1)	
QMT + RDT adyuvante	4 (5,1%)	0 (0%)	NA	
QMT + RDT peri-operatoria	1 (1,3%)	0 (0%)	NA	
Esquema de Quimioterapia				
FOLFOX	38 (48,7%)	8 (53,3%)	Ref.	0,39
CAPEOX	15 (19,2%)	2 (13,3%)	0,63 (0,08-2,89)	
CF	10 (12,8%)	3 (20,0%)	1,42 (0,27-6,02)	
DCFm	5 (6,4%)	0 (0%)	NA	
ECF	1 (1,3%)	1 (6,7%)	4,75 (0,17-129,1)	
EOX	2 (2,6%)	0 (0%)	NA	
Capecitabina	2 (2,6%)	0 (0%)	NA	
FLOT	0 (0%)	1 (6,7%)	NA	
RDT + 5-FU/Leu	3 (3,8%)	0 (0%)	NA	
RDT + CAPEOX	1 (1,3%)	0 (0%)	NA	
RDT + Cis/Cape	1 (1,3%)	0 (0%)	NA	
Tratamiento QMT previo				
No	69 (88,5%)	14 (93,3%)	Ref.	0,55
Si	9 (11,5%)	1 (6,7%)	0,54 (0,02-3,27)	
Esquema contuvo				
RDT	5 (6,4%)	0 (0%)	NA	NA
5-FU	57 (73,1%)	13 (86,7%)	2,39 (0,59-16,13)	0,23
Capecitabina	19 (24,4%)	2 (13,3%)	0,47 (0,07-1,93)	0,32
Oxaliplatino	56 (71,8%)	11 (73,3%)	1,08 (0,32-4,22)	0,9
Cisplatino	17 (21,8%)	4 (26,7%)	1,30 (0,32-4,38)	0,68
Docetaxel	5 (6,4%)	1 (6,7%)	1,04 (0,05-7,14)	0,97

Ref, Referencia; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; ND, No Disponible; NA, No Aplicable QMT, quimioterapia; RDT, radioterapia; FOLFOX, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+leucovorina; CAPEOX, capecitabina+oxaliplatino; CF, cisplatino+5 fluorouracilo; DCFm, docetaxel+cisplati-no+5-fluorouracilo; ECF, etóposido+ cisplatin+5-fluorouracilo; FLOT, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+ docetaxel+ leucovorina; 5-FU, 5-fluorouracilo; Leu, leucovorina; Cis, cisplatino; Cape, Capecitabina; Significancia: P< 0,05

Por otro lado, se estimaron 3 modelos de herencia (codominante, dominante y recesivo) para analizar las asociaciones binarias entre toxicidad hematológica y SNPs. Las asociaciones entre los 12 polimorfismos y reacciones adversas se determinaron utilizando regresión logística, estimándose los *OR* con una IC al 95%. En la **Tabla 7** se muestran las asociaciones más relevantes, con su respectivo modelo de herencia. Se encontró una tendencia hacia la asociación entre reacción adversa hematológica y el polimorfismo en el gen *GSTP1* (rs1695) donde la presencia de los genotipos AG/GG en relación al AA (modelo dominante), se asocia a una protección de desarrollar una reacción adversa con un OR de 0.35 (IC95%: 0,11-1,10, p= 0,068). Además, una asociación de tendencia al riesgo se encontró para el SNP en el *ERCC1* (rs11615) en un modelo recesivo (AA/AG vs GG) con un OR de 3,00 (IC95%: 0,86-10,46, p= 0,097, tabla 13). Además, para el SNP en *DPYD* (rs1801265) en un modelo dominante (AA vs AG/GG) los pacientes con los genotipos AG/GG mostraron una mayor probabilidad de desarrollar toxicidad hematológica, igualmente para el SNP en *ERCC2* (rs13181, dominante) (**Tabla 7**). Sin embargo, dichas observaciones no alcanzaron significancia estadística.

Tabla 7. Asociación entre SNPs y toxicidad hematológica \geq a grado 3 en pacientes tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas.

Gen SNP ID	Modelo Herencia	Genotipo	Control N = 78 (%)	Caso N = 15 (%)	OR (IC 95%)	p-valor
<i>GSTP1</i>						
rs1695 A>G	Dominante	A/A	27 (34,6%)	9 (60%)	Ref.	0,35 (0,11-1,10)
		G/G-A/G	51 (65,4%)	6 (40%)		
<i>ERCC2</i>						
rs13181 T>G	Dominante	T/T	48 (61,5%)	7 (46,7%)	Ref.	0,29
		T/G-G/G	30 (38,5%)	8 (53,3%)	1,83 (0,60-5,56)	
<i>DPYD</i>						
rs1801265 A>G	Dominante	A/A	45 (58,4%)	5 (35,7%)	Ref.	0,12
		A/G-G/G	32 (41,6%)	9 (64,3%)	2,53 (0,78-8,27)	
<i>ERCC1</i>						
rs11615 A>G	Recesivo	A/A-A/G	66 (85,7%)	10 (66,7%)	Ref.	3,00 (0,86-10,46)
		G/G	11 (14,3%)	5 (33,3%)		

Ref, Referencia. En rojo asociaciones con mayor probabilidad y en verde menor probabilidad de toxicidad severa.

Significancia: $P < 0,05$

Además, como se explicó previamente en métodos, para tratar de establecer potenciales asociaciones entre SNPs combinados y toxicidad, se utilizó regresión logística multivariado con los 12 SNPs y para reducir el número de combinaciones y evitar el *overfitting* aplicamos “Stepwise algorithm” basado en *AIC* (*Akaike Information Criterion*). Basado en lo anterior, para toxicidad hematológica se seleccionaron 4 SNPs, con estos y sus respectivos modelos de herencia se realizaron las combinaciones binarias entre SNPs. En la **Tabla 8** se tabulan las combinaciones que mostraron

asociaciones significativas. Interesantemente, la combinación de los SNPs en *ERCC1* and *GSTP1* mostraron una asociación significativa con toxicidad hematológica, donde los pacientes con los genotipos combinados GG + AA (vs AA/AG + AA) tienen un OR de 10,0 (IC95% = 1,53-88,72, p = 0,02), por otro lado, para la combinación de *ERCC1* y *DPYD* (rs1801265) los pacientes con los genotipos GG + AG-GG (vs AA-AG + AA) tienen un OR de 7,80 (IC95% = 11,17-54,17, p = 0,03), asociándose ambos a una mayor probabilidad de desarrollar toxicidad hematológica.

Tabla 8. Asociación entre SNPs combinados y toxicidad hematológica \geq a grado 3 en pacientes tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas.

SNPs combinados	Control N = 75 (%)	Caso N = 15 (%)	OR (IC 95%)	p-valor
<i>ERCC1</i> rec. (rs11615) + <i>GSTP1</i> dom.(rs1695)				
AA/AG + AA	25 (32,5%)	5 (33,3%)	Ref.	-
AA/AG + AG/GG	41 (53,2%)	5 (33,3%)	0,69 (0,15-2,39)	0,46
GG + AA	2 (2,6%)	4 (26,7%)	10,0 (1,53-88,72)	0,02
GG + AG/GG	9 (11,7%)	1(6,7%)	0,55 (0,03-4,11)	0,61
<i>ERCC1</i> rec. (rs11615) + <i>DPYD</i> dom (rs1801265)				
AA-AG + AA	39 (50,6%)	3 (20,0%)	Ref.	-
AA-AG + AG_GG	27 (35,1%)	7 (46,7%)	2,88 (0,69-14,63)	0,15
GG + AA	6 (7,8%)	2 (13,3%)	4,33 (0,49-32,07)	0,14
GG + AG-GG	5 (6,5%)	3 (20,0%)	7,80 (1,17-54,17)	0,03

En negrita los genotipos del segundo SNP. En rojo asociaciones con mayor probabilidad de toxicidad severa.

Ref, Referencia; Dom, dominante; Rec, recesivo.

Significancia: $P < 0,05$

Finalmente, se desarrollaron 4 modelos, cada uno de los cuales fue construido con distintas variables usando regresión logística multivariada. En términos generales el modelo 1 contempla sólo variables clínicas y de tratamiento, modelo 2 contempla solo SNPs, el modelo 3 contempla la combinación de factores clínicos/tratamiento más SNPs, finalmente el modelo 4 es una mezcla de factores clínicos/tratamiento y la combinación binaria de SNPs. La selección de variables para cada modelo se basó en el máximo valor de Pseudo R². Las variables, OR y Pseudo R² de cada modelo fueron tabuladas en **Tabla 9**. Algunos aspectos relevantes que podemos mencionar es que cuando se integran las variables clínicas/tratamiento junto con los SNPs se logra un mejor ajuste de los modelos de regresión logística, por ejemplo, para el modelo 1 y modelo 2, los Pseudo R² tienen valores de 0,07 y 0,14, respectivamente, mientras que para los modelos de integración de variables estos varían entre 0,23 y 0,29 (**Tabla 9**). Por otro lado, si analizamos el modelo 4 observamos que la variable sexo, la combinación entre los SNPs en *ERCC1* y *GSTP1* y el SNP en *DPYD* (rs1801265) se asociaron significativamente a toxicidad hematológica, lo cual sugiere algún tipo de interacción entre estas variables. Estos resultados en su conjunto respaldan la idea de que los modelos combinados proporcionan un mejor ajuste en relación a modelos con variables individuales.

Tabla 9. Asociaciones con toxicidad hematológica \geq a grado 3 en pacientes con cáncer gástrico tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas mediante análisis multivariado.

Características	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3		Modelo 4	
	OR (95% IC)	p- valor	OR (95% IC)	p- valor	OR (95% IC)	p- valor	OR (95% IC)	p- valor
Edad (sobre mediana)	1,82 (0,53-6,90)	0,34	-	-	2,70 (0,65-13,71)	0,19	3,57 (0,77-22,33)	0,12
Sexo (mujer)	2,07 (0,62-6,98)	0,22	-	-	3,39 (0,80-15,95)	0,10	4,95 (1,06-28,79)	0,05
Enf. hepática crónica (si)	4,48 (0,15 -126,7)	0,31	-	-	3,63 (0,11-129,5)	0,42	11,61 (0,25-1029)	0,20
QMT adyuvante (Si)	0,48 (0,06-2,43)	0,41	-	-	0,53 (0,06-3,33)	0,51	0,52 (0,05-3,46)	0,52
QMT contuvo 5-FU (Si)	1,57 (0,32-11,8)	0,60	-	-	1,58 (0,27-13,41)	0,62	1,44 (0,24-13,03)	0,70
SNPs GSTP1 (dom. AG/GG) (rs1695)	-	-	0,37 (0,10-1,24)	0,11	0,25 (0,05-0,97)	0,05	-	-
DPYD 6 (dom. AG/GG) (rs1801265)	-	-	2,55 (0,76-9,35)	0,13	3,19 (0,87-13,16)	0,08	-	-
ERCC1 (rec. GG) (rs11615)	-	-	3,35 (0,84-12,71)	0,07	3,12 (0,69-13,55)	0,13	-	-
Combinación SNPs ERCC1 rec. + GSTP1 dom.	-	-	-	-	-	-	-	-
AA/AG + AG/GG	-	-	-	-	-	-	0,58 (0,11-3,14)	0,51
GG + AA	-	-	-	-	-	-	17,84 (2,05-220,4)	0,01

GG + AG/GG	-	-	-	-	0,25	0,33
					(0,008-3,05)	
DPYD (dom. AG/GG) (rs1801265)	-	-	-	-	3,50	0,09
					(0,86-17,08)	
Pseudo R ²	Modelo 1 0,07	Modelo 2 0,14	Modelo 3 0,23	Modelo 4 0,29		

Dom, dominante; Rec, recesivo; QMT, quimioterapia; Enf, enfermedad.

Significancia: P < 0,05

4.3.2 Asociaciones entre variables clínicas/tratamiento, polimorfismos y **toxicidad digestiva**.

La relación entre casos y controles para toxicidad digestiva fue de 17 y 76 pacientes, respectivamente. Las asociaciones entre estos factores clínicos/tratamiento y toxicidad digestiva ≥ 3 se presentan en la **Tabla 10**. Como se observa ninguna asociación alcanzó significancia estadística para toxicidad digestiva. Sin embargo, la misma dirección en cuanto a las observaciones previamente encontradas en toxicidad hematológica fueron halladas en este tipo de toxicidad, en relación con las variables de edad y sexo. Además, podemos destacar que como ha sido previamente reportado, que los pacientes con regímenes basados en oxaliplatino, a diferencias de los basados en cisplatino, mostraron una menor probabilidad de desarrollar toxicidad digestiva ($OR = 0,47$, $IC95\% = 0.15-1,47$, $p = 0,19$).

Tabla 10. Análisis de regresión logística univariada para la asociación entre factores clínico-patológicos/tratamiento y toxicidad digestiva \geq a grado 3.

Características	Control (N = 76) N (%)	Caso (N = 17) N (%)	OR 95% IC	p-valor
Edad (mediana, años)				
< 59	37 (48,7%)	7 (41,2%)	Ref.	0,57
\geq 59	39 (51,3%)	10 (58,8%)	1,35 (0,47-4,08)	
Sexo				
Hombre	50 (65,8%)	10 (58,8%)	Ref.	0,59
Mujer	26 (34,2%)	7 (41,2%)	1,34 (0,44-3,92)	
Etapa agrupada				
I-II	22 (28,9%)	5 (29,4%)	Ref.	0,96
III-IV	54 (71,1%)	12 (70,6%)	0,97 (0,32-3,36)	
ECOG				
0	32 (42,1%)	10 (58,8%)	Ref.	0,25
1	33 (43,4%)	4 (23,5%)	0,38 (0,09-1,28)	
2	2 (2,6%)	1 (5,9%)	1,60 (0,07-18,49)	
ND	9 (11,8%)	2 (11,8%)		
Histología según Lauren				
Difuso	25 (32,9%)	5 (29,4%)	Ref.	0,97
Intestinal	22 (28,9%)	4 (23,5%)	0,90 (0,20-3,85)	
Mixto	9 (11,8%)	2 (11,8%)	1,11 (0,14-6,25)	
ND	20 (26,3%)	6 (35,3%)		
Anillo de sello				
No	44 (57,9%)	10 (58,8%)	Ref.	0,94
Si	32 (42,1%)	7 (41,2%)	0,96 (0,31-2,77)	
Comorbilidades				
Enfermedad cardíaca crónica	7 (9,2%)	0 (0%)	NA	NA
Enfermedad hepática crónica	2 (2,6%)	0 (0%)	NA	NA
Evento tromboembólico previo	1 (1,3%)	1 (5,9%)	4,68 (0,17-122,8)	0,3
Diabetes	9 (11,8%)	2 (11,8%)	0,99 (0,14-4,36)	0,99
Factores de tratamiento				
Régimen de Quimioterapia				
Adyuvante	23 (30,3%)	3 (17,6%)	Ref.	0,67
Peri-operatorio	24 (31,6%)	8 (47,1%)	2,55 (0,64-12,7)	
Paliativa	25 (32,9%)	5 (29,4%)	1,53 (0,33-8,15)	
QMT + RDT adyuvante	3 (3,9%)	1 (5,9%)	2,55 (0,11-29,7)	

QMT + RDT peri-operatoria	1 (1,3%)	0 (0%)	NA	NA
Esquema de Quimioterapia				
FOLFOX	39 (51,3%)	7 (41,2%)	Ref.	0,19
CAPEOX	14 (18,4%)	3 (17,6%)	1,19 (0,23-4,97)	
CF	9 (11,8%)	4 (23,5%)	2,47 (0,55-10-2)	
DCFm	5 (6,6%)	0 (0%)	NA	NA
ECF	0 (0%)	2 (11,8%)	NA	NA
EOX	2 (2,6%)	0 (0%)	NA	NA
Capecitabina	2 (2,6%)	0 (0%)	NA	NA
FLOT	1 (1,3%)	0 (0%)	NA	NA
RDT + 5-FU/Leu	2 (2,6%)	1 (5,9%)	2,78 (0,12-33,2)	
RDT + CAPEOX	1 (1,3%)	0 (0%)	NA	NA
RDT + Cis/Cape	1 (1,3%)	0 (0%)	NA	NA
Tratamiento QMT previo				
No	68 (89,5%)	15 (88,2%)	Ref.	0,88
Si	8 (10,5%)	2 (11,8%)	1,13 (0,16-5,10)	
Esquema contuvo				
RDT	4 (5,3%)	1 (5,9%)	1,12 (0,05-8,26)	0,91
5-FU	56 (73,7%)	14 (82,4%)	1,66 (0,48-7,76)	0,44
Capecitabina	18 (23,7%)	3 (17,6%)	0,69 (0,14-2,41)	0,58
Oxaliplatino	57 (75,0%)	10 (58,8%)	0,47 (0,15-1,47)	0,19
Cisplatino	15 (19,7%)	6 (35,3%)	2,21 (0,67-6,86)	0,18
Docetaxel	6 (7,9%)	0 (0%)	NA	NA

Ref. Referencia; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; ND, No Disponible; NA, No Aplicable QMT, quimioterapia; RDT, radioterapia; FOLFOX, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+leucovorina; CAPEOX, capecitabina+oxaliplatino; CF, cisplatino+5 fluorouracilo; DCFm, docetaxel+cisplati-no+5-fluorouracilo; ECF, etóposido+ cisplatin+5-fluorouracilo; FLOT, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+ docetaxel+ leucovorina; 5-FU, 5-fluorouracilo; Leu, leucovorina; Cis, cisplatino; Cape, Capecitabina; Significancia: $P < 0,05$

Por otro lado, en la **Tabla 11** se muestran las asociaciones entre toxicidad digestiva y polimorfismos mas relevantes, con su respectivo modelo de herencia. Una asociación significativa se encontró para el SNP (rs1801159) en el gen *DPYD*, la presencia de los genotipos CT/CC en relación al TT (modelo dominante) se asocia a una protección de desarrollar una reacción adversa con un *OR* de 0,25 (IC95%: 0,08-

0,78, $p= 0,012$. Además, se incluyeron los análisis para los SNPs en los genes UMPS (rs1801019) y *DPYD* (rs1801265), que aunque se observa una mayor probabilidad de toxicidad digestiva para la presencia de estos SNPs, estos no fueron estadísticamente significativo.

Tabla 11. Asociación entre SNPs y toxicidad digestiva \geq a grado 3 en pacientes tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas.

Gen SNP ID	Modelo Herencia	Genotipo	Control N = 76 (%)	Caso N = 17 (%)	OR (IC 95%)	p-valor
<i>UMPS</i>						
rs1801019 G>C	Recesivo	G/G-G/C	74 (97,4%)	15 (88,2%)	Ref.	0,14
		C/C	2 (2,6%)	2 (11,8%)	4,93 (0,64-37,83)	
<i>DPYD</i>						
rs1801159 T>C	Dominante	T/T	28 (37,3%)	12 (70,6%)	Ref.	0,012
		C/T-C/C	47 (62,7%)	5 (29,4%)	0,25 (0,08-0,78)	
<i>DPYD</i>						
rs1801265 A>G	Dominante	A/A	43 (57,3%)	7 (43,8%)	Ref.	0,32
		A/G-G/G	32 (42,7%)	9 (56,2%)	1,73 (0,58-5,13)	

Ref. Referencia. En verde asociaciones con menor probabilidad de toxicidad severa.

Significancia: $P < 0,05$

Por otro lado, las combinaciones entre SNPs se muestran en la **Tabla 12**, en donde se puede observar que los pacientes con la combinación AA/AG + CT/CC para los SNPs *ERCC1* (rs11615) y *DPYD* (rs1801159), respectivamente, tienen una menor probabilidad de desarrollar toxicidad digestiva (OR = 0,19, IC95% = 0,04-0,62, p= 0,009) al ser comparados con los pacientes con genotipos AA/AG + TT.

Tabla 12. Asociación entre SNPs combinados y toxicidad digestiva \geq a grado 3 en pacientes tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas.

SNPs combinados	Control n = 75 (%)	Caso n = 17 (%)	OR (IC 95%)	p-valor
<i>ERCC1</i> rec. (rs11615) +				
<i>DPYD</i> dom (rs1801159)				
AA/AG + TT	22 (29,3%)	12 (70,6%)	Ref.	-
AA/AG + CT/CC	38 (50,7%)	4 (23,5%)	0,19 (0,04-0,62)	0,009
GG + TT	6 (8,0%)	0 (0%)	NA	-
GG + CT/CC	9 (12,0%)	1 (5,9%)	0,23 (0,01-1,28)	0,15

En negrita los genotipos del segundo SNP. En verde asociaciones con menor probabilidad de toxicidad severa. Ref. Referencia; Dom, dominante; Rec, recesivo. NA, No Aplicable. Significancia: $P < 0,05$

Finalmente, se presenta el modelo de regresión logística con los factores mas relevantes asociados a toxicidad digestiva (**Tabla 13**). También una comparación (basada en Pseudo R²) entre modelos que incluyen solo clínicas/tratamiento, SNPs y una combinación de SNPs fue realizada. De la misma forma en que se constituyeron los modelos para toxicidad hematológica se realizó para toxicidad digestiva, en donde, modelo 1 contempla sólo variables clínicas y de tratamiento, modelo 2 contempla sólo SNPs, el modelo 3 contempla la combinación de factores clínicos/tratamiento más SNPs, finalmente el modelo 4 es una mezcla de factores clínicos/tratamiento y la combinación binaria de SNPs. Analizando el valor del Pseudo R² para cada modelo, podemos observar que las variables clínicas tienen una baja influencia para esta toxicidad (Pseudo R² = 0,04), por su parte, los 3 SNPs seleccionados mejoraron el ajuste teniendo un valor de Pseudo R² de 0,15 (modelo 2). Al combinar las variables clínicas/tratamiento hay un incremento modesto en el valor de Pseudo R² de 0,20 y 0,18, para los modelos 3 y 4, respectivamente.

Tabla 13. Asociaciones con toxicidad digestiva \geq a grado 3 en pacientes con cáncer gástrico tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas mediante análisis multivariado.

Características	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3		Modelo 4	
	OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)	p-valor
Edad (sobre mediana)	1,54 (0,52-4,82)	0,43	-	-	2,09 (0,61-8,11)	0,25	1,53 (0,47-5,29)	0,48
Sexo (mujer)	1,84 (0,56-6,04)	0,30	-	-	1,68 (0,43-6,48)	0,44	2,30 (0,64-8,66)	0,20
QMT contuvo Cisplatino (Si)	2,73 (0,78-9,43)	0,10	-	-	3,63 (0,79-17,11)	0,09	4,30 (1,06-18,7)	0,04
SNPs UMPS (rec. CC) (rs1801019)	-	-	4,30 (0,43-45,31)	0,19	5,24 (0,43-71,88)	0,18	-	-
DPYD (dom. TT) (rs1801159)	-	-	4,40 (1,34-17,27)	0,02	5,23 (1,50-22,57)	0,01	-	-
DPYD (dom. AG/GG) (rs1801265)	-	-	1,62 (0,50-5,47)	0,41	1,91 (0,56-6,98)	0,30	-	-
Combinación SNPs ERCC1 rec. + DPYD dom. (rs11615 + rs1801159)	-	-	-	-	-	-	-	-
AA/AG + CT/TT	-	-	-	-	-	-	0,15 (0,03-0,54)	0,006
GG + TT	-	-	-	-	-	-	NA	NA
GG + CT/TT	-	-	-	-	-	-	0,13 (0,05-1,01)	0,09
Pseudo R ²	Modelo 1 0,04		Modelo 2 0,15		Modelo 3 0,20		Modelo 4 0,18	

En los SNPs DPYD (rs1801159, dom) se usó como referencia los genotipos CC/CT, que previamente se asociaron a menor probabilidad de toxicidad. Dom, dominante; Rec, recesivo; QMT, quimioterapia; Significancia: $P < 0,05$

4.3.3 Asociaciones entre variables clínicas/tratamiento, polimorfismos y **toxicidad neurológica.**

El número de pacientes para los grupos casos y controles para toxicidad neurológica fue de 4 y 89, respectivamente. Las asociaciones entre estos factores clínicos/tratamiento y toxicidad neurológica ≥ 3 se presentan en la **Tabla 14**. Solo podemos destacar que los pacientes con un ECOG mayor a 2 mostraron una mayor probabilidad de desarrollar toxicidad neurológica (OR = 20,49, IC95% = 0,65-688,3, p = 0,20). Interesantemente, todos los pacientes (n=4) que desarrollaron toxicidad neurológica tuvieron tumores gástricos con presencia de células en anillo de sello. Lamentablemente dado el bajo número de casos las asociaciones para este tipo de toxicidad son muy imprecisas (reflejado en los intervalos de confianza) por lo que deben ser analizadas con mucha cautela.

Tabla 14. Análisis de regresión logística univariada para la asociación entre factores clínico-patológicos/tratamiento y toxicidad neurológica \geq a grado 3.

Características	Control (N = 89) N (%)	Caso (N = 4) N (%)	OR 95% IC	p-valor
Edad (mediana, años)				
< 59	42 (47,2%)	2 (50,0%)	Ref.	0,91
≥ 59	47 (52,8%)	2 (50,0%)	0,89 (0,10-7,71)	
Sexo				
Hombre	58 (65,2%)	2 (50,0%)	Ref.	0,54
Mujer	31 (34,8%)	2 (50,0%)	1,87 (0,21-16,21)	
Etapas agrupadas				
I-II	26 (29,2%)	1 (25,0%)	Ref.	0,85
III-IV	63 (70,8%)	3 (75,0%)	1,23 (0,15-25,65)	

ECOG				
0	41 (46,1%)	1 (25,0%)	Ref.	0,20
1	35 (39,3%)	2 (50,0%)	2,34 (0,21-51,67)	
2	2 (2,2%)	1 (25,0%)	20,49 (0,65-688,3)	
ND	11 (12,4%)	0 (0%)		
Histología según Lauren				
Difuso	28 (31,5%)	2 (50,0%)	Ref.	0,8
Intestinal	25 (28,1%)	1 (25,0%)	0,56 (0,02-6,19)	
Mixto	10 (11,2%)	1 (25,0%)	1,40 (0,06-16,2)	
ND	26 (29,2%)	0 (0%)		
Anillo de sello				
No	54 (60,7%)	0 (0%)	Ref.	NA
Si	35 (39,3%)	4 (100%)	NA	
Comorbilidades				
Enfermedad cardíaca crónica	6 (6,7%)	1 (25,0%)	4,61 (0,21-43,09)	0,26
Enfermedad hepática crónica	2 (2,2%)	0 (0%)	NA	NA
Evento tromboembólico previo	2 (2,2%)	0 (0%)	NA	NA
Diabetes	11 (12,4%)	0 (0%)	NA	NA
Factores de tratamiento				
Régimen de Quimioterapia				
Adyuvante	24 (27,0%)	2 (50,0%)	Ref.	0,41
Peri-operatorio	30 (33,7%)	2 (50,0%)	0,83 (0,09-7,06)	
Paliativa	30 (33,7%)	0 (0%)	NA	NA
QMT + RDT adyuvante	4 (4,5%)	0 (0%)	NA	NA
QMT + RDT peri-operatoria	1 (1,1%)	0 (0%)	NA	NA
Esquema de Quimioterapia				
FOLFOX	43 (48,3%)	3 (75,0%)	Ref.	0,62
CAPEOX	17 (19,1%)	0 (0%)	NA	NA
CF	13 (14,6%)	0 (0%)	NA	NA
DCFm	5 (5,6%)	0 (0%)	NA	NA
ECF	1 (1,1%)	1 (25,0%)	14,3 (0,48-434,3)	
EOX	2 (2,2%)	0 (0%)	NA	NA
Capecitabina	2 (2,2%)	0 (0%)	NA	NA
FLOT	1 (1,1%)	0 (0%)	NA	NA
RDT + 5-FU/Leu	3 (3,4%)	0 (0%)	NA	NA
RDT + CAPEOX	1 (1,1%)	0 (0%)	NA	NA
RDT + Cis/Cape	1 (1,1%)	0 (0%)	NA	NA
Tratamiento QMT previo				
No	79 (88,8%)	4 (100%)	Ref.	
Si	10 (11,2%)	0 (0%)	NA	NA

Esquema contuvo				
RDT	5 (5,6%)	0 (0%)	NA	NA
5-FU	66 (74,2%)	4 (100%)	NA	NA
Capecitabina	21 (23,6%)	0 (0%)	NA	NA
Oxaliplatino	64 (71,9%)	3 (75,0%)	1,17 (0,14-24,29)	0,89
Cisplatino	20 (22,5%)	1 (25,0%)	1,15 (0,05-9,55)	0,91
Docetaxel	6 (6,7%)	0 (0%)	NA	NA

Ref. Referencia; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; ND, No Disponible; NA, No Aplicable QMT, quimioterapia; RDT, radioterapia; FOLFOX, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+leucovorina; CAPEOX, capecitabina+oxaliplatino; CF, cisplatino+5 fluorouracilo; DCFm, docetaxel+cisplati-no+5-fluorouracilo; ECF, etóposido+ cisplatin+5-fluorouracilo; FLOT, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+ docetaxel+ leucovorina; 5-FU, 5-fluorouracilo; Leu, leucovorina; Cis, cisplatino; Cape, Capecitabina; Significancia: P < 0,05

En relación a la asociación entre SNPs y toxicidad neurológica, no se logró establecer ninguna asociación significativa, sin embargo, se obtuvo para el SNP (rs1042522) en el gen TP53, en donde en un modelo recesivo (CC/CG vs GG) se estableció un OR de 5,47 (IC95% = 0,48-62,51, p= 0,23) (**Tabla 15**). No fue posible realizar combinación de SNPs para asociar con este tipo de toxicidad, esto debido a bajo número de casos.

Tabla 15. Asociación entre SNPs y toxicidad neurológica \geq a grado 3 en pacientes tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas.

Gen SNP ID	Modelo Herencia	Genotipo	Control N = 89 (%)	Caso N = 4 (%)	OR (IC 95%)	p-valor
TP53						
rs1042522						
C>G	Recesivo	C/C-C/G	82 (94,2%)	3 (75%)	Ref.	
		G/G	5 (5,8%)	1 (25%)	5,47 (0,48-62,51)	0,23

*Ref. Referencia
Significancia: P < 0,05*

Finalmente, se presenta el modelo de regresión logística con los factores más relevantes asociados a toxicidad neurológica (**Tabla 16**). También una comparación (basada en R^2) entre modelos que incluyen solo clínicas/tratamiento, SNPs y una combinación fue realizada. En este análisis se desarrollaron 3 modelos, en donde el modelo 1, que incluye sólo factores clínicos/tratamiento, tuvo un mejor ajuste basándonos en el valor de Pseudo R^2 (0,15 vs 0,5) que el modelo 2, el cual incluye sólo 1 SNPs en *TP53*. Interesantemente, el modelo 3, que incluye ambos tipos de variables mostro el valor de Pseudo R^2 de 0,19, el más alto de los modelos.

Tabla 16. Asociaciones con toxicidad neurológica \geq a grado 3 en pacientes con cáncer gástrico tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas mediante análisis multivariado.

Características	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3	
	OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)	p-valor
Edad (sobre mediana)	0,46 (0,02-5,43)	0,55	-	-	0,62 (0,02-8,87)	0,72
Sexo (mujer)	2,24 (0,23-22,60)	0,45	-	-	2,12 (0,20-22,66)	0,50
ECOG (0 vs 1,2)	-	-	-	-	-	-
1	2,69 (0,23-61,28)	0,43			1,87 (0,14-44,70)	0,63
2	35,76 (0,81-2337)	0,06			31,37 (0,74-1910)	0,06
SNPs						
TP53 (rec. GG) (rs1042522)	-	-	5,46 (0,24-53,0)	0,17	5,28 (0,19-80,47)	0,24
Pseudo R^2	Modelo 1 0,15		Modelo 2 0,05		Modelo 3 0,19	

Rec, recesivo; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group
Significancia: $P < 0,05$

4.3.4 Asociaciones entre variables clínicas/tratamiento, polimorfismos y **toxicidad general**.

La frecuencia de pacientes que presentaron toxicidad general (hematología, gastrointestinal o neurológica) \geq a grado 3 fueron 32 pacientes (34,4%). Asociaciones entre los factores no genéticos y toxicidad general \geq 3 se presentan en la Tabla 17. No se encontraron asociaciones significativas entre las principales variables clínico-patológicas con el desarrollo de alguna reacción adversa grave a tratamientos basado en fluoropiridinas/platinos. Sin embargo, en acuerdo con trabajos previos, pacientes de mayor edad tienen un OR de 1,83 (IC95%: 0,77-4,49), pacientes de sexo femenino presentaron un OR de 1,40 (IC95%: 0,57-3,40) y con un ECOG = 2 un OR de 4,00 (IC95%: 0,35-90,53), es decir, una mayor probabilidad de desarrollar toxicidad general (**Tabla 17**). Por otro lado, analizamos los factores asociados al tratamiento. Se puede destacar que los pacientes que recibieron un régimen de CMT peri-operatorio presentaron una alta toxicidad en una mayor proporción que los que recibieron CMT adyuvante (OR: 2,71, IC95%: 0,91-8,62, $p = 0,07$ (ady vs peri)). Por otro lado, el esquema de quimioterapia se asocio *borderline* con alta toxicidad ($p = 0,07$), sin embargo, debido a la heterogeneidad de esquemas es difuso establecer con claridad la asociación, en ese sentido, los esquemas fueron clasificados de acuerdo al fármaco que contenían. De esta manera podemos destacar que pacientes que recibieron esquemas que contienen 5-FU mostraron una mayor toxicidad con un OR de 2,26 (IC95%: 0,79-7,48, $p = 0,12$) y por el contrario los esquemas que contienen

capecitabina mostraron una menor toxicidad con un OR de 0,52 (IC95%: 0,15-1,50, p = 0,23). Sin embargo, estas asociaciones no alcanzaron significancia estadística (**Tabla 17**).

Tabla 17. Análisis de regresión logística univariada para la asociación entre factores clínico-patológicos/tratamiento y toxicidad general \geq a grado 3.

Características	Control (N = 61) N (%)	Caso (N = 32) N (%)	OR 95% IC	p-valor
Edad (mediana, años)				
< 59	32 (52,5%)	12 (37,5%)	Ref.	0,16
\geq 59	29 (47,5%)	20 (62,5%)	1,83 (0,77-4,49)	
Sexo				
Hombre	41 (67,2%)	19 (59,4%)	Ref.	0,45
Mujer	20 (32,8%)	13 (40,6%)	1,40 (0,57 - 3,40)	
Etapa agrupada				
I-II	20 (32,8%)	7 (21,9%)	Ref.	0,26
III-IV	41 (67,2%)	25 (78,1%)	1,74 (0,67-4,97)	
ECOG				
0	28 (45,9%)	14 (43,8%)	Ref.	0,44
1	26 (42,6%)	11 (34,4%)	0,84 (0,32-2,19)	
2	1 (1,6%)	2 (6,3%)	4,0 (0,35-90,53)	
ND	6 (9,8%)	5 (15,6%)		
Histología según Lauren				
Difuso	20 (32,8%)	10 (31,3%)	Ref.	0,98
Intestinal	17 (27,9%)	9 (28,1%)	1,05 (0,34-3,22)	
Mixto	7 (11,5%)	4 (12,5%)	1,14 (0,25-4,77)	
ND	17 (27,9%)	9 (28,1%)		
Anillo de sello				
No	35 (57,4%)	19 (59,4%)	Ref.	0,85
Si	26 (42,6%)	13 (40,6%)	0,92 (0,38-2,18)	
Comorbilidades				
Enfermedad cardíaca crónica	5 (8,2%)	2 (6,3%)	0,74 (0,10-3,69)	0,73
Enfermedad hepática crónica	1 (1,1%)	1 (3,3%)	1,93 (0,07-50,06)	0,64

Evento tromboembólico previo	1 (1,1%)	1 (3,3%)	1,93 (0,07-50,06)	0,64
Diabetes	9 (14,8%)	2 (6,3%)	1,10 (0,26-3,97)	0,88
Factores de tratamiento				
Régimen de Quimioterapia				
Adyuvante	19 (31,1%)	7 (21,9%)	Ref.	0,21
Peri-operatorio	16 (26,2%)	16 (50%)	2,71 (0,91-8,62)	
Paliativa	22 (36,1%)	8 (25%)	0,98 (0,29-3,30)	
QMT + RDT adyuvante	3 (4,9%)	1 (3,1%)	0,90 (0,04- 8,52)	
QMT + RDT peri-operatoria	1 (1,6%)	0 (0%)	NA	
Esquema de Quimioterapia				
FOLFOX	29 (47,5%)	17 (53,1%)	Ref.	0,07
CAPEOX	12 (19,7%)	5 (15,6%)	0,71 (0,19-1,05)	
CF	7 (11,5%)	6 (18,8%)	1,46 (0,40-5,12)	
DCFm	5 (8,2%)	0 (0%)	NA	
ECF	0 (0%)	2 (6,3%)	NA	
EOX	2 (3,3%)	0 (0%)	NA	
Capecitabina	2 (3,3%)	0 (0%)	NA	
FLOT	0 (0%)	1 (3,1%)	NA	
RDT + 5-FU/Leu	2 (3,3%)	1 (3,1%)	0,85 (0,03-9,55)	
RDT + CAPEOX	1 (1,6%)	0 (0%)	NA	
RDT + Cis/Cape	1 (1,6%)	0 (0%)	NA	
Tratamiento QMT previo				
No	53 (86,9%)	30 (93,7%)	Ref.	
Si	8 (13,1%)	2 (6,3%)	0,44 (0,06-1,90)	0,29
Esquema contuvo				
RDT	4 (6,6%)	1 (3,1%)	0,45 (0,02-3,27)	0,46
5-FU	43 (70,5%)	27 (84,4%)	2,26 (0,79-7,48)	0,12
Capecitabina	16 (26,2%)	5 (15,6%)	0,52 (0,15-1,50)	0,23
Oxaliplatino	44 (72,1%)	23 (71,9%)	0,81 (0,30- 2,21)	0,67
Cisplatino	13 (21,3%)	8 (25,0%)	1,23 (0,43- 3,33)	0,68
Docetaxel	5 (8,2%)	1 (3,1%)	0,36 (0,01-2,37)	0,31

Ref. Referencia; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; ND, No Disponible; NA, No Aplicable QMT, quimioterapia; RDT, radioterapia; FOLFOX, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+leucovorina; CAPEOX, capecitabina+oxaliplatino; CF, cisplatino+5 fluorouracilo; DCFm, docetaxel+cisplati-no+5-fluorouracilo; ECF, etóposido+ cisplatin+5-fluorouracilo; FLOT, 5-fluorouracilo+oxaliplatino+ docetaxel+ leucovorina; 5-FU, 5-fluorouracilo; Leu, leucovorina; Cis, cisplatino; Cape, Capecitabina; Significancia: $P < 0,05$

Por otro lado, en la **Tabla 18** se muestran las asociaciones entre toxicidad general severa y polimorfismos mas relevantes, con su respectivo modelo de herencia. Usando un modelo dominante los genotipos AG/GG de SNPs en el gen *DPYD* (rs181265) se asociaron a una alta toxicidad con un OR de 4,20 (IC95% = 1,70-10,95, p = 0,002). Por otro lado, una asociación *borderline* a una menor toxicidad se encontró en el *DPYD* (rs1801159) con un OR de 0,45 (IC95%: 0,19-1,08; p = 0,071). También, incluimos los análisis en SNPs en los genes *DPYD* (rs2297595), *ERCC2* (rs13181) y *GSTP1* (rs1695), sin embargo, ninguna asociación significativa fue encontrada en este análisis univariado.

Tabla 18. Asociación entre SNPs y toxicidad general \geq a grado 3 en pacientes tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas.

Gen SNP ID	Modelo Herencia	Genotipo	Control N = 61 (%)	Caso N = 32 (%)	OR (IC 95%)	valor p
<i>ERCC2</i>						
rs13181 T>G	Dominante	T/T	39 (63,9%)	16 (50%)	Ref.	0,2
		T/G-G/G	22 (36,1%)	16 (50%)	1,77 (0,74-4,22)	
<i>DPYD</i>						
rs2297595 T>C	-	T/T	57 (95%)	28 (87,5%)	Ref.	0,21
		C/T	3 (5%)	4 (12,5%)	2,71 (0,57-12,97)	
<i>DPYD</i>						
rs1801159 T>C	Dominante	T/T	22 (36,7%)	18 (56,2%)	Ref.	0,071
		C/T-C/C	38 (63,3%)	14 (43,8%)	0,45 (0,19-1,08)	

<i>DPYD</i>						
rs1801265						
A>G						
Dominante	A/A	40 (66,7%)	10 (32,3%)	Ref.	0,002	
	A/G-G/G	20 (33,3%)	21 (67,7%)	4,20 (1,70-10,95)		
<i>GSTP1</i>						
rs1695 A>G						
Dominante	A/A	22 (36,1%)	14 (43,8%)	Ref.	0,47	
	A/G-G/G	39 (63,9%)	18 (56,3%)	0,72 (0,30-1,74)		

En rojo asociaciones con mayor probabilidad y en verde menor probabilidad de toxicidad severa

Ref. Referencia.

Significancia: $P < 0,05$

Como se explicó previamente en métodos, para tratar de establecer potenciales asociaciones entre SNPs combinados y toxicidad general, se utilizó regresión logística multivariado con los 12 SNPs y para reducir el número de combinaciones y evitar el *overfitting* aplicamos “*Stepwise algorithm*” basado en *AIC (Akaike information criterion)*. Basado en lo anterior se seleccionaron 5 SNPs, con estos y sus respectivos modelos de herencia se realizaron las combinaciones binarias entre SNPs. En la **Tabla 19** se muestran las combinaciones que mostraron asociaciones significativas. Para el caso de la combinación entre los SNPs *DPYD* (rs1801265, dom) y *UMPS* (rs1801019, rec), los pacientes que portan los genotipos AG/GG + GG/GC tienen una mayor probabilidad de desarrollar toxicidad con un OR de 4,22 (IC95% = 1,66-11,40, $p = 0,0031$), en relación a los que portan el genotipo AA + GG/GC. También, para la combinación *DPYD* (rs1801265, dom) y *SHMT1* (rs1979277, dom) hubo una asociación *borderline* con toxicidad general grave, en donde los pacientes con los genotipos AG/GG + GG tienen una mayor toxicidad en relación a los genotipos AA + GG, con un OR de 3,25 (IC95%: 0,99-11,39, $p = 0,055$). Finalmente, la combinación de los SNPs

DPYD (rs1801265, dom) y *ABCC2* (rs717620, dom) mostró una fuerte asociación con toxicidad grave, los pacientes que portan los genotipos AG/GG + CT/TT tienen una mayor probabilidad de desarrollar toxicidad con un OR de 11,25 (IC95%: 1,25-245,45, p = 0,047), en relación a los que portan el genotipo AA + CC.

Tabla 19. Asociación entre SNPs combinados y toxicidad general \geq a grado 3 en pacientes tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas.

Combinación de SNPs	Control N = 61 (%)	Caso N = 32 (%)	OR (IC 95%)	p-valor
<i>DPYD</i> dom (rs1801265) + <i>UMPS</i> rec (rs1801019)				
AA + GG/GC	38 (63,3%)	9 (29,0%)	Ref.	-
AA + CC	2 (3,3%)	1 (3,2%)	2,11 (0,09-24,53)	0,55
AG/GG + GG/GC	20 (33,3%)	20 (64,5%)	4,22 (1,66-11,40)	0,0031
AG/GG + CC	0 (0%)	1 (3,2%)	NA	NA
<i>DPYD</i> dom (rs1801265) + <i>SHMT1</i> dom (rs1979277)				
AA + GG	19 (32,2%)	7 (22,6%)	Ref.	-
AA + GA/AA	20 (33,9%)	3 (9,7%)	0,40 (0,07-1,69)	0,23
AG/GG + GG	10 (16,9%)	12 (38,7%)	3,25 (0,99-11,39)	0,055
AG/GG + GA/AA	10 (16,9%)	9 (29,0%)	2,44 (0,70-8,84)	0,16
<i>DPYD</i> dom (rs1801265) + <i>ABCC2</i> dom (rs717620)				
AA + CC	30 (50,0%)	8 (25,8%)	Ref.	-
AA + CT/TT	10 (16,7%)	2 (6,5%)	0,75 (0,10-3,64)	0,74
AG/GG + CC	19 (31,7%)	18 (58,1%)	3,55 (1,32-10,20)	0,014
AG/GG + CT/TT	1 (1,7%)	3 (9,7%)	11,25 (1,25-245,45)	0,047

En negrita los genotipos del segundo SNP. En rojo asociaciones con mayor probabilidad de toxicidad severa. Ref. Referencia; Dom, dominante; Significancia: $P < 0,05$

Finalmente, siguiendo la línea de los análisis anteriores, nosotros desarrollamos 4 modelos, cada uno de los cuales fue construido con distintas variables usando regresión logística multivariada: el modelo 1 contempla sólo variables clínicas y de

tratamiento, modelo 2 contempla solo SNPs, el modelo 3 contempla la combinación de factores clínicos/tratamiento mas SNPs, finalmente el modelo 4 es una mezcla de factores clínicos/tratamiento y la combinación binaria de SNPs. La selección de variables para cada modelo se basó en el máximo valor de Pseudo R². Las variables, OR y Pseudo R² de cada modelo fueron tabuladas en **Tabla 20**. Algunos aspectos relevantes de estos análisis fueron que la integración de las variables clínicas y los genotipos mejoran el desempeño de los modelos, por ejemplo, para el modelo 1 (variables clínicas/tratamiento) y modelo 2 (SNPs), los valores de Pseudo R² fueron 0,07 y 0,15, respectivamente, sin embargo, para modelos combinados, es decir, modelo 3 y modelo 4, los valores fueron 0,21 y 0,21, respectivamente. Además, si analizamos el SNPs en *DPYD* (rs1801159) en el modelo 2 (sólo SNPs), el OR de este se incremento de 3,74 a 4,55 (p=0,004) al combinarse con las variables clínicas (modelo 3). Interesantemente, se ha reportado que el sexo podría ser un factor determinante de los efectos de polimorfismos en *DPYD*. Un análisis de subgrupos por sexo del SNPs *DPYD* (rs1801265) se muestra en la **Tabla suplementaria 2 (Anexo 1)**. En línea con lo reportado, la asociación con toxicidad severa de los genotipos AG/GG en relación con el AA, tuvo un OR de 7,78 (IC95%: 2,31-31,79, p = 0,001) y de 1,85 (IC95%:0,43- 8,26, p = 0,40) para los pacientes masculinos y femeninos, respectivamente.

Por otro lado, en el modelo 4 (clínico/tratamiento + SNPs binarios) se encontró una fuerte asociación para el par *DPYD* + *ABCC2*, donde el genotipo combinado AG/GG + CT/TT con un OR de 18,00 (IC95% = 1,66-439, p= 0,027).

Tabla 20. Asociaciones con toxicidad general \geq a grado 3 en pacientes con cáncer gástrico tratados con quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas mediante análisis multivariado.

Características	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3		Modelo 4	
	OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)	p-valor	OR (95% IC)	p-valor
Edad (sobre mediana)	1,71 (0,67- 4,48)	0,25	-	-	2,33 (0,81-7,15)	0,12	2,24 (0,77-6,96)	0,14
Sexo (mujer)	1,83 (0,68-5,05)	0,23	-	-	2,12 (0,68-7,01)	0,19	2,18 (0,70-7,29)	0,18
QMT peri-op (Si)	2,66 (1,00- 7,35)	0,05	-	-	2,26 (0,73-7,28)	0,15	3,01 (0,94-10,31)	0,06
QMT contuvo 5-FU (Si)	1,73 (0,55- 6,10)	0,35	-	-	2,03 (0,58-8,06)	0,28	1,65 (0,46-6,50)	0,44
SNPs								
<i>ERCC2</i> (dom. TG/GG) (rs13181)	-	-	1,56 (0,57-4,31)	0,37	1,24 (0,41-3,63)	0,68	-	-
<i>DPYD</i> (CT) (rs2297595)	-	-	1,56 (0,26-9,95)	0,61	1,88 (0,25-14,7)	0,52	-	-
<i>DPYD</i> (dom. TT) (rs1801159)	-	-	2,32 (0,89-6,24)	0,08	2,53 (0,91-7,44)	0,07	-	-
<i>DPYD</i> (dom. AG/GG) (rs1801265)	-	-	3,74 (1,46-10,08)	0,006	4,55 (1,64- 13,79)	0,004	-	-
<i>GSTP1</i> (dom. AG/GG) (rs1695)	-	-	0,71 (0,26-1,90)	0,5	0,59 (0,19- 1,74)	0,34	-	-
Combinación SNPs <i>DPYD</i> dom + <i>ABCC2</i> dom (rs1801265 + rs717620)	-	-	-	-			-	-

AA + CT/TT	-	-	-	-	1,45	0,68
					(0,18-8,68)	
AG/GG + CC	-	-	-	-	4,33	0,012
					(1,43-14,68)	
AG/GG + CT/TT	-	-	-	-	18,00	0,027
					(1,66-439)	
DPYD (dom. TT) (rs1801159)	-	-	-	-	2,37	0,094
					(0,87-6,75)	
Pseudo R ²	Modelo 1 0,07	Modelo 2 0,15	Modelo 3 0,21	Modelo 4 0,21		

En el SNPs DPYD (rs1801159, dom) se usó como referencia los genotipos CC/CT, que previamente se asociaron a menor probabilidad de toxicidad. Dom, dominante; QMT, quimioterapia; 5-FU, 5-fluorouracilo; peri-op, peri-operatoria.

Significancia: P < 0,05

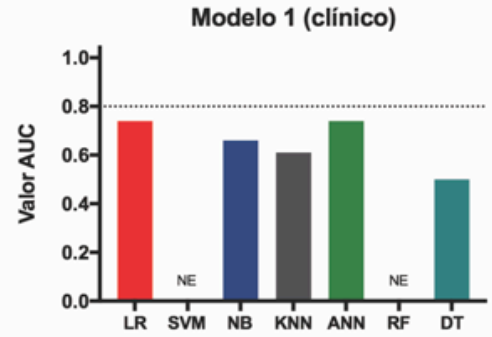
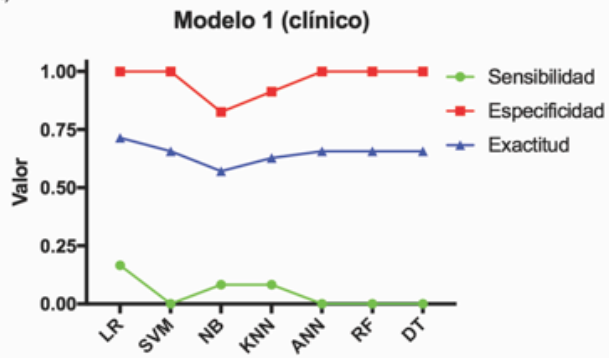
4.4 Establecer un modelo predictivo preliminar basado en SNPs y variables clínico-patológicas para evaluar el riesgo de desarrollar reacciones adversas a medicamentos por tratamiento quimioterapéutico basado en fluoropiridinas/platinos.

4.4.1 Evaluación de modelos usando diferentes métodos de clasificación.

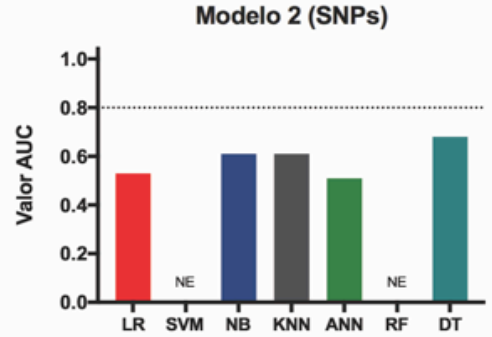
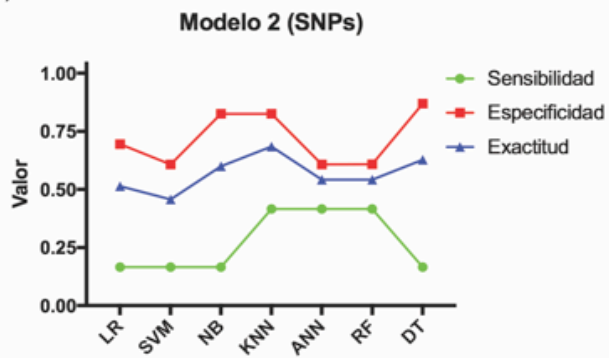
Con el objetivo de establecer un modelo preliminar para evaluar toxicidad severa a quimioterapia en pacientes con cáncer gástrico, se utilizaron diferentes algoritmos de clasificación usando las variables incluidas en los 4 modelos previamente propuestos para toxicidad general severa (**Tabla 20**). La elección de toxicidad general, en lugar de los tipos específicos de toxicidad (hematológica, gastrointestinal y neurológica), se debe a que la relación casos/controles en este grupo nos permite establecer asociaciones con mayor potencia estadística. Se calculó la sensibilidad, especificidad, exactitud y el AUC de cada uno de los 4 modelos (**Figura 6**). Como se muestra en la **Figura 6A**, el modelo 1 mostró una alta especificidad (rango: 0,82-1,0), sin embargo, una baja sensibilidad (rango: 0-0,17), en la mayoría de los algoritmos de clasificación utilizados. La exactitud alcanzó un valor máximo de 0,71 con el método de RL y un AUC de 0,74 en los algoritmos de clasificación de RL y ANN. Por su parte el modelo 2 mostró una especificidad en el rango de 0,61-0,87, sin embargo, la sensibilidad mostró valores bajos en el rango de 0,17-0,42, para los distintos algoritmos. La máxima exactitud se alcanzó con el método KNN con un valor de 0,69 y el máximo AUC fue de 0,68 con el método de DT (**Figura 6B**). Por otro lado, como se muestra en la **Figura 6C**

el modelo 3 mostró una especificidad relativamente alto (rango: 0,70-0,91) y una sensibilidad en medianamente baja (rango: 0,17-0,41), alcanzando su máximo valor con el método de RL. Por otro lado, la máxima exactitud fue de 0,69 con los métodos de SVM y KNN, y un valor máximo de AUC de 0,68 con el método de DT. Finalmente, el modelo 4 mostro valores de especificidad relativamente alto en un rango de 0,74-1,0, por su parte, en cuanto a la sensibilidad esta tuvo valores entre 0-0,66, entre los diversos algoritmos de clasificación. La máxima exactitud se alcanzó con el método de RL con un valor de 0,80 y un valor de AUC de 0,82 se alcanzó con el mismo algoritmo de clasificación (**Figura 6D**). En resumen, estos datos en su conjunto nos muestran que el modelo 4 usando el método de RL tuvo el mejor desempeño en cuanto a los parámetros de predicción de toxicidad grave general en este grupo de pacientes con cáncer gástrico. Lo anterior, va en línea con una validación interna de nuestros datos y la selección de variables. Además, estos resultados nos sugieren que los modelos que combinan variables clínicas/tratamiento y genéticas podrían ser mejorar las predicciones que los modelos individuales.

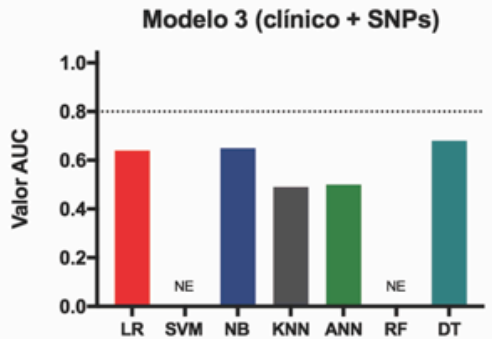
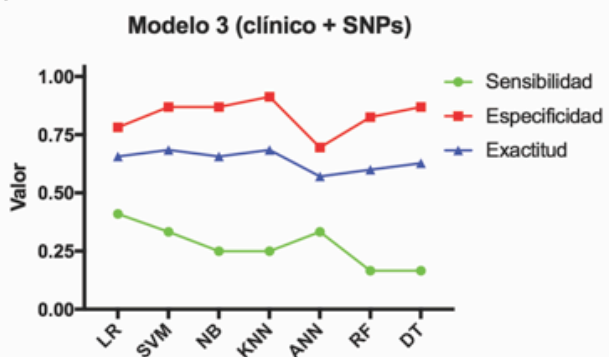
A)



B)



C)



D)

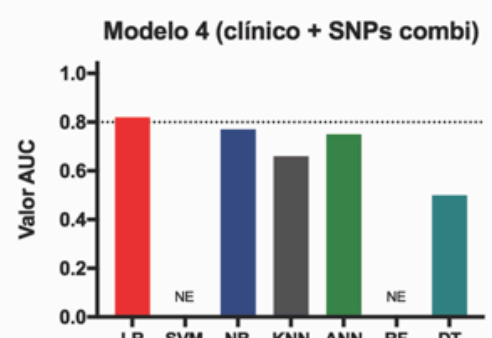
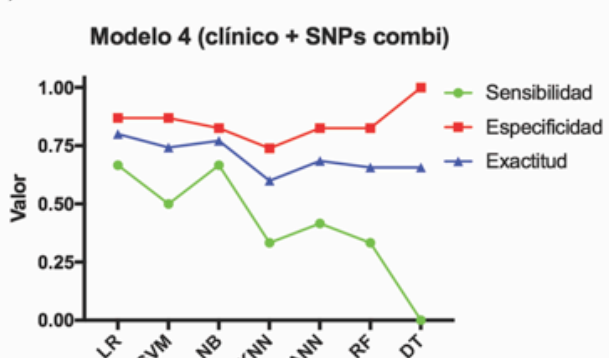


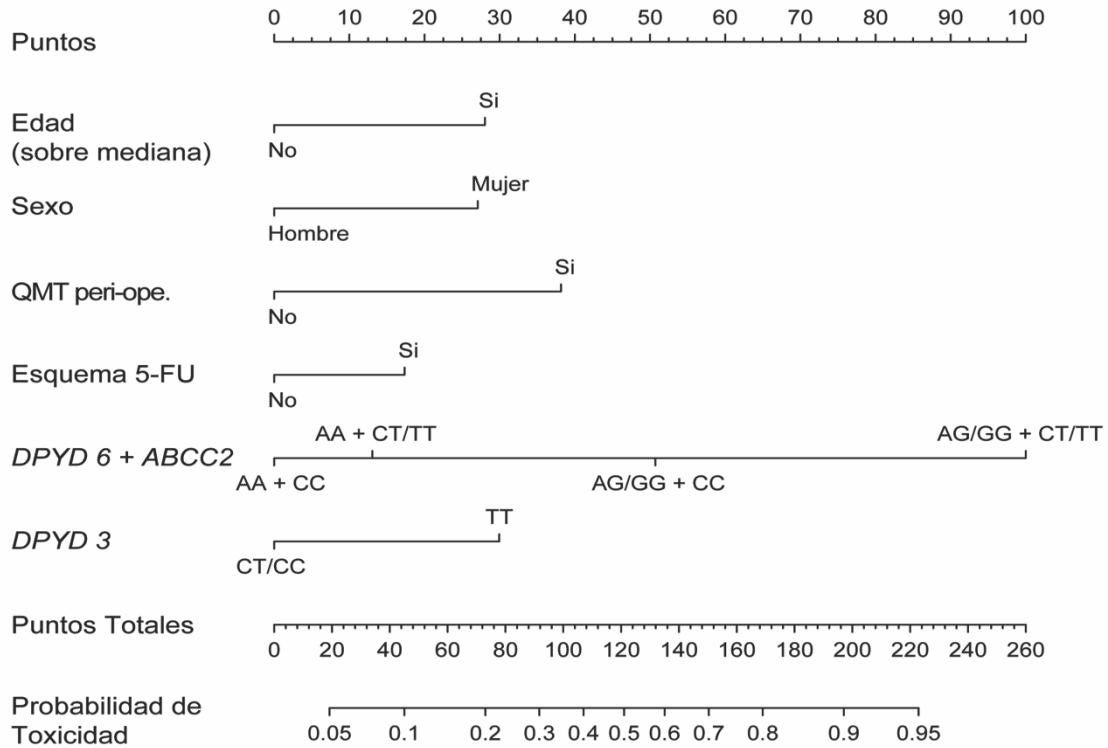
Figura 6. Desempeño de los 4 modelos toxicidad de quimioterapia basada en platino/ fluoropirimidinas utilizando diferentes algoritmos de clasificación. Se muestra la sensibilidad (línea verde), especificidad (línea roja), exactitud (línea azul) y el AUC de la curva de ROC de los modelos (barras). Predicción de toxicidad general severa en modelo 1 (A), modelo 2 (B), modelo 3 (C) y modelo 4 (D). *LR.* “*logistic regression*”; *SVM.* “*support vector machine*”; *NB.* “*naïve Bayesian*”; *KNN.* “*k-nearest neighbor*”; *ANN.* “*artificial neural network*”; *RF.* “*random forest*”; *DT.* “*decision tree*”. *N.E;* *no evaluable.*

4.4.2 Nomograma para predicción de toxicidad

Como una aproximación para una futura validación clínica de estos resultados, desarrollamos un nomograma basado en regresión logística multivariada que se muestra en la **Figura 7A**, el cual incluye tanto variables clínicas/tratamiento y SNPs combinados y estima la probabilidad de un determinado paciente de sufrir toxicidad severa. El modelo fue bien calibrado y tuvo una aceptable capacidad discriminatoria, con un *optimism-corrected c-index* de 0,72 (95% CI, 0,72–0,92) (**Figura suplementaria 2 en Anexo 1**). Luego, los puntos fueron calculados para cada uno de los pacientes casos y control y estos fueron graficados en la **Figura 7B**. Como era de esperar la mediana de puntos para el grupo de pacientes controles fue significativamente menor que para los pacientes del grupo caso ($p < 0,0001$). Además, establecimos distintos cortes de acuerdo a los puntos en el nomograma, pacientes con 45 puntos o menos tienen una probabilidad de 10% de sufrir toxicidad, interesantemente de los 16 pacientes en ese rango de puntos mas del 93% corresponden al grupo control, por el

contrario, los pacientes con mas de 136 puntos y una probabilidad de sufrir toxicidad superior al 60%, corresponden en un mas del 73% al grupo caso.

A)



B)

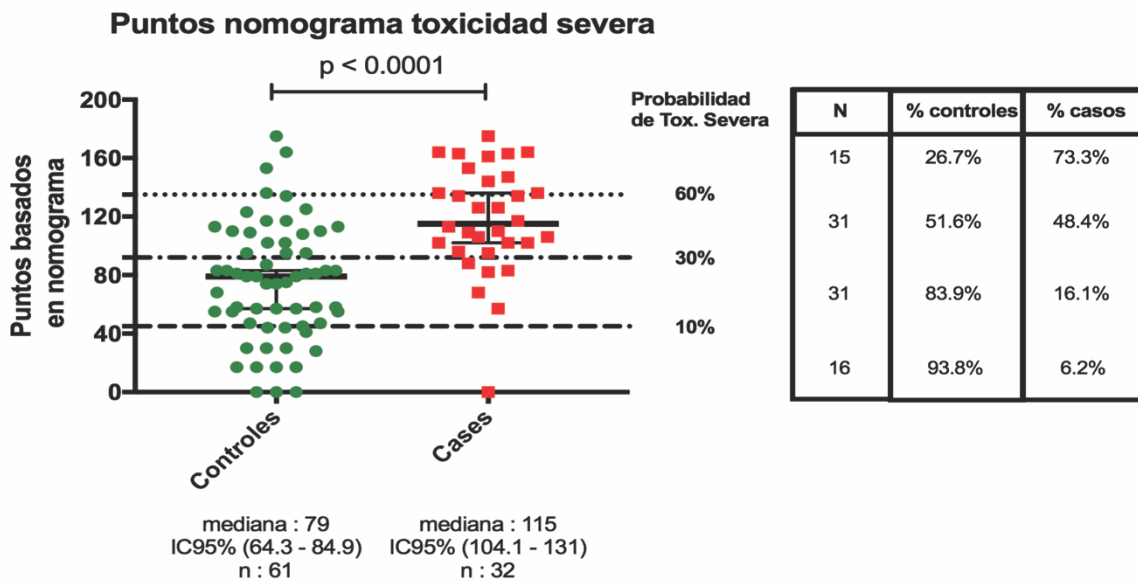


Figura 7. A) Nomograma para estimar el riesgo de toxicidad general basado en el modelo 4. El nomograma se desarrolló sobre la base del modelo final de regresión logística multivariable. B) La suma total de puntos de los grupos control y casos se muestra en la figura de la izquierda. Las líneas discontinuas representan la probabilidad de desarrollar toxicidad severa según los puntos. En el lado derecho, se muestra el porcentaje de pacientes en los respectivos grupos casos/controles de acuerdo con la probabilidad estimada en el nomograma.

DPYD 6 = rs1801265, DPYD 3 = rs1801159 en nomograma; QMT peri-ope., quimioterapia peri-operatoria; 5-FU, 5-fluorouracilo.

Significancia: $P < 0,05$

5. DISCUSION

La primera línea de quimioterapia para cáncer gástrico generalmente consiste en un régimen multi-fármacos, en los cuales se incluyen fluoropirimidinas y platinos. Estos pueden ser regímenes basados en dobletes o tripletes, los primeros a menudo son escogidos por una menor toxicidad, y los últimos en pacientes con buen *performances status*. Sin embargo, la toxicidad sigue siendo un problema clínico sustancial en ambos regímenes. Por otro lado, hay muy pocas terapias moleculares para pacientes con cáncer gástrico, entre estas encontramos: una combinación de quimioterapia con trastuzumab para pacientes HER2 positivos⁴⁷, ramucirumab en segunda línea^{48,49} y nivolumab en tercera línea⁵⁰. Sin embargo, las opciones siguen siendo limitadas y con pobres resultados en la sobrevida global. Razón por la cual es fundamental optimizar los tratamientos de quimioterapia actuales tanto como sea posible, y el manejo y predicción de la toxicidad es un aspecto relevante. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre un panel de SNPs candidatos y variables clínicas en el desarrollo de toxicidad severa a tratamiento basado en platinos/fluoropirimidinas en pacientes con cáncer gástrico.

Los datos clínico-demográficos de los 93 pacientes con cáncer gástrico incluido en este estudio fueron comparables con reportes previos en los cuales se indicó una mayor prevalencia en hombres^{51,52} y diagnóstico en etapas avanzadas⁵²⁻⁵⁵ (**Tabla 3**). Por otro lado, la estimación de sobrevida global tuvo una mediana de 29 meses, sin diferencias significativas en cuanto a sexo, tipo histológico y toxicidad general (**Figura**

5). Como era de esperar pacientes en etapa 4 tuvieron las sobrevida mas cortas (13 meses), en línea con la mayoría de las series internaciones en donde la mediana de sobrevida global raramente excede los 12 meses⁵⁶.

En este estudio evaluamos factores clínicos junto a variables genéticas y su asociación con toxicidad severa. Nuestra aproximación fue construir y evaluar 4 modelos contruidos con diferentes variables y algoritmos de clasificación para lograr establecer el modelo con mejor desempeño en cuanto a predicción de toxicidad. El modelo 1 incluyó los factores clínicos mas relevantes para cada tipo de toxicidad, como también para toxicidad general. Entre estos podemos encontrar: edad, sexo, quimioterapia peri-operatorio/adyuvante, esquema que contuvo 5-FU o Cisplatino y ECOG. No existe claridad con respecto a la asociación entre toxicidad a quimioterapia basada en platinos/fluoropirimidinas y edad en cáncer gástrico, debido a que gran parte de los ensayos clínicos los participantes se encuentran entre 50-60 años⁵⁷. Trumper *et al.* reportó a partir de 3 ensayos clínicos que la edad (≥ 70 vs < 70 años) no mostró diferencias significativas en la incidencia de toxicidades grados 3/4 en cáncer gastro-esofágico⁵⁸. También, Visa *et al.* reportó en una gran cohorte de pacientes con cáncer gástrico avanzado que la edad (≥ 70 vs < 70 años) no se asocio a toxicidades grado 3/4, sin embargo, en los pacientes de más edad la toxicidad, con mayor frecuencia conduce a la interrupción de la quimioterapia⁵⁹. Por el contrario, Jatoi *et al.* realizó un análisis agrupado de 8 ensayos clínicos y concluyó que la tasa de eventos adversos graves a quimioterapia (entre ellos neutropenia, estomatitis) fue significativamente mayor en pacientes mayores a 65 años que en los mas jóvenes en cáncer gastro-

esofágico avanzado⁶⁰. En esta misma línea, recientemente Slagter *et al.* reportaron que los pacientes con cáncer gástrico mayores (≥ 70) experimentan toxicidades severas en mayor proporción que los pacientes más jóvenes, cuando son tratados con quimioterapia perioperatoria basada en fluoropirimidinas/platinos⁶¹. Por otro lado, una serie de estudios y meta-análisis han demostrado un mayor riesgo de toxicidad severa en pacientes de sexo femenino relacionado a tratamientos basado en fluoropirimidinas y platinos, tanto en cáncer gástrico como colorrectal^{36,62-64}. La infusión intravenosa de 5-FU ha sido base de la combinación con platinos como estándar para el tratamiento de cáncer gástrico. Sin embargo, el uso de capecitabina (pro-droga oral de 5-FU) junto a platinos (principalmente cisplatino) ha demostrado un aumento en la sobrevida global y respuesta en relación con 5-FU/cisplatino, pero mayor toxicidad a nivel neurológico en pacientes con cáncer gástrico⁶⁵⁻⁶⁷. Un estudio reciente en pacientes con cáncer colorrectal, demostró que el esquema FOLFOX se asoció a un incremento significativo en estomatitis y neutropenia, pero una disminución en diarrea y síndrome mano pie comparado con CAPEOX⁶⁸. En línea con estos resultados, nuestros pacientes recibieron en un alto porcentaje quimioterapia basada principalmente en 5-FU, por lo tanto, menor proporción de uso de capecitabina (**Tabla 4**), lo cual va en relación a la mayor cantidad de toxicidades hematológicas y digestivas registradas en relación a la neurológica (**Tabla 5**). Interesantemente, un meta-análisis en donde se explora la diferencia en efectividad y seguridad de los regímenes que contienen oxaliplatino versus cisplatino, se concluyó que los pacientes tratados con cisplatino mostraron una mayor proporción de toxicidad digestiva (náuseas, estomatitis) que los con

oxaliplatino⁶⁹. Gran parte de lo anterior va en concordancia con lo observado en relación con los factores clínicos/tratamiento y toxicidad general, donde tanto, el sexo femenino, la edad, los esquemas basados en 5-FU, la quimioterapia peri-operatorio mostraron mayor toxicidad general y los esquemas con cisplatino y una mayor toxicidad digestiva, justificando la elección de estas variables en los distintos modelos 1.

Por otro lado, nuestro modelo 2 incluye las variables genéticas más relevantes relacionadas a toxicidad severa. Para el caso de toxicidad hematológica los SNPs en los genes *GSTP1* (rs1695) y *ERCC1* (rs11615) se asociaron (con una tendencia a la significancia) con este tipo de toxicidad. Para el caso del primer SNP los genotipos AG/GG en relación a AA se asociaron a una menor probabilidad de toxicidad hematológica. Dicha asociación ha sido previamente reportada en cáncer gastrointestinal⁷⁰, como también en cáncer de ovario³³ tratados con regímenes basados en platinos. Se han propuesto dos posibles mecanismos que explican esta asociación. Uno de ellos se relaciona con que el alelo A (*wild type*) que codifica para el aminoácido Isoleucina en la posición 105 de la proteína tiene una menor capacidad para metabolizar platinos con respecto al alelo G (mutante, codifica para Valina), producto de esta menor capacidad, los niveles plasmáticos de estos fármacos aumentarían, lo que conllevaría una mayor probabilidad de daño a las células sanguíneas como, por ejemplo, neutrófilos³³. Por otro lado, se ha propuesto que otro posible mecanismo relacionado con esta protección se relacionaría al aumento en las defensas celulares producto del polimorfismo (alelo G) a través de la activación de la vía JNK^{70,71}. Con respecto a toxicidad digestiva en el modelo 2 se seleccionaron 3 SNPs relevantes, sin

embargo, el que mostró una asociación significativa con este tipo de toxicidad fue el SNP en *DPYD* (rs1801159). Estudios previos han demostrado resultados contradictorios con esta variante, lo cual será detallado posteriormente. Por otro lado, para el caso de toxicidad neurológica, sólo el SNP en *TP53* (rs1042522) fue seleccionado, esto debido a que principalmente no fue posible realizar análisis con el poder estadístico necesario debido al bajo número de pacientes que desarrollaron este tipo de toxicidad (ver detalles en limitaciones del trabajo). Este polimorfismo es considerado común, para el caso del alelo *C wild type* se codifica para una Prolina en el residuo 72 para el alelo G es para una Arginina⁷². Se ha reportado en varios estudios preclínicos que el alelo G (mutado), cuando se presenta en forma homocigota (GG) se incrementa el potencial apoptótico en respuesta a genotóxicos⁷³⁻⁷⁵. Por lo tanto, esta variante podría ser dañina para las células normales cuando estas sean expuestas a quimioterapia, principalmente basada en platinos⁷². Estos trabajos van en línea con nuestros resultados, sin embargo, no hay reportes asociados a neurotoxicidad y dado el limitado número de eventos de toxicidad neurológica, una muestra mayor de pacientes es necesaria para validar estos resultados.

Finalmente, para el caso de toxicidad general severa las asociaciones más relevantes entre los 12 SNPs se encontraron en: *ERCC2* (rs13181), *DPYD* (rs2297595), *DPYD* (rs1801159), *DPYD* (rs1801265) y *GSTP1* (rs1695). Se encuentra bien reportado que la proteína DPD es una enzima limitante de reacción en el catabolismo del 5-FU y su deficiencia se asocia a un menor “clearance” del fármaco, lo que se traduce en un aumento de los efectos tóxicos del mismo⁷⁶. En el análisis

univariado los genotipos AG/GG del SNP DPYD 6 (rs1801265) se asociaron significativamente a una mayor toxicidad severa (OR: 4,20, p = 0,002). Este SNPs que produce una sustitución de la Cys 29 por una Arg, se ha asociado previamente a toxicidad por 5-FU, además, a una reducción en la actividad enzimática de DPYD. Estudios funcionales del efecto de estos SNPs en la tasa de degradación de 5-FU (5-FUDR), demostraron para el DPYD (rs1801265) que los genotipos AG y GG tienen una tasa de 5-FUDR significativamente menor que el genotipo AA, con un profundo efecto para GG⁷⁷. En la misma línea, el genotipo CT en relación al TT en el SNP DPYD (rs2297595) se asocio a una mayor toxicidad severa, aunque no significativamente (OR: 2,71, p = 0,21). En ese mismo trabajo se observó que para el DPYD (rs2297595) el genotipo CT tiene una 5-FUDR significativamente menor que el TT⁷⁷. Por otra parte, los genotipos TC/CC de SNPs DPYD (rs1801159) se asociaron *borderline* a una menor probabilidad de desarrollar toxicidad severa en relación a genotipo TT (OR: 0,45, p = 0,071). Resultados contradictorios se han encontrado en varios estudios con respecto a este polimorfismo, algunos han mostrado una asociación de los genotipos TC/CC con un aumento en la toxicidad severa ^{17,78,79}, al contrario de nuestros resultados. Otros estudios con gran número de pacientes o meta-análisis no han mostrado asociación⁸⁰⁻⁸². Por lo tanto, aún no es clara la asociación de este polimorfismo y el desarrollo de toxicidad severa. Una posible explicación a de nuestro resultado es la alta frecuencia del alelo C encontrada en este grupo de paciente que alcanzó un 34% (**Tabla 2**). Si la comparamos con otros estudios en pacientes con cánceres gastrointestinales europeos la frecuencia para el alelo C para este SNPs fue de 18,3% (n=157)⁷⁷, en otro estudio en

pacientes asiáticos con cáncer gástrico fue de 27% (n = 362)⁷⁹. En esa misma línea, la frecuencia alélica para C en población americana llega a 27%, mientras que, para población Europea, este de Asia, sur de Asia y Africana fue de 19%, 27%, 8% y 15%, respectivamente, de acuerdo a 1000G-*project*⁴³. Por lo tanto, han evidentes diferencias entre las poblaciones, además de una falta y deuda de estudios farmacogenómicos y de asociación en población americana, más específicamente en Latinoamérica. Interesantemente, un trabajo reciente en pacientes con cáncer de mama tratados con fluoropirimidinas mostró resultados similares a los nuestros para esta variante, en donde el genotipo TT (*wild type*) se asoció a un mayor riesgo de toxicidad hematológica. Este grupo al igual que nosotros concluye que esta variante debe ser analizada en otros grupos de pacientes con diferentes etnicidades, diagnósticos y regímenes⁸³. Por otro lado, el mecanismo acción de los platinos aun no se encuentra totalmente dilucidado, sin embargo, esta bien documentado que forman aductos con el ADN (intra-inter hebras *crosslink*), lo que causa errores en la reparación de ADN, con la consecuente acumulación de daño y activación de muerte celular tanto en células neoplásicas como normales⁸. Dos SNPs en procesos relacionados a lo anterior, mostraron una mayor probabilidad de desarrollar toxicidad severa en nuestro estudio. Como se explicó para el caso de toxicidad hematológica, los genotipos en AG/GG en relación a AA en el gen *GSTP1* (rs1695) se asociaron a una menor probabilidad de toxicidad severa, esta asociación de protección de alelo G de este SNPs a sido previamente reportada en pacientes tratados con quimioterapia basada en platinos en cáncer gastro-esofágico⁷⁰, colorrectal⁸², ovario⁸⁴ y pulmón⁸⁵. Uno de los posibles

mecanismos de esta protección se relacionaría al aumento en las defensas celulares producto del polimorfismo a través de la activación de la vía JNK^{70,71}. Por otro lado, los genotipos GT/GG del SNPs en *ERCC2* (rs13181) se asociaron a una mayor probabilidad de toxicidad severa (**Tabla 5**). La enzima ERCC2 esta involucrada en el sistema de reparación de daño a ADN, justamente las variantes polimórficas en el SNPs *ERCC2* (rs13181) podrían resultar en una disminución en la eficiencia de reparación, con un aumento en los aductos de ADN^{86,87}, lo que sugiere que el daño causado por los platinos a las células normales podría dar cuenta de una mayor toxicidad⁸⁸. En su conjunto las evidencias anteriores justifican la elección de estos polimorfismos en los respectivos modelos 2.

Por otro lado, realizamos un análisis de pares SNPs y su asociación con los diferentes tipos de toxicidad. Con respecto a toxicidad hematológica, el par *ERCC1* y *GSTP1* se asociaron significativamente a este tipo de toxicidad (**Tabla 8**). Para el primer polimorfismo es necesario comentar que de acuerdo al cálculo del equilibrio de *Hardy-Weinberg* fue el único SNPs que no lo cumplió. Sin embargo, es esperable un resultado de este tipo, debido a que la muestra utilizada no cumple las condiciones para la evaluación del equilibrio de *Hardy-Weinberg*. Lo anterior se debe a que nuestro grupo de pacientes no corresponde a una población al azar o de apareamiento aleatorio o población general^{39,89}, es un grupo de personas con un sesgo de selección al ser pacientes con cáncer gástrico. En esta línea, se ha reportado que el SNP *ERCC1* (rs11615) se ha asociado a un mayor riesgo de cáncer gástrico en población del este de China⁹⁰. Por otra parte, el alelo A de este SNPs se ha asociado niveles

significativamente menores de ARNm y de la proteína ERCC1⁹¹⁻⁹³. En este sentido, pacientes que lleven alguna copia de este alelo (A), deberían tener una menor capacidad de responder a daño producido por quimioterapéuticos como los platinos, en relación al alelo G. Nuestros resultados indicaron que los pacientes con genotipo GG tuvieron una probabilidad mayor de desarrollar toxicidad hematológica, en contradicción con lo anterior. Sin embargo, existen trabajos en los cuales un haplotipo conformado por los polimorfismos en *ERCC1* (rs11615) y *ERCC1* (rs3212986) se han asociado a una disminución con la capacidad de reparar el daño al DNA. Interesantemente, pacientes con el haplotipo que llevan los alelos G y A (rs11615 y rs3212986, respectivamente) son los con menor capacidad de reparación de daño⁹⁴⁻⁹⁶. Por lo tanto, se podría explicar nuestro resultado basando en dichos estudios. Sin embargo, estudios que validen esta observación deben ser realizados. Por otro lado, como ya se explico previamente con el SNP en *GSTP1* (rs1695), en donde el genotipo AA se asocio a una mayor probabilidad de toxicidad hematológica, es plausible que una combinación de estos dos SNPs en pacientes tratados con platinos tengas mayores probabilidades de desarrollar toxicidad hematológica (**Tabla 8**). Para el caso de toxicidad digestiva, los análisis multivariados de los 12 SNPs con sus respectivos modelos de herencia encontraron que la combinación *ERCC1* (rs11615) y *DPYD* (rs1801159) se asociaron significativamente con este tipo de toxicidad. Interesantemente, la combinación de los genotipos AA/AG + CT/CC (para *ERCC1* + *DPYD*, respectivamente) en los pacientes se asocio a una muy baja probabilidad de desarrollar toxicidad digestiva (OR = 0,19, p = 0,009, **Tabla 12**). Ya se explico como los

genotipos AA/AG en *ERCC1* se podrían relacionar con una mayor capacidad de reparación al daño del ADN por aductos causados por platinos, además, a nivel de tracto digestivo la expresión de la proteína ERCC1 es muy alto en relación a otros órganos, usando como referencia el “Human Protein Atlas”⁹⁷, dando evidencia para nuestra observación. Para el caso del SNP en *DPYD*, los resultados contradictorios y falta de estudios en población americana y chilena, no podemos explicar totalmente estos resultados, donde el alelo C (mutante) se asoció a una menor toxicidad. Una explicación alternativa podría estar relacionada con alguna variante que se encuentre en desequilibrio de ligamiento con este polimorfismo que potencialmente podría estar asociado a respuesta a este tipo de fármacos. Finalmente, para el caso de toxicidad general una fuerte asociación fue encontrada entre los SNPs *DPYD* (rs1801265) y *ABCC2* (rs717620) (**Tabla 19**). Los pacientes con los genotipos AG/GG y CT/TT para el primer y segundo SNPs, respectivamente, mostraron una alta probabilidad de desarrollar toxicidad severa asociada a fluoropirimidinas/platinos (*OR*: 11,25, IC95%: 1,25-245,45). El polimorfismo en *ABCC2* (rs717620) se encuentra en la región promotora del gen, y se ha asociado previamente con una disminución en la expresión proteica *in-vitro*⁹⁸. Además, *ABCC2* media la exportación/eliminación del conjugado glutatión-oxaliplatino⁹⁹, lo que una disminución en su expresión se podría relacionar con una disminución en la eliminación de este fármaco y por consecuencia un aumento en los efectos tóxicos. Asociaciones entre este polimorfismo y toxicidad hematológica severa relacionada a tratamiento basado en fluoropirimidinas y platinos se ha reportado en pacientes con cáncer colorrectal y pulmón^{100,101}. Por lo tanto, la combinación de los

SNPs *DPYD* (rs1801265, descritos previamente) junto a *ABCC2* (rs717620) podrían potenciar los efectos tóxicos, por un lado, el de las fluoropirimidinas y por otro las del oxaliplatino. Sin embargo, tal asociación debe ser validada en otros estudios con un mayor número de pacientes.

Los modelos 3 y 4 usan una combinación de variables clínicas/tratamiento con los SNPs ya sea de manera independientes o en combinación (**Tablas 9,13,16 y 20**). Hay algunos trabajos que han integrado variables clínicas y genéticas para mejorar la predicción de toxicidad en diferentes tipos de cánceres y tratamientos. Schwab et al. estudio el valor predictivo de SNPs en *DPYD*, *MTHFR* y *TYMS* junto con factores no genéticos en relación con toxicidad severa a tratamiento basado en 5-FU, concluyó que el genotipo, el sexo femenino, el modo de administración de 5-FU y la modulación por ácido fólico (leucovorina) fueron factores de riesgo independientes de riesgo de toxicidad severa. Además, reportó una fuerte interacción entre polimorfismos en *DPYD* y pacientes hombres³⁶. En línea con ese resultado, la asociación entre el SNPs en *DPYD* (rs1801265) y toxicidad severa fue significativo solo en pacientes de sexo masculino (**Tabla suplementaria 2 en Anexo 1**). Por otro lado, Yin et al. usando diferentes algoritmos de clasificación concluyó que usando 28 SNPs y 1 variable clínica (histología) se lograba la mejor predicción de toxicidad general severa en pacientes con cáncer de pulmón que recibieron terapia basada en platinos³⁵. Adicionalmente, ese mismo grupo reportó que la combinación de los SNPs *ABCG2* rs2231142-*CES5A* rs3859104 se asociaron fuertemente con toxicidad general severa a platinos (OR ajustado: 8,044, $p= 4,350 \times 10^{-5}$) en pacientes de cáncer de pulmón. En esa línea,

nuestros modelos mostraron mejores ajustes, basándonos en Pseudo R^2 , cuando usamos la integración de factores clínicos/tratamiento y SNPs (modelos 3 y 4, **Tablas 9,13,16 y 20**).

Además, los 4 modelos para el caso de toxicidad severa general fueron evaluados usando diferentes algoritmos de clasificación que previamente han sido utilizados en este tipo de estudios^{35,102}. Nosotros comparamos los 4 modelos usando diferentes métodos de clasificación, en términos generales los modelos 3 y 4, que integraban las variables mostraron un mejor desempeño (**Figura 6**), en donde los algoritmos de regresión logística y NB fueron superiores a los otros. Interesantemente, el modelo 1 mostró una alta especificidad en todos los algoritmos de clasificación, sin embargo, una muy baja sensibilidad. El modelo 2, que sólo contiene SNPs, mostró bajos valores de sensibilidad, especificidad y AUC (**Figura 6B**), lo anterior se puede deber a un limitado efecto de los SNPs en el impacto general de toxicidad, sin embargo, este limitado efecto puede aumentar identificando otras variantes candidatas y potenciado con las variables clínicas. Finalmente, el modelo 4 usando un algoritmo de regresión logística fue superior a los otros modelos, evidenciado en los valores de sensibilidad, especificidad, exactitud y AUC (**Figura 6D**), este tipo de algoritmo ha sido ampliamente utilizado en estudios de asociación y predicción^{36,37,103} con buenos resultados, sin embargo, el algoritmo NB por su simplicidad ha mostrado prometedores resultados en este tipo de estudios³⁵. Por lo tanto, la evaluación de estos algoritmos de clasificación debería ser explorada y confirmada en estudios posteriores.

Finalmente, basado en los resultados previos y usando toxicidad general propusimos un método para establecer la probabilidad de que un paciente con cáncer gástrico que reciba terapia basada en fluoropirimidinas y platinos desarrolle toxicidad severa. Por lo que desarrollamos un nomograma basado en una regresión logística del modelo 4 (**Figura 7**). Actualmente, uno de los marcadores más confiables de toxicidad severa a fluoropirimidinas son los SNPs *DPYD*2A* (rs3918290) y *DPYD*13* (rs55886062), sin embargo, la baja frecuencia de estas variantes sólo permite identificar una fracción muy pequeña de pacientes en riesgo. De hecho, en los pacientes analizados los genotipos mutados o heterocigotos *DPYD*13* (rs55886062) no fueron detectados en ninguno de ellos. Además, de acuerdo a 1000-G Project la frecuencia para *DPYD*2A* (rs3918290) en población americana es de 0,6% y 0,0%, para los genotipos heterocigoto y mutado, respectivamente. Una de las ventajas del nomograma propuesto es que utiliza una combinación de SNPs (*DPYD* y *ABCC2*), entendiendo que estos no son de baja frecuencia, y se relacionan tanto con fluoropirimidinas y platinos. Además, se integran características clínicas de los pacientes y tratamiento, por lo tanto, no considera solo factores farmacogenómicos como la mayoría de los trabajos publicados.

A pesar de nuestro análisis, el estudio tiene algunas deficiencias. Este es un estudio retrospectivo con un relativamente bajo número de pacientes, por lo que los análisis combinatorios tuvieron sólo unos pocos pacientes, reduciendo significativamente la precisión de los análisis. Además, algunas asociaciones que fueron incluidas en los modelos no lograron el estándar de significancia de $p < 0,05$, sin

embargo, fueron incluidas debido a que previamente ha sido reportada su influencia o efecto en el desarrollo de toxicidad severa o bien su inclusión mejoraba los valores de Pseudo R². Existen reportes donde se integran variables que por si solas no alcanzan la significancia estadística, pero si lo hacen dentro de un modelo con múltiples variables. Por ejemplo, un estudio donde se buscaba asociar diferentes SNPs en genes relacionados al transporte de fármacos (familia *ABC* y *SLC*) y toxicidad neurológica por oxaliplatino en pacientes con cáncer colorrectal. Interesantemente, ninguno de los 5 polimorfismos estudiados se asoció significativamente a este tipo de toxicidad, sin embargo, en un modelo de *score* de riesgo que integraba a los 5 SNPs se fue posible encontrar una asociación significativa¹⁰³. Por otro lado, hay una falta de un grupo de validación del modelo/nomograma propuesto para establecer la capacidad predictiva del mismo, solo se uso un porcentaje de los pacientes (40%) para una validación interna de los modelos. En esta misma línea, una comparación de modelo/nomograma con otros estudios similares se hace necesario, por ejemplo, Schwab et al.³⁶ y Botticelli et al.¹⁰⁴ proponen nomogramas para predecir toxicidad a 5-FU, sin embargo, algunos de los factores que utilizan no fueron determinados en este estudio (Ej: *DPYD*2*, *5-FU degradation rate value*). Por lo que en un estudio posterior se pueden ocupar estos nomogramas como referencia. Otra de las limitaciones es que presentamos un modelo que es estático, es decir, que utilizó variables que se determinaron al inicio del tratamiento de los pacientes. Sin embargo, la quimioterapia es un proceso dinámico y, por lo tanto, en cada ciclo pueden cambiar las condiciones del paciente y con ello su capacidad de respuesta y tolerancia. En ese sentido variables que se pueden medir en

cada ciclo de quimioterapia, como por ejemplo, función renal, hepática, recuento de neutrófilos, ECOG, IMC, entre otras, pueden ser incluidas junto a nuestro modelo usando una aproximación multi-estado¹⁰⁵. Además, la variable toxicidad se podría considerar como una variable ordinal que se incrementa desde grado 0 a grado 5, por lo tanto, un modelo de regresión logística ordinal podría haber sido utilizado en los análisis, sin embargo, solo 5 eventos (en 4 pacientes) grado 4 fueron registrados por lo que no se alcanzaba el suficiente poder estadístico para realizar tales modelos. Interesantemente, los 4 pacientes con eventos grado 4 tienen puntajes (promedio = 124 puntos) en el nomograma sobre el promedio de puntos de todos los pacientes (promedio = 89 puntos), además, dos de ellos tienen los puntajes mas altos, 161 y 136 puntos, respectivamente (datos no mostrados). Por otro lado, la mayoría de los estudios farmacogenéticos usan muestras de sangre como fuente de ADN para los análisis, y esta es considerada el *gold standart*. En nuestro estudio el ADN utilizado para genotipar los 12 SNPs seleccionados, procedieron de tejido tumoral embebido en parafina (FFPE), por lo tanto, podría existir un porcentaje de genotipos incorrectos. Sin embargo, en 9 pacientes con muestras de ADN extraídas tanto de sangre como de FFPE, los resultados de genotipificación de los 12 SNPs tuvieron un 100% de concordancia (datos no mostrados). Además, otros trabajos reportan una alta concordancia entre ADN proveniente de sangre y ADN derivado de tejidos de múltiple origen ¹⁰⁶. En otro estudio se compararon los genotipos desde ADN de sangre y FFPE en muestras de cáncer colorrectal para 11 SNPs previamente asociados a quimioterapia citotóxica. De estos 11 SNPs, 4 ellos fueron genotipados en nuestro

estudio, de acuerdo a sus resultados, existe una alta concordancia en los genotipos entre las fuentes de ADN usadas, sin embargo, el SNPs en el gen *GSTP1* (rs1695) muestra una discordancia¹⁰⁷. Además, otros potenciales genes/polimorfismos no fueron evaluados en este estudio, los cuales podrían ser aún relevantes. Recientemente, varios reportes han asociado polimorfismos en el gen *ENOSF1* con toxicidad severa a fluoropirimidinas^{108–110}, además, incluir variantes en zonas *UTR* de gen *TYMS* del tipo *5'VNTR 28bp-repeat* (rs45445694) y *3'UTR 6bp-indel* (rs11280056) podrían mejorar nuestro modelo^{81,111}.

A pesar de todas las limitaciones previamente descritas, consideramos que la aproximación usada en este estudio es una “prueba de concepto” en donde modelos que integren variables clínicas y farmacogenéticas podrían mejorar la predicción de toxicidad asociada a quimioterapia basada en fluoropirimidinas y platinos.

6. CONCLUSIONES

1. Los pacientes con cáncer gástrico de este estudio mostraron características clínico-patológicas en acuerdo con series internacionales.
2. Se lograron establecer asociaciones entre variables clínicas y de tratamiento con toxicidad severa.
3. Se reportan asociaciones entre toxicidad severa y polimorfismos previamente reportadas. Sin embargo, para el caso de la DPYD rs1801159 un resultado no esperado fue encontrado.
4. Se reportan combinaciones entre polimorfismos que se asocian significativamente con distintos tipos de toxicidad. Sin embargo, se deben validar y explorar en un mayor número de pacientes.
5. Finalmente, desarrollamos un modelo basado en regresión logística que integra variables clínicas, de tratamiento y marcadores farmacogenéticos como potencial herramienta en predicción de toxicidad severa asociada a quimioterapia basada en fluoropirimidinas y platinos en cáncer gástrico.

7. REFERENCIAS

1. Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* **68**, 394–424 (2018).
2. Ferro, A. *et al.* Worldwide trends in gastric cancer mortality (1980-2011), with predictions to 2015, and incidence by subtype. *Eur. J. Cancer* **50**, 1330–1344 (2014).
3. Arnold, M. *et al.* Is gastric cancer becoming a rare disease? A global assessment of predicted incidence trends to 2035. *Gut* **69**, 823–829 (2020).
4. Caglevic, C., Silva, S., Mahave, M., Rolfo, C. & Gallardo, J. The current situation for gastric cancer in Chile. *Ecancermedicalscience* **10**, 707 (2016).
5. Cunningham, D. *et al.* Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N. Engl. J. Med.* **355**, 11–20 (2006).
6. Alsina, M., Miquel, J. M., Diez, M., Castro, S. & Tabernero, J. How I treat gastric adenocarcinoma. *ESMO open* **4**, e000521 (2019).
7. Al-Batran, S.-E. *et al.* Perioperative chemotherapy with fluorouracil plus leucovorin, oxaliplatin, and docetaxel versus fluorouracil or capecitabine plus cisplatin and epirubicin for locally advanced, resectable gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (FLOT4): a ra. *Lancet (London, England)* **393**, 1948–1957 (2019).
8. Wang, D. & Lippard, S. J. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat*

- Rev Drug Discov* **4**, 307–320 (2005).
9. Ho, G. Y., Woodward, N. & Coward, J. I. Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* **102**, 37–46 (2016).
 10. Pachman, D. R. *et al.* Clinical Course of Oxaliplatin-Induced Neuropathy: Results From the Randomized Phase III Trial N08CB (Alliance). *J Clin Oncol* **33**, 3416–3422 (2015).
 11. Sakaeda, T., Nakamura, T. & Okumura, K. MDR1 genotype-related pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Biol Pharm Bull* **25**, 1391–1400 (2002).
 12. Scripture, C. D. & Figg, W. D. Drug interactions in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* **6**, 546–558 (2006).
 13. Panczyk, M. Pharmacogenetics research on chemotherapy resistance in colorectal cancer over the last 20 years. *World J Gastroenterol* **20**, 9775–9827 (2014).
 14. Lopez Sobella, M., Criado Illana, M. T., Esteban Herrera, B. & Lopez Arranza, M. C. [Severe 5-fluorouracil induced toxicity associated with dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency]. *Farm Hosp* **32**, 54–56 (2008).
 15. Dhelens, C. *et al.* Lethal 5-fluorouracil toxicity in a colorectal patient with severe dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency. *Int J Color. Dis* **31**, 699–701 (2016).
 16. Van Kuilenburg, A. B., Meinsma, R., Zoetekouw, L. & Van Gennip, A. H.

- Increased risk of grade IV neutropenia after administration of 5-fluorouracil due to a dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency: high prevalence of the IVS14+1g>a mutation. *Int J Cancer* **101**, 253–258 (2002).
17. Maring, J. G. *et al.* Reduced 5-FU clearance in a patient with low DPD activity due to heterozygosity for a mutant allele of the DPYD gene. *Br J Cancer* **86**, 1028–1033 (2002).
 18. Longley, D. B., Harkin, D. P. & Johnston, P. G. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer* **3**, 330–338 (2003).
 19. Jakobsen, A., Nielsen, J. N., Gyldenkerne, N. & Lindeberg, J. Thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in normal tissue as predictors of fluorouracil sensitivity. *J Clin Oncol* **23**, 1365–1369 (2005).
 20. An, Q., Robins, P., Lindahl, T. & Barnes, D. E. 5-Fluorouracil incorporated into DNA is excised by the Smug1 DNA glycosylase to reduce drug cytotoxicity. *Cancer Res* **67**, 940–945 (2007).
 21. Kunz, C. *et al.* Base excision by thymine DNA glycosylase mediates DNA-directed cytotoxicity of 5-fluorouracil. *PLoS Biol* **7**, e91 (2009).
 22. Quiñones, L. *et al.* Clinical applications of pharmacogenomics. *Rev. Med. Chil.* **145**, 483–500 (2017).
 23. Relling, M. V & Evans, W. E. Pharmacogenomics in the clinic. *Nature* **526**, 343–350 (2015).
 24. Thummel, K. E. & Lin, Y. S. Sources of Interindividual Variability BT - Enzyme Kinetics in Drug Metabolism: Fundamentals and Applications. in (eds. Nagar, S.,

Argikar, U. A. & Tweedie, D. J.) 363–415 (Humana Press, 2014).

doi:10.1007/978-1-62703-758-7_17

25. Turner, R. M., Park, B. K. & Pirmohamed, M. Parsing interindividual drug variability: an emerging role for systems pharmacology. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.* **7**, 221–241 (2015).
26. Evans, W. E. & Relling, M. V. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science (80-.)*. **286**, 487–491 (1999).
27. Erichsen, H. C. & Chanock, S. J. SNPs in cancer research and treatment. *Br J Cancer* **90**, 747–751 (2004).
28. Duan, J. *et al.* Synonymous mutations in the human dopamine receptor D2 (DRD2) affect mRNA stability and synthesis of the receptor. *Hum. Mol. Genet.* **12**, 205–216 (2003).
29. Van Kuilenburg, A. B. P. *et al.* Heterozygosity for a point mutation in an invariant splice donor site of dihydropyrimidine dehydrogenase and severe 5-fluorouracil related toxicity. *Eur. J. Cancer* **33**, 2258–2264 (1997).
30. Caudle, K. E. *et al.* Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing. *Clin. Pharmacol. Ther.* **94**, 640–645 (2013).
31. Peklak-Scott, C., Smitherman, P. K., Townsend, A. J. & Morrow, C. S. Role of glutathione S-transferase P1-1 in the cellular detoxification of cisplatin. *Mol. Cancer Ther.* **7**, 3247–3255 (2008).
32. Ishimoto, T. M. & Ali-Osman, F. Allelic variants of the human glutathione S-

- transferase P1 gene confer differential cytoprotection against anticancer agents in *Escherichia coli*. *Pharmacogenetics* **12**, 543–553 (2002).
33. Yoshihama, T. *et al.* GSTP1 rs1695 is associated with both hematological toxicity and prognosis of ovarian cancer treated with paclitaxel plus carboplatin combination chemotherapy: a comprehensive analysis using targeted resequencing of 100 pharmacogenes. *Oncotarget; Vol 9, No 51* (2018).
 34. Hasmats, J. *et al.* Identification of candidate SNPs for drug induced toxicity from differentially expressed genes in associated tissues. *Gene* **506**, 62–68 (2012).
 35. Yin, J.-Y. *et al.* Prediction models for platinum-based chemotherapy response and toxicity in advanced NSCLC patients. *Cancer Lett.* **377**, 65–73 (2016).
 36. Schwab, M. *et al.* Role of genetic and nongenetic factors for fluorouracil treatment-related severe toxicity: a prospective clinical trial by the German 5-FU Toxicity Study Group. *J Clin Oncol* **26**, 2131–2138 (2008).
 37. Anandi, P. *et al.* Combining clinical and candidate gene data into a risk score for azathioprine-associated leukopenia in routine clinical practice. *Pharmacogenomics J.* (2020). doi:10.1038/s41397-020-0163-4
 38. Sole, X., Guino, E., Valls, J., Iriarte, R. & Moreno, V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* **22**, 1928–1929 (2006).
 39. Lavanderos, M. A. *et al.* Association Study Among Candidate Genetic Polymorphisms and Chemotherapy-Related Severe Toxicity in Testicular Cancer Patients. *Frontiers in Pharmacology* **10**, 206 (2019).
 40. Menard, S. Coefficients of Determination for Multiple Logistic Regression

- Analysis. *Am. Stat.* **54**, 17–24 (2000).
41. Zhang, Z. & Kattan, M. W. Drawing Nomograms with R: applications to categorical outcome and survival data. *Ann. Transl. Med.* **5**, 211 (2017).
 42. Whirl-Carrillo, M. *et al.* Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther* **92**, 414–417 (2012).
 43. Auton, A. *et al.* A global reference for human genetic variation. *Nature* **526**, 68–74 (2015).
 44. Sunyaev, S. *et al.* Prediction of deleterious human alleles. *Hum Mol Genet* **10**, 591–597 (2001).
 45. Ng, S. B. *et al.* Individualised multiplexed circulating tumour DNA assays for monitoring of tumour presence in patients after colorectal cancer surgery. *Sci. Rep.* **7**, 40737 (2017).
 46. Dorfman, R. *et al.* Do common in silico tools predict the clinical consequences of amino-acid substitutions in the CFTR gene? *Clin Genet* **77**, 464–473 (2010).
 47. Bang, Y.-J. *et al.* Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet (London, England)* **376**, 687–697 (2010).
 48. Fuchs, C. S. *et al.* Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet (London, England)* **383**, 31–39 (2014).

49. Wilke, H. *et al.* Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (RAINBOW): a double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* **15**, 1224–1235 (2014).
50. Kang, Y.-K. *et al.* Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet (London, England)* **390**, 2461–2471 (2017).
51. Okada, E. *et al.* Demographic and lifestyle factors and survival among patients with esophageal and gastric cancer: The Biobank Japan Project. *J. Epidemiol.* **27**, S29–S35 (2017).
52. Gonzalez-Hormazabal, P. *et al.* Polymorphisms in RAS/RAF/MEK/ERK Pathway Are Associated with Gastric Cancer. *Genes (Basel)*. **10**, (2018).
53. Zong, L., Abe, M., Seto, Y. & Ji, J. The challenge of screening for early gastric cancer in China. *Lancet (London, England)* **388**, 2606 (2016).
54. Owen, G. I. *et al.* Chilean Gastric Cancer Task Force: A study protocol to obtain a clinical and molecular classification of a cohort of gastric cancer patients. *Medicine (Baltimore)*. **97**, e0419 (2018).
55. Cordova-Delgado, M. *et al.* High Proportion of Potential Candidates for Immunotherapy in a Chilean Cohort of Gastric Cancer Patients: Results of the FORCE1 Study. *Cancers (Basel)*. **11**, (2019).

56. Van Cutsem, E., Sagaert, X., Topal, B., Haustermans, K. & Prenen, H. Gastric cancer. *Lancet (London, England)* **388**, 2654–2664 (2016).
57. Wagner, A. D. *et al.* Chemotherapy in advanced gastric cancer: a systematic review and meta-analysis based on aggregate data. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **24**, 2903–2909 (2006).
58. Trumper, M. *et al.* Efficacy and tolerability of chemotherapy in elderly patients with advanced oesophago-gastric cancer: A pooled analysis of three clinical trials. *Eur. J. Cancer* **42**, 827–834 (2006).
59. Visa, L. *et al.* Efficacy and safety of chemotherapy in older versus non-older patients with advanced gastric cancer: A real-world data, non-inferiority analysis. *J. Geriatr. Oncol.* **9**, 254–264 (2018).
60. Jatoi, A. *et al.* Older versus younger patients with metastatic adenocarcinoma of the esophagus, gastroesophageal junction, and stomach: a pooled analysis of eight consecutive North Central Cancer Treatment Group (NCCTG) trials. *Int. J. Oncol.* **36**, 601–606 (2010).
61. Slagter, A. E. *et al.* Older versus younger adults with gastric cancer receiving perioperative treatment: Results from the CRITICS trial. *Eur. J. Cancer* **130**, 146–154 (2020).
62. Sloan, J. A. *et al.* Women experience greater toxicity with fluorouracil-based chemotherapy for colorectal cancer. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **20**, 1491–1498 (2002).
63. Milano, G. *et al.* Influence of sex and age on fluorouracil clearance. *J. Clin. Oncol.*

- Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **10**, 1171–1175 (1992).
64. Cristina, V. *et al.* Association of Patient Sex With Chemotherapy-Related Toxic Effects: A Retrospective Analysis of the PETACC-3 Trial Conducted by the EORTC Gastrointestinal Group. *JAMA Oncol.* **4**, 1003–1006 (2018).
 65. Cunningham, D. *et al.* Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N. Engl. J. Med.* **358**, 36–46 (2008).
 66. Kang, Y.-K. *et al.* Capecitabine/cisplatin versus 5-fluorouracil/cisplatin as first-line therapy in patients with advanced gastric cancer: a randomised phase III noninferiority trial. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **20**, 666–673 (2009).
 67. Lordick, F., Lorenzen, S., Yamada, Y. & Ilson, D. Optimal chemotherapy for advanced gastric cancer: is there a global consensus? *Gastric Cancer* **17**, 213–225 (2014).
 68. Loree, J. M. *et al.* Survival Impact of CAPOX Versus FOLFOX in the Adjuvant Treatment of Stage III Colon Cancer. *Clin. Colorectal Cancer* **17**, 156–163 (2018).
 69. Huang, J. *et al.* Comparative effectiveness and safety between oxaliplatin-based and cisplatin-based therapy in advanced gastric cancer: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Oncotarget* **7**, 34824–34831 (2016).
 70. Goekkurt, E. *et al.* Pharmacogenetic analyses of a phase III trial in metastatic gastroesophageal adenocarcinoma with fluorouracil and leucovorin plus either oxaliplatin or cisplatin: a study of the arbeitgemeinschaft internistische onkologie. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **27**, 2863–2873 (2009).
 71. Lecomte, T., Landi, B., Beaune, P., Laurent-Puig, P. & Llorca, M.-A. Glutathione

- S-transferase P1 polymorphism (Ile105Val) predicts cumulative neuropathy in patients receiving oxaliplatin-based chemotherapy. *Clin. cancer Res. an Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **12**, 3050–3056 (2006).
72. Zheng, D. *et al.* Polymorphisms of p53 and MDM2 genes are associated with severe toxicities in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Biol. Ther.* **15**, 1542–1551 (2014).
73. Dumont, P., Leu, J. I.-J., Della Pietra, A. C. 3rd, George, D. L. & Murphy, M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat. Genet.* **33**, 357–365 (2003).
74. Ozeki, C. *et al.* Cancer susceptibility polymorphism of p53 at codon 72 affects phosphorylation and degradation of p53 protein. *J. Biol. Chem.* **286**, 18251–18260 (2011).
75. Borchiellini, D. *et al.* Candidate apoptotic and DNA repair gene approach confirms involvement of ERCC1, ERCC5, TP53 and MDM2 in radiation-induced toxicity in head and neck cancer. *Oral Oncol.* **67**, 70–76 (2017).
76. Del Re, M. *et al.* Dihydropyrimidine dehydrogenase polymorphisms and fluoropyrimidine toxicity: ready for routine clinical application within personalized medicine? *EPMA J.* **1**, 495–502 (2010).
77. Gentile, G. *et al.* Genotype–phenotype correlations in 5-fluorouracil metabolism: a candidate DPYD haplotype to improve toxicity prediction. *Pharmacogenomics J.* **16**, 320–325 (2016).
78. O’Donnell, P. H. *et al.* Clinical evaluation of germline polymorphisms associated

- with capecitabine toxicity in breast cancer: TBCRC-015. *Breast Cancer Res. Treat.* **181**, 623–633 (2020).
79. ZHANG, X. *et al.* Polymorphisms of dihydropyrimidine dehydrogenase gene and clinical outcomes of gastric cancer patients treated with fluorouracil-based adjuvant chemotherapy in Chinese population. *Chin. Med. J. (Engl)*. **125**, (2012).
80. Deenen, M. J. *et al.* Relationship between single nucleotide polymorphisms and haplotypes in DPYD and toxicity and efficacy of capecitabine in advanced colorectal cancer. *Clin. cancer Res. an Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **17**, 3455–3468 (2011).
81. Rosmarin, D. *et al.* Genetic markers of toxicity from capecitabine and other fluorouracil-based regimens: investigation in the QUASAR2 study, systematic review, and meta-analysis. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **32**, 1031–1039 (2014).
82. McLeod, H. L. *et al.* Pharmacogenetic predictors of adverse events and response to chemotherapy in metastatic colorectal cancer: results from North American Gastrointestinal Intergroup Trial N9741. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **28**, 3227–3233 (2010).
83. Tecza, K., Pamula-Pilat, J., Lanuszewska, J., Butkiewicz, D. & Grzybowska, E. Pharmacogenetics of toxicity of 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer patients. *Oncotarget; Vol 9, No 10* (2018).
84. Kim, H. S. *et al.* Genetic polymorphisms affecting clinical outcomes in epithelial ovarian cancer patients treated with taxanes and platinum compounds: a Korean

- population-based study. *Gynecol. Oncol.* **113**, 264–269 (2009).
85. Booten, R. *et al.* Glutathione-S-Transferase P1 Isoenzyme Polymorphisms, Platinum-Based Chemotherapy, and Non-small Cell Lung Cancer. *J. Thorac. Oncol.* **1**, 679–683 (2006).
 86. Pastorelli, R., Cerri, A., Mezzetti, M., Consonni, E. & Airoidi, L. Effect of DNA repair gene polymorphisms on BPDE-DNA adducts in human lymphocytes. *Int. J. cancer* **100**, 9–13 (2002).
 87. Benhamou, S. & Sarasin, A. ERCC2/XPD gene polymorphisms and cancer risk. *Mutagenesis* **17**, 463–469 (2002).
 88. Boige, V. *et al.* Pharmacogenetic Assessment of Toxicity and Outcome in Patients With Metastatic Colorectal Cancer Treated With LV5FU2, FOLFOX, and FOLFIRI: FFCD 2000-05. *J. Clin. Oncol.* **28**, 2556–2564 (2010).
 89. Namipashaki, A., Razaghi-Moghadam, Z. & Ansari-Pour, N. The Essentiality of Reporting Hardy-Weinberg Equilibrium Calculations in Population-Based Genetic Association Studies. *Cell J.* **17**, 187–192 (2015).
 90. He, J. *et al.* Polymorphisms in ERCC1 and XPF genes and risk of gastric cancer in an eastern Chinese population. *PLoS One* **7**, e49308 (2012).
 91. Abyarghamsari, M. *et al.* Study of the Relationship between ERCC1 Polymorphisms and Response to Platinum-based Chemotherapy in Iranian Patients with Colorectal and Gastric Cancers. *Iran. J. Pharm. Res. IJPR* **18**, 2163–2171 (2019).
 92. Rao, D. *et al.* Excision repair cross-complementing group-1 (ERCC1) induction

- kinetics and polymorphism are markers of inferior outcome in patients with colorectal cancer treated with oxaliplatin. *Oncotarget*; Vol 10, No 53 (2019).
93. Ma, S.-C., Zhao, Y., Zhang, T., Ling, X.-L. & Zhao, D. Association between the ERCC1 rs11615 polymorphism and clinical outcomes of oxaliplatin-based chemotherapies in gastrointestinal cancer: a meta-analysis. *Onco. Targets. Ther.* **8**, 641–648 (2015).
 94. Lu, X. *et al.* ERCC1 and ERCC2 Haplotype Modulates Induced BPDE-DNA Adducts in Primary Cultured Lymphocytes. *PLoS One* **8**, e60006 (2013).
 95. Yu, T. *et al.* Excision repair of BPDE-adducts in human lymphocytes: diminished capacity associated with ERCC1 C8092A (rs3212986) polymorphism. *Arch. Toxicol.* **87**, 699–709 (2013).
 96. van Huis-Tanja, L. H. *et al.* Excision Repair Cross-Complementation group 1 (ERCC1) C118T SNP does not affect cellular response to oxaliplatin. *Mutat. Res. Mol. Mech. Mutagen.* **759**, 37–44 (2014).
 97. Uhlén, M. *et al.* Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science* **347**, 1260419 (2015).
 98. Haenisch, S. *et al.* Influence of genetic polymorphisms on intestinal expression and rifampicin-type induction of ABCC2 and on bioavailability of talinolol. *Pharmacogenet. Genomics* **18**, (2008).
 99. Taniguchi, K. *et al.* A human canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT) gene is overexpressed in cisplatin-resistant human cancer cell lines with decreased drug accumulation. *Cancer Res.* **56**, 4124–4129 (1996).

100. Cecchin, E. *et al.* A prospective validation pharmacogenomic study in the adjuvant setting of colorectal cancer patients treated with the 5-fluorouracil/leucovorin/oxaliplatin (FOLFOX4) regimen. *Pharmacogenomics J.* **13**, 403–409 (2013).
101. Han, B. *et al.* Association of ABCC2 polymorphisms with platinum-based chemotherapy response and severe toxicity in non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* **72**, 238–243 (2011).
102. Sabbagh, A. & Darlu, P. Data-mining methods as useful tools for predicting individual drug response: application to CYP2D6 data. *Hum. Hered.* **62**, 119–134 (2006).
103. Nichetti, F. *et al.* Is a pharmacogenomic panel useful to estimate the risk of oxaliplatin-related neurotoxicity in colorectal cancer patients? *Pharmacogenomics J.* **19**, 465–472 (2019).
104. Botticelli, A. *et al.* A nomogram to predict 5-fluorouracil toxicity: when pharmacogenomics meets the patient. *Anticancer. Drugs* **28**, (2017).
105. Hougaard, P. Multi-state Models: A Review. *Lifetime Data Anal.* **5**, 239–264 (1999).
106. Hertz, D. L. *et al.* Genotyping concordance in DNA extracted from formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) breast tumor and whole blood for pharmacogenetic analyses. *Mol Oncol* **9**, 1868–1876 (2015).
107. van Huis-Tanja, L. *et al.* Concordance of genotype for polymorphisms in DNA isolated from peripheral blood and colorectal cancer tumor samples.

- Pharmacogenomics* **14**, 2005–2012 (2013).
108. Hamzic, S. *et al.* Evaluating the role of ENOSF1 and TYMS variants as predictors in fluoropyrimidine-related toxicities: An IPD meta-analysis. *Pharmacol. Res.* **152**, 104594 (2020).
109. Meulendijks, D. *et al.* Pharmacogenetic variants associated with outcome in patients with advanced gastric cancer treated with fluoropyrimidine and platinum-based triplet combinations: a pooled analysis of three prospective studies. *Pharmacogenomics J.* **17**, 441–451 (2017).
110. Rosmarin, D. *et al.* A candidate gene study of capecitabine-related toxicity in colorectal cancer identifies new toxicity variants at DPYD and a putative role for ENOSF1 rather than TYMS. *Gut* **64**, 111–120 (2015).
111. Jennings, B. A. *et al.* Functional polymorphisms of folate metabolism and response to chemotherapy for colorectal cancer, a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenet. Genomics* **22**, (2012).
112. Han, J., Kamber, M. & Pei, J. 8 - Classification: Basic Concepts. in *The Morgan Kaufmann Series in Data Management Systems* (eds. Han, J., Kamber, M. & Pei, J. B. T.-D. M. (Third E.) 327–391 (Morgan Kaufmann, 2012).
doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381479-1.00008-3>
113. Kuhn, M. Building Predictive Models in R Using the caret Package. *J. Stat. Software; Vol 1, Issue 5* (2008). doi:10.18637/jss.v028.i05

8. ANEXO 1

TABLAS SUPLEMENTARIAS

Tabla Suplementaria 1. Identificación de las sondas para cada polimorfismo analizado.

Gen	SNP ID	ID assay*
<i>GSTP1</i>	rs1695 A>G	C__3237198_20
<i>ERCC2</i>	rs13181 T>G	C__3145033_10
<i>TP53</i>	rs1042522 C>G	C__2403545_10
<i>UMPS</i>	rs1801019 G>C	C__1901477_10
<i>SHMT1</i>	rs1979277 G>A	C__3063127_10
<i>MTHFR</i>	rs1801131 T>G	C__850486_20
<i>ABCC2</i>	rs717620 C>T	C__2814642_10
<i>DPYD</i>	rs55886062 A>C	C__11985548_10
<i>DPYD</i>	rs2297595 T>C	C__16187014_20
<i>DPYD</i>	rs1801159 T>C	C__1823316_20
<i>DPYD</i>	rs1801265 A>G	C__9491497_10
<i>ERCC1</i>	rs11615 A>G	C__2532959_20

* "ID assay" de acuerdo a *Thermofisher*

Tabla Suplementaria 2. Análisis de asociación de subgrupos de acuerdo al sexo para el polimorfismo *DPYD* (rs1801159).

Hombres

Gen SNP ID	Modelo	Genotipos	Controles (N = 40) N (%)	Casos (N = 19) N (%)	OR (95% IC)	p-valor
<i>DPYD</i>						
rs1801265 A>G						
	Dom	A/A	27 (67,5%)	4 (21,1%)	Ref	0,001
		A/G-G/G	13 (32,5%)	15 (78,9%)	7,78 (2,31-31,79)	

Mujeres

Gen SNP ID	Modelo	Genotipos	Controles (N = 20) N (%)	Casos (N = 12) n (%)	OR (95% IC)	p-valor
<i>DPYD</i>						
rs1801265 A>G						
	Dom	A/A	13 (65,0%)	6 (50,0%)	Ref	0,40
		A/G-G/G	7 (35,0%)	6 (50,0%)	1,85 (0,43- 8,26)	

Dom: Dominante

Significancia: $p < 0.05$

FIGURAS SUPLEMENTARIAS

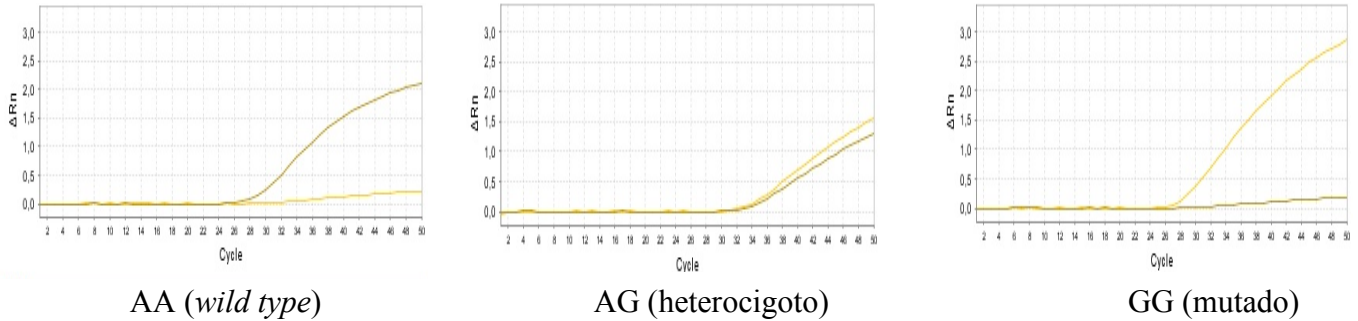


Figura suplementaria 1. Curvas representativas del ensayo de PCR en Tiempo Real. Se ejemplifica para el caso de la sonda *Taqman* para el SNP GSTP1 rs1695 A>G. En color mostaza alelo A y en color amarillo alelo G.

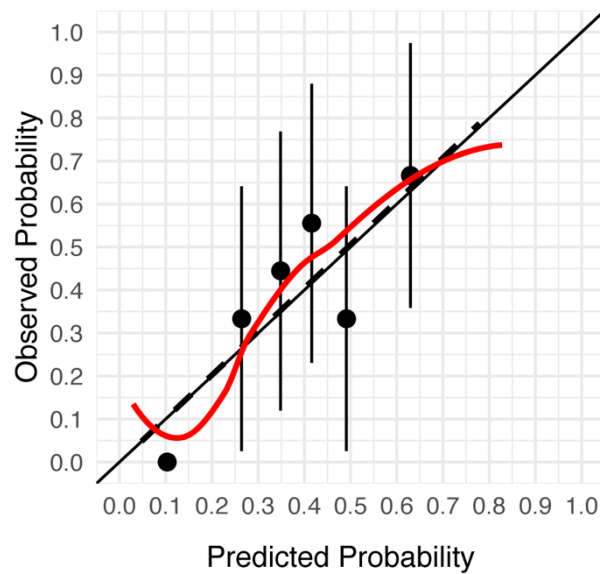


Figura suplementaria 2. Diagrama de calibración para el nomograma propuesto.

Línea continua, modelo ideal; Línea roja, desviación ideal del modelo, Barras verticales; Intervalo de confianza del 95%

METODOS SUPLEMENTARIOS

Algoritmos de clasificación

Se usaron 7 algoritmos de clasificación comúnmente usados^{35,112}. El *output* consistió en toxicidad severa (grado 0-2 vs grado 3-4), como una variable binaria.

Para todos los algoritmos, se usó 5-veces *cross-validation* para evaluar la predicción de los modelos. Además, un 60% de los pacientes se asignó al grupo de entrenamiento y un 40% para el grupo de testeo. Brevemente, los datos fueron aleatoria y alternadamente divididos en 5 grupos, en cada “cross validacion” 4 grupos se usaron para entrenar el modelo y 1 grupo para to test the prediction accuracy. Esto fue repetido 5 veces y el promedio fue usado como valor de predicción general. Además, todos los algoritmos fueron realizados con los parámetros por *default*. Por lo tanto, sin buscar la maximización de cada uno de ellos.

Regresión Logística (LR)

Es un metodo multivariado que modela como una variable de respuesta binaria depende de un grupo de variables explicatorias.

Puede ser escrito de la siguiente forma:

$$P(Y = 1 | X_1, X_2, \dots, X_n) = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_n x_n)}}$$

Donde, $P(Y = 1 | X_1, X_2, \dots, X_n)$ es la probabilidad de que un paciente desarrolle toxicidad severa, X_1, X_2, \dots, X_n son los predictores, β_0 es el intercepto y $\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n$ son los coeficientes de regresión.

“Support Vector Machine” (SVM)

“Support Vector Machine” es un modelo supervisado de aprendizaje usado para problemas de clasificación. En nuestro trabajo usamos SVM lineal, el cual crea una función lineal para separar las variables de acuerdo a las diferentes clases (en nuestro caso, toxicidad severa). El objetivo de este algoritmo es encontrar un hiperplano en un espacio N-dimensional (N - el número de características) que clasifica claramente los puntos de datos. Para la clasificación utilizamos el paquete "kernlab" con parámetros de ajuste: Costo (C, numérico)¹¹³.

“Naïve Bayesian” (NB)

Este algoritmo de clasificación se basa en la aplicación del “teorema de Bayes” con el supuesto "Naïve" de independencia condicional entre cada par de características dado el valor de la variable de clase (toxicidad severa). El “teorema de Bayes” puede ser escrito:

$$P(H | X_1, X_2, \dots, X_n) = \frac{P(X_1, X_2, \dots, X_n | H)P(H)}{P(X_1, X_2, \dots, X_n)}$$

Donde, $P(H | X_1, X_2, \dots, X_n)$ es la probabilidad a posteriori de un paciente de tener o no toxicidad severa. X_1, X_2, \dots, X_n son las variables de cada paciente, P(H) es la probabilidad previa que resulta de la muestra de entrenamiento, P(X) es la probabilidad marginal de que el atributo aparezca en la muestra de entrenamiento.

“K-Nearest Neighbor” (KNN)

Este algoritmo clasifica el *outcomes* (toxicidad severa o no) buscando los valores de los datos “más similares” por cercanía, aprendidos en la etapa de entrenamiento. Para medir la proximidad entre variables, se utiliza la distancia euclidiana. Se utilizó la precisión para seleccionar el valor K óptimo¹¹³.

“Artificial Neural Network” (ANN)

Artificial Neural Network es una red de grupos de pequeñas unidades de procesamiento que modela según el comportamiento de las redes neuronales humanas. Utilizamos *Feed-Forward Neural network*. La red está compuesta por diferentes capas en las cuales los nodos se distribuyen. Los nodos en las capas *input* reciben la información, luego nodos en las capas *hidden* las procesan y estos finalmente en las capas *output* entregan la clasificación. En nuestro caso el *input* fueron las variables de los pacientes, mientras que el *output* fue toxicidad severa. Se usó la exactitud para seleccionar el número óptimo de capas y *decays*¹¹³.

“Random Forest” (RF)

Random Forest es un modelo de clasificación basado en árboles. Este algoritmo utiliza muchos modelos de árbol de clasificación o regresión para subconjuntos aleatorios de los datos *inputs* y utiliza el resultado combinado (*forest*) para la predicción. Es una técnica de clasificación con un poderoso desempeño al usar *bagging* y selección de variables aleatorias para la construcción del árbol. La exactitud se utilizó para seleccionar el número de variables disponibles para dividir en cada nodo de árbol (*mtry*), regla de división y tamaño mínimo de nodo¹¹³.

“Decision Tree” (DT)

Decision Tree es un modelo gráfico no lineal con forma de diagrama de flujo fácil de interpretar e implementar. Brevemente, lo que hace este algoritmo es encontrar la variable independiente (características de los pacientes) que mejor separa nuestros datos en grupos, que corresponden con las categorías de la variable objetivo (toxicidad severa). Esta mejor separación es expresada con una **regla**. A cada **regla** corresponde un **nodo**. Se utilizó la exactitud para seleccionar el valor de *cp* óptimo¹¹³.

Evaluación de desempeño

El desempeño de cada modelo fue estimado de acuerdo al cálculo de sensibilidad, especificidad y exactitud.

Usando una matriz de confusión de 2x2, cada uno de los parámetros se calculan de la siguiente manera.

Tabla

	Referencia	
Predicción	Evento	No Evento
Evento	A	B
No evento	C	D

$$\text{Sensibilidad} = A/(A + C)$$

$$\text{Especificidad} = D/(B + D)$$

$$\text{Exactitud} = (A + D)/(A + B + C + D)$$

También, la capacidad de predicción fue evaluada por el área bajo la curva (ABC) de *receiver operating characteristic (ROC) curve*.

APROBACIONES ETICAS



FACULTAD DE MEDICINA
PONTIFICIA UNIVERSIDAD
CATÓLICA DE CHILE

COMITÉ ÉTICO CIENTÍFICO | CEC MED UC

CERTIFICADO
DE APROBACIÓN
CEC-MEDUC

Santiago, 21 de abril de 2016.

SE APROBÓ EL SIGUIENTE PROYECTO

Número Proyecto: 16-046

Investigador Responsable: Garrido, Marcelo
Departamento de Hematología y Oncología

Financiamiento: Centro de Excelencia en Medicina de Precisión Pfizer

Título PROYECTO: Identificación de subtipos moleculares asociados a pronóstico y predicción de respuesta a terapia en adenocarcinoma gástrico. " The CITO Gastric Classification Project.

Se acusa recibo de los siguientes documentos:

Carta del investigador responsable solicitando la revisión y aprobación de nuevo estudio en referencia

Carta de respaldo del Jefe del Departamento de Hematología y Oncología, Dr. Mauricio Oquedeau

Documentos revisados y aprobados por el comité:

Protocolo de investigación, versión 2.0 del 15 de febrero de 2016

Documento de consentimiento informado, versión 2.0 del 15 de febrero de 2016

Solicitud para la aprobación de investigación que involucre seres humanos o uso de muestras humanas.

Ficha de revisión expedita.

Resolución del CEC Med UC :

Este proyecto ha sido aprobado con fecha 21 de abril de 2016 y tiene vigencia de un año. A contar del 20 de abril de 2017 el investigador responsable deberá solicitar al Comité de Ética la renovación anual del estudio si desea continuar con él.

Se solicita, previo al reclutamiento de pacientes/participantes, firmar la última versión aprobada del documento de consentimiento informado y velar, como Investigador Responsable por la realización del proceso de consentimiento informado, utilizando las copias de la versión original (firmadas y firmadas por el CEC MedUC).

Por favor lea cuidadosamente la hoja anexa a esta carta en la que se indican todas sus responsabilidades como investigador responsable de este estudio.

Se le solicita en toda futura correspondencia hacer referencia al número del Proyecto asignado 16-046

Le saluda atentamente,


DRA. BEATRIZ SHAND KLAGGES
Presidente CEC-MedUC

EN CASO DE CUALQUIER DUDA SE LE SOLICITA CONTACTARSE CON EL CEC Med UC

Se certifica que la información contenida en el presente documento es correcta y que refleja el acta del Comité Ético Científico de la Facultad de Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile. Este Comité adhiera a los principios éticos de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica que consideramos como el fundamento fundamental el respeto a la dignidad de la persona humana en cualquier condición, desde el momento de la concepción hasta la muerte natural. Este Comité cumple además con los guías de buena práctica clínica definidas por la comunidad internacional de acreditación (GCP-ICH) y con las leyes chilenas 20.128

COPIA CONSENTIMIENTOS

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



"CONSENTIMIENTO GENÉRICO PARA ENTREGA DE MUESTRAS DE CÁNCER GÁSTRICO Y SANGRE PARA INVESTIGACIÓN MÉDICA"

**Investigadores
Responsables:**

Dr. Gareth Owen, gowen@bio.puc.cl, fono: 23542874
Dr. Marcelo Garrido, mgarrido@med.puc.cl, fono: 23546900
Dra. María Loreto Bravo, mlbravo@uc.cl, fono: 23542874
Dr. José Cristian Plaza, jplaza@uc.cl, fono: 23544034

Depto./UDA:

Departamento de Fisiología, Unidad de Reproducción y Desarrollo de la
Facultad de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de
Chile,
Centro de Cáncer, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica
de Chile.
Departamento de Farmacia, Facultad de Química, Pontificia Universidad
Católica de Chile.

El propósito de esta información es ayudarle a tomar la decisión de participar en una investigación médica donando parte de tejidos biológicos sobrante de sus intervenciones médicas.

Tome el tiempo que requiera para decidirse, lea cuidadosamente este documento y hágale las preguntas que desee al médico o al personal de los estudios.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Nosotros estamos interesados en conocer mejor el comportamiento de cáncer gástrico con el fin de encontrar nuevos tratamientos que sean eficaces. También buscamos nuevas formas de identificar la respuesta que los pacientes presentan a los diferentes tratamientos contra este cáncer e identificar un patrón de marcadores biológicos que prediga la respuesta a determinados tratamientos anticáncer gástrico.

Para realizar este estudio es necesario que participen tanto pacientes quienes hayan sido recientemente diagnosticados con cáncer gástrico, así como también personas sin cáncer y que se encuentren afectados de otras patologías gástricas de carácter benigno. Ello con la intención de poder comparar ambos grupos (pacientes con y sin cáncer), una serie de factores que se relacionarían con la evolución del cáncer gástrico.


28 MAYO 2015

PROCEDIMIENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

Si usted padece de cáncer gástrico y el equipo médico a su cargo ha decidido realizar cirugía que involucre la extirpación parcial o completa de las masas tumorales y/o la extracción de líquido ascítico. Le solicitamos que, de las masas o líquido extirpado, que serán enviados al Laboratorio de Anatomía- Patológica, nos permita tomar una pequeña muestra para el desarrollo de poblaciones de células las cuales se pueden mantener vivas en medios de cultivo especiales. Además le solicitamos que nos permita tomar una muestra de sangre (10 ml., equivalentes a una cucharada de sopa) el día antes o en momentos previos a su cirugía.

En las muestras de sangre, se realizarán diferentes estudios genéticos relacionados a la forma en que el organismo elimina los medicamentos anti-cáncer gástrico. No se harán otros estudios genéticos. En caso que quisiéramos usarlas en el futuro para otros estudios no relacionados con el cáncer gástrico se le pedirá que firme un nuevo consentimiento.

Las muestras serán almacenadas en un banco de muestras por tiempo indefinido, en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile, a cargo de los investigadores responsables Dr. Gareth Owen y Dra. María Loreto Bravo. Las muestras serán almacenadas codificadas, es decir el acceso a su nombre e información médica está limitado sólo a los investigadores arriba identificados.

Hacemos énfasis en que ninguno de los estudios que haremos dañará su salud, ni afectará el proceso de diagnóstico o tratamiento de su patología. Si de la investigación se obtuviesen datos que fuesen relevantes para usted y su enfermedad, se le comunicarán los resultados obtenidos, así como a su médico tratante. Dado que estamos en etapas muy tempranas de las investigaciones, es muy improbable que los resultados de estas modifiquen el diagnóstico y/o el tratamiento que está recibiendo para su enfermedad.

BENEFICIOS

Usted no se beneficiará por participar en esta investigación médica. Sin embargo, la información que se obtendrá será de utilidad para conocer más acerca de su enfermedad y eventualmente podría beneficiar a otras personas con su misma condición.

Los posibles beneficios de este estudio son la contribución al avance científico y a la comunidad médica para mejorar la calidad de tratamiento de pacientes con cáncer gástrico en Chile.

RIESGOS

Las investigaciones que desemos hacer en el material biológico (masas tumorales) no tienen riesgo para usted.

La única molestia eventual puede ser la aparición de un pequeño hematoma (moretón) en la zona de toma de muestra sanguínea (zona de punción), lo cual es infrecuente y no representa un riesgo relevante para su salud.

COSTOS

Su participación en este estudio no implica ningún costo para usted. Asimismo su decisión de acceder o no a participar, en nada afectará el cuidado que tendrá por parte de su equipo médico y en los costos de su tratamiento, los cuales son financiados por usted.

COMPENSACIONES

Su participación en este estudio no contempla ninguna compensación por participación, daños o lesiones relacionadas con su propia enfermedad.

28 MAYO 2015



CONFIDENCIALIDAD DE LA INFORMACIÓN

Se le asegura que tanto el investigador principal como los demás integrantes del grupo de investigación garantizarán la privacidad de la información que surja del estudio.

La muestra será almacenada mediante un código, el cual no revelará información personal y a la cual sólo tendrán acceso los investigadores del mencionado proyecto. Es posible que los resultados obtenidos sean presentados en revistas y conferencias médicas, sin embargo, su nombre no será conocido. Los datos obtenidos serán custodiados, garantizando discreción y confidencialidad. Las muestras obtenidas serán codificadas a modo de mantener su anonimato. Asimismo solo su equipo médico tratante o relacionado con la investigación podrá tener acceso a los datos relacionados con su enfermedad especificados en su ficha médica.

VOLUNTARIEDAD

Su participación en esta investigación es completamente voluntaria. Usted tiene el derecho a no aceptar participar o a retirar su consentimiento y retirarse de esta investigación en el momento que lo estime conveniente. Al hacerlo, usted no pierde ningún derecho que le asiste como paciente de esta institución y no se verá afectada la calidad de la atención médica que merece.

Si usted retira su consentimiento, sus muestras serán eliminadas y la información obtenida no será utilizada.

PREGUNTAS

Si tiene preguntas acerca de esta investigación médica puede contactar a los investigadores responsables Dr. Gareth Owen, gowen@bio.puc.cl, fono: 23542874, Dr. Marcelo Garrido, mgarrido@med.puc.cl, fono: 23546900.

Si tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en una investigación médica, usted puede contactar a la Dra. Beatriz Shand K., Presidenta del Comité Ético Científico de la Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, al mail: etica.investigacion@med.puc.cl o al fono: 23548173.



28 MAYO 2015

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO

- Se me ha explicado el propósito de esta investigación médica, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y los derechos que me asisten y que me puedo retirar de ella en el momento que lo desee.
- Firmo este documento voluntariamente, sin ser forzado a hacerlo.
- No estoy renunciando a ningún derecho que me asista.
- Se me comunicará de toda nueva información relacionada con el estudio que surja durante el estudio y que pueda tener importancia directa para mi condición de salud.
- Se me ha informado que tengo el derecho a reevaluar mi participación según mi parecer.
- Yo autorizo al investigador principal y a sus colaboradores el acceso y uso de los datos contenidos en mi ficha clínica para fines de esta investigación.
- Se me entrega copia firmada de este documento.

FIRMAS:

- Participante

Nombre:..... Firma:.....

Fecha:.....

- Investigador:

Nombre:..... Firma:.....

Fecha:.....

- Director de la Institución o su Delegado:

Nombre:..... Firma:.....

Fecha:.....

28 MAYO 2015



9. ANEXO 2

Lista de SNPs asociados a toxicidad por fluoropirimidinas

Gen	SNP id	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
ABCC11	rs7194667	3	G (0.06)	Leucopenia	Intrónica	na	na
ABCC2	rs717620	3	T (0.17)	Toxicidad	Intragénica	na	na
ABCC4	rs9561778	3	T (Sd)	Toxicidad	Intrónica	na	na
ABCC5	rs3749438	3	A (0.29)	Toxicidad	Intrónica	na	na
ABCC5	rs10937158	3	C (0.59)	Toxicidad	Intrónica	na	na
ABCC5	rs1045642	3	A (0.43)	Toxicidad	Silente	na	na
ABCG1	rs225440	3	T ((0.42)	Neutropenia	Intrónica	na	na
DPYD	rs67376798	1A	A (0.00)	Diarrea	Cambio de aa	0	0.61
DPYD	rs3918290	1A	T (0.00)	Toxicidad Fatal	Intrónica	na	na
DPYD	rs55886062	1A	C (0.00)	Toxicidad	Cambio de aa	0	0.977
DPYD	rs2297595	2A	C (0.06)	Toxicidad fatal	Cambio de aa	0	0.976
DPYD	rs1801159	3	C (0.27)	Toxicidad	Cambio de aa	0.04	0.001
DPYD	rs1801158	3	T (0.01)	Toxicidad	Cambio de aa	0.01	0.767
DPYD	rs1801265	3	G (0.22)	Toxicidad	Cambio de aa	0.41	0
DPYD	rs17376848	3	G (0.08)	Toxicidad	Silente	na	na
DPYD	rs75017182	3	G (0.99)	Toxicidad	Intrónica	na	na
DPYD	rs115232898	3	C (0.00)	Toxicidad	Cambio de aa	0.01	0.95
ERCC1	rs11615	2B	A (0.39)	Nefrotoxicidad	Silente	na	na
ERCC2	rs13181	3	T (0.79)	neutropenia/gastrointestinal	Cambio de aa	trunca	trunca
GSTP1	rs1695	2A	A (0.52)	Cardiotoxicidad	Cambio de aa	1	0.001
MTHFR	rs1801131	3	T (0.15)	Toxicidad	Cambio de aa	0.15	0.005
PAR3B	rs17626122	3	T (0.37)	Toxicidad	Intrónica	na	na
SHMT1	rs1979277	3	A (0.27)	Toxicidad	Cambio de aa	0.04	0
TP53	rs1042522	2B	G (0.32)	Toxicidad	Cambio de aa	0.57	0.143
TYMP	rs11479	3	A (0.17)	Toxicidad	Cambio de aa	trunca	
TYMS	rs183205964	3	C (0.00)	Toxicidad severa	Intrónica	na	na
UMPS	rs1801019	2B	C(0.26)	T. gastrointestinal	Cambio de aa	0.32	0.025

Sistema de Ranking

Gen	SNP id	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	Puntaje final
GSTP1	rs1695	3	3	2	4	0.5	0.5	13
ERCC2	rs13181	2	4	2	4	0	0	12
TP53	rs1042522	2	3	2	4	0.5	0.5	12
UMPS	rs1801019	3	2	2	4	0.5	0.5	12
DPYD	rs55886062	4	0	2	4	1	1	12
DPYD	rs2297595	3	1	2	4	1	1	12
SHMT1	rs1979277	2	2	2	4	1	0.5	11.5
DPYD	rs1801159	2	2	2	4	1	0.5	11.5
DPYD	rs67376798	4	0	1	4	1	1	11
DPYD	rs1801158	2	1	2	4	1	1	11
DPYD	rs75017182	2	4	2	2	0	0	10
MTHFR	rs1801131	2	1	2	4	0.5	0.5	10
DPYD	rs1801265	2	1	2	4	0.5	0.5	10

DPYD	rs115232898	2	0	2	4	1	1	10
ABCC5	rs10937158	2	3	2	2	0	0	9
TYMP	rs11479	2	1	2	4	0	0	9
ERCC1	rs11615	3	2	2	2	0	0	9
ABCG1	rs225440	2	2	2	2	0	0	8
ABCC5	rs1045642	2	2	2	2	0	0	8
DPYD	rs3918290	4	0	2	2	0	0	8
ABCC5	rs3749438	2	2	2	2	0	0	8
PAR3B	rs17626122	2	2	2	2	0	0	8
ABCC11	rs7194667	2	1	2	2	0	0	7
ABCC2	rs717620	2	1	2	2	0	0	7
DPYD	rs17376848	2	1	2	2	0	0	7
ABCC4	rs9561778	2	0	2	2	0	0	6
TYMS	rs183205964	2	0	2	2	0	0	6

Puntaje Promedio	10
Corte, SNPs sobre el promedio	igual o superior al promedio de puntaje

(1) Nivel de evidencia, según *pharmaGKB* para nivel de evidencia 1 se asigna un puntaje de 4 y para nivel 4 un puntaje de 1.

(2) Frecuencia del alelo de riesgo en población americana según 1000-G project, de 1 a 25%, de 26 a 50%, de 51 a 75% y de 76 a 99% se asigna un valor de 1, 2, 3 y 4, respectivamente.

(3) Relación con efecto adverso más reportado, si corresponde a un efecto adverso hematológico, gastrointestinal o neurológico se asigna un valor de 2 y si no corresponde se asigna valor de 1.

(4) Tipo de mutación que produce, para una mutación inter/intragénica, silente, intrónica se asigna un valor de 2 y para un cambio en la secuencia de aminoácidos un valor de 4.

(5) Score SIFT Ranges from 0 to 1. Para las toleradas se asignará un puntaje de 0,5 y para las dañinas de 1.

(6) Score PolyPhen. Se asignará un valor de 0,5 para las variaciones benignas y 1 para las dañinas.

Lista de SNPs asociados a toxicidad por platinos

Gen	SNP id	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
<i>XRCC1</i>	rs25487	2B	C (0.69)	Neutropenia	Cambio de aa	0.6	0
<i>ERCC1</i>	rs3212986	2B	C (0.65)	Nefrotoxicidad	3' UTR	na	na
<i>PARD3B</i>	rs17626122	3	T (0.38)	Toxicidad Hematológica	Intrónica	na	na
<i>ABCC2</i>	rs717620	3	C (0.83)	Neurotoxicidad	5'UTR	na	na
<i>ABCC2</i>	rs717620	3	T (0.17)	Toxicidad Hematológica	5'UTR	na	na
<i>GSTP1</i>	rs1695	3	A (0.52)	Neurotoxicidad	Cambio de aa	sd	sd
<i>ERCC2</i>	rs13181	3	G (0.21)	Toxicidad Hematológica	Cambio de aa	trunca	trunca
<i>ERCC1</i>	rs11615	3	A (0.39)	Toxicidad Hematológica	Cambio de aa	sinónima	sinónima

Sistema de Ranking

Gen	SNP id	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	Puntaje final
<i>XRCC1</i>	rs25487	3	3	2	4	0.5	0.5	13
<i>GSTP1</i>	rs1695	2	3	2	4	0	0	11
<i>ABCC2</i>	rs717620	2	4	2	2	0	0	10
<i>ERCC1</i>	rs11615	2	2	2	4	0	0	10
<i>ERCC1</i>	rs3212986	3	3	1	2	0	0	9
<i>ERCC2</i>	rs13181	2	1	2	4	0	0	9
<i>PARD3B</i>	rs17626122	2	2	2	2	0	0	8
<i>ABCC2</i>	rs717620	2	1	2	2	0	0	7

Puntaje Promedio	10
Corte, SNPs sobre el promedio	igual o superior al promedio de puntaje

(1) Nivel de evidencia, según *pharmaGKB* para nivel de evidencia 1 se asigna un puntaje de 4 y para nivel 4 un puntaje de 1.

(2) Frecuencia del alelo de riesgo en población americana según 1000-G project, de 1 a 25%, de 26 a 50%, de 51 a 75% y de 76 a 99% se asigna un valor de 1, 2, 3 y 4, respectivamente.

(3) Relación con efecto adverso más reportado, si corresponde a un efecto adverso hematológico, gastrointestinal o neurológico se asigna un valor de 2 y si no corresponde se asigna valor de 1.

(4) Tipo de mutación que produce, para una mutación inter/intragénica, silente, intrónica se asigna un valor de 2 y para un cambio en la secuencia de aminoacídica un valor de 4

(5) Score SIFT Ranges from 0 to 1. Para las toleradas se asignará un puntaje de 0,5 y para las dañinas de 1

(6) Score PolyPhen. Se asignará un valor de 0,5 para las variaciones benignas y 1 para las dañinas.

10. ANEXO 3

Datos brutos de los 93 pacientes incluidos en este estudio.

Demográficos						
Código	Sexo Masculino= 0 Femenino= 1	Edad	ECOG	Etapas	Ubicación An=0 , Ca=1, Cu=2, Es=3, Fo=4, Mu=5, Pi=6	Compromis o Peritoneal No=0 Si=1
GCTF00003	0	68	1	III	1	0
GCTF00004	0	60	1	III	1	0
GCTF00006	1	64	0	II	0	0
GCTF00007	1	58	1	III	0	0
GCTF00008	0	71	1	II	3	0
GCTF00010	0	64	2	IV	4	1
GCTF00012	0	56	0	IV	2	0
GCTF00013	1	74	1	III	2	0
GCTF00014	1	54	1	IV	2	0
GCTF00015	0	53	0	III	3	0
GCTF00016	0	70	0	II	2	0
GCTF00018	1	70	2	III	2	0
GCTF00019	0	62	0	III	3	0
GCTF00022	0	37	1	II	2	0
GCTF00023	1	54	0	III	2	0
GCTF00024	0	57	0	II	6	0
GCTF00026	0	33	0	III	0	0
GCTF00027	0	69	0	III	1	0
GCTF00028	1	29	1	III	0	0
GCTF00029	0	51	1	II	3	0
GCTF00033	1	64	0	III	0	0
GCTF00035	0	77	0	IV	0	0
GCTF00037	0	26	0	IV	5	0
GCTF00039	0	46	1	III	3	0
GCTF00040	0	63	1	III	2	0
GCTF00041	0	58	0	II	4	0
GCTF00046	1	58	0	III	0	0
GCTF00050	0	41	1	III	3	0
GCTF00053	0	50	1	IV	1	0

GCTF00054	1	62	0	II	1	0
GCTF00055	1	49	0	IV	2	0
GCTF00059	1	72	1	III	0	0
GCTF00060	0	78	0	III	3	0
GCTF00061	0	52	0	I	6	0
GCTF00063	1	63	NA	III	NA	0

GCTF00065	1	54	NA	IV	2	1
GCTF00066	0	69	0	II	6	0
GCTF00072	0	63	NA	III	0	0
GCTF00075	0	63	1	II	2	0
GCTF00076	0	69	0	III	3	0
GCTF00077	0	65	1	III	0	0
GCTF00078	1	51	0	II	0	0
GCTF00088	0	55	0	II	1	0
GCTF00090	0	66	1	III	5	0
GCTF00091	1	59	1	II	4	0
GCTF00096	0	56	0	III	6	0
GCTF00097	0	71	1	III	2	0
GCTF00098	1	50	0	III	2	0
GCTF00099	1	39	0	II	5	0
GCTF00100	0	65	0	II	2	0
GCTF00104	0	65	0	II	2	0
GCTF00113	0	56	1	III	0	0
GCTF00119	1	43	1	III	2	0
GCTF00121	0	59	1	III	0	0
GCTF00122	0	78	1	III	2	0
GCTF00123	1	79	1	II	2	0
GCTF00126	0	68	1	III	4	0
GCTF00127	0	72	1	III	4	0
GCTF00130	0	51	1	II	0	0
GCTF00132	0	63	0	I	0	0
GCTF00133	0	76	NA	II	1	0
GCTF00136	1	35	NA	III	2	0
GCTF00140	0	61	0	III	2	0
GCTF00141	1	74	NA	IV	0	0
GCTF00142	1	59	NA	IV	2	0
GCTF00143	1	75	NA	II	1	0
GCTF00145	0	28	NA	III	3	0
GCTF00150	1	53	1	III	0	0
GCTF00152	0	49	1	II	1	0
GCTF00156	0	65	0	III	2	0
GCTF00161	0	68	1	II	0	0
GCTF00162	1	45	0	IV	5	1
GCTF00163	1	59	1	III	5	0
GCTF00177	0	50	0	III	3	0
GCTF00179	0	46	0	I	2	0
GCTF00191	0	64	1	IV	3	0
GCTF00194	0	54	0	IV	2	0
GCTF00201	1	42	0	IV	1	1

GCTF00207	0	43	1	IV	5	1
GCTF00209	0	78	1	IV	5	1
GCTF00220	0	61	1	II	2	0
GCTF00426	1	57	0	III	2	0
GCTF00433	0	62	0	III	3	0
GCTF00443	0	69	1	IV	3	1
GCTF00474	1	43	1	III	5	0
GCTF00475	0	53	0	II	1	0
GCTF00476	0	77	2	III	3	0
STORM1	1	59	0	IV	2	1
STORM2	0	65	NA	IV	2	0
STORM3	1	35	NA	III	NA	0
STORM4	1	42	NA	IV	0	0
STORM5	0	38	0	IV	NA	0
STORM6	0	64	0	IV	2	1

			Morbilidades			
Lauren Difuso=0 Intestinal=1 Mixto=2	Tipo histologico OMS Ad=0, UnCar=1, SquaCar=2, AdeSquaCar =3	Presencia de células en anillo de sello No=0 Si=1	Cardiopatía Crónica No=0 Si=1	Enfermedad Vascular Periférica No=0 Si=1	Evento tromboemb ótico previo No=0 Si=1	Enfermedad cerebrovas cular No=0 Si=1
1	0	0	1	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0
1	0	0	1	1	0	0
NA	1	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
NA	1	0	0	0	0	0
0	3	0	0	0	0	0
NA	NA	1	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
2	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
0	NA	1	0	0	0	0
0	1	1	0	0	0	0
1	NA	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
2	NA	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
1	NA	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0
NA	NA	0	0	0	0	0

0	NA	1	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
NA	1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
2	0	1	1	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
NA	0	0	0	0	1	0
NA	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
NA	NA	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
0	NA	1	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
NA	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0
NA	0	0	0	0	0	0
2	0	0	1	0	0	0
NA	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
NA	NA	1	0	0	1	0
NA	NA	0	1	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
0	NA	1	0	0	0	0
NA	NA	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	1
0	NA	1	0	0	0	0
NA	NA	0	0	0	0	0
NA	0	0	0	0	0	0
NA	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
NA	0	0	0	0	0	0
1	0	0	1	0	0	0
NA	0	0	0	0	0	0
NA	0	0	0	0	0	0
NA	0	1	0	0	0	0

NA	0	1	0	0	0	0
NA	0	1	0	0	0	0
1	0	1	1	0	0	0
NA	0	1	0	0	0	0
NA	0	0	0	0	0	0
NA	0	0	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0
1	0	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0
0	NA	1	0	0	0	0
0	0	1	0	0	0	0

						Tratamiento
Enfermedad d Pulmonar Crónica No=0 Si=1	Demencia No=0 Si=1	Enfermedad d Hepática crónica No=0 Si=1	Diabetes No=0 Si=1	Enfermedad d renal crónica No=0 Si=1	Inmunodefi ciencia Adquirida No=0 Si=1	Cirugía del tumor primario No=0 Si=1
0	0	0	1	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	1	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	1	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0

0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	1	0	1
0	0	0	0	0	0	1

s		Grados de Toxicidades (0-4)				
Tipo de tratamiento donde se usó Plat/Pyr	Esquema	Anemia	Neutropenia	Neutropenia febril	Trombocitopenia	Náuseas
QMT Peri	FOLFOX	0	3	3	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QRT Ady	RDT_5FU_Le	0	0	0	0	1
QRT Ady	RDT_5FU_Le	0	0	0	0	0
QMT Peri	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	DCFm	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	2	2
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	3
QMT Peri	CF	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	FOLFOX	0	0	0	0	0
QRT Ady	RDT_Cis_Cap	0	0	0	0	2
QMT Peri	ECF	0	0	0	0	4
QMT Peri	CF	0	3	0	0	2
QMT Ady	FOLFOX	0	0	0	0	1
QMT Peri	CF	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	3	3	0	0
QMT Peri	CF	0	0	3	0	0
QMT Peri	DCFm	0	0	0	0	2
QMT Peri	CF	0	2	0	0	0
QMT Peri	EOX	0	2	0	0	1
QMT Peri	CF	0	4	0	2	2
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	DCFm	1	0	0	1	1
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Peri	CF	0	2	0	0	2
QMT Ady	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Peri	CF	0	0	0	0	1
QMT Peri	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	FOLFOX	0	0	0	0	2

QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
------------	--------	---	---	---	---	---

QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Peri	CF	0	0	0	0	1
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Peri	CF	0	0	0	0	1
QMT Peri	EOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	FOLFOX	0	0	0	0	1
QMT Peri	ECF	0	3	0	0	3
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	2	0
QMT Peri	FOLFOX	2	3	0	0	2
QMT Peri	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	0	0
QMT Peri	CAPEOX	3	0	0	0	0
QMT Ady	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	FOLFOX	0	0	0	0	1
QMT Peri	FOLFOX	0	0	0	0	0
QRT Ady	RDT_5FU_Le	0	0	0	0	0
QMT Ady	Capecitabina	0	0	0	0	0
QMT Ady	FOLFOX	0	0	0	2	2
QMT Peri	CAPEOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	Capecitabina	0	0	0	0	0
QRT Peri	RDT_Oxi_Ca	2	1	0	0	0
QMT Ady	CAPEOX	2	0	0	0	0
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	1	0
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	2	1
QMT Peri	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Ady	FOLFOX	0	3	0	0	2
QMT Peri	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	CAPEOX	0	0	0	0	2
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	2	1
QMT Peri	FOLFOX	0	4	0	0	0
QMT Peri	FLOT	0	3	0	0	0
QMT Peri	FOLFOX	0	0	0	0	1
QMT Peri	CF	0	0	0	0	2
QMT Peri	CF	0	0	0	0	2
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	CAPEOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	3	0	1
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	0	1
QMT Ady	FOLFOX	0	2	0	1	2
QMT Paliat	DCFm	1	0	0	0	1
QMT Paliat	DCFm	0	0	0	0	1
QMT Paliat	CAPEOX	0	0	0	0	2

QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	2
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	0	0
QMT Peri	FOLFOX	0	0	0	0	2
QMT Ady	CF	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	2	0	0	1
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	3	0
QMT Ady	CAPEOX	0	0	0	0	0
QMT Peri	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	3	0	2	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	4	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0
QMT Paliat	FOLFOX	0	0	0	0	0

						Control = 0, Caso = 1	
Vómitos	Diarrea	Estomatitis	Eritrodisestesia palmo-plantar	Neuropatía Periférica	hematológica	digestiva	
0	0	0	0	1	1	0	
0	0	0	0	0	0	0	
0	2	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	1	0	0	
0	0	0	0	3	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	
0	3	0	0	1	0	1	
3	0	0	0	0	0	1	
0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	1	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	
0	0	4	0	0	0	1	
1	0	0	1	0	1	0	
0	0	0	0	1	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	
1	0	3	0	2	1	1	
0	0	3	0	0	1	1	
0	0	0	0	0	0	0	
0	0	3	1	0	0	1	
0	0	0	0	1	0	0	
0	0	0	0	0	1	0	
0	0	0	0	1	0	0	
0	0	0	0	1	0	0	
0	0	0	0	1	0	0	
2	2	2	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	
1	3	0	0	0	0	1	
0	0	0	0	2	0	0	
0	1	1	0	1	0	0	
0	0	1	0	0	0	0	

0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	3	0	0	0	0	1
1	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	3	0	0
0	0	0	3	0	1	1
0	3	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	1	0
0	0	2	0	1	0	0
0	0	0	0	1	0	0
0	1	1	0	0	1	0
0	0	0	0	1	0	0
0	0	0	0	2	0	0
0	0	3	0	1	0	1
1	1	3	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	1	0	0
0	2	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0
0	1	1	2	0	0	0
0	1	0	0	1	0	0
1	0	0	2	2	0	0
0	0	0	0	1	0	0
0	0	0	0	2	1	0
0	0	0	0	1	0	0
3	0	0	0	2	0	1
0	0	1	0	2	0	0
0	0	0	0	1	1	0
0	1	0	0	0	1	0
1	3	0	0	0	0	1
1	0	0	0	0	0	0
0	1	0	0	0	0	0
0	0	0	1	1	0	0
2	2	0	0	1	0	0
0	1	0	0	1	1	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	2	0	0
0	0	2	2	2	0	0
0	1	1	0	2	0	0
0	1	0	0	0	0	0

3	0	0	0	0	0	1
1	0	0	0	1	0	0
0	1	0	0	1	0	0
1	3	0	0	1	0	1
0	3	0	0	0	0	1
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	1	0
0	0	0	0	2	0	0
0	0	0	3	0	0	0
0	0	0	0	1	1	0
0	0	0	0	1	1	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0

		SNPs				
neurólogic a	general	GSTP1 rs1695 A>G	ERCC2 rs13181 T>G	TP53 rs1042522 C>G	UMPS rs1801019 G>C	SHMT1 rs1979277 G>A
0	1	GG	TG	GG	GC	GG
0	0	AA	TT	CG	GG	GA
0	0	GG	TG	CC	GC	GG
0	0	GG	TG	CC	GG	GA
0	0	GG	TT	CC	GG	GA
0	0	AA	TT	CC	GG	GG
0	0	AA	TG	CC	GC	GG
0	0	AG	GG	CC	GC	GG
1	1	AG	TG	GG	GG	GA
0	0	AA	TG	GG	GG	GG
0	1	AG	TT	CC	GC	GA
0	1	AG	TT	CC	GC	GG
0	0	AG	TG	CG	GG	GA
0	0	AG	TT	CC	GG	GG
0	0	AA	TT	CC	GG	GG
0	0	AG	TG	NA	GG	GG
0	1	AA	TG	CC	GG	GG
0	1	AA	TG	CC	GG	GG
0	0	AG	TT	CG	CC	GG
0	0	AA	TG	CC	GG	GG
0	1	AG	TT	CC	GG	GG
0	1	GG	TT	CC	CC	GG
0	0	AG	TG	CC	GC	GG
0	1	AA	TG	CG	GG	AA
0	0	AG	TT	CC	GG	GG
0	1	AG	TT	CG	GG	GG
0	0	AG	TT	CC	GG	GA
0	0	AG	TT	CC	GC	GA
0	0	GG	TT	CG	GG	GG
0	0	AG	TT	CG	GC	GG
0	0	AG	TT	CG	GC	AA
0	1	GG	TG	CG	GC	GG
0	0	GG	GG	GG	GC	GG
0	0	AA	TG	CG	GG	GG
0	0	AG	TT	CC	GG	GA

0	0	AA	TT	CC	GG	GG
0	0	AG	TG	CG	GG	GG
0	1	AG	TT	CC	GG	GG
0	0	AA	TG	CG	GG	GG
0	0	AA	TT	CG	GG	GG
1	1	AG	TT	CG	GG	GG
1	1	AA	TG	CG	GG	GG
0	1	AG	TT	CC	GG	GG
0	1	AA	TT	CC	GC	GA
0	0	AG	TT	CC	GC	GA
0	0	AA	TT	CC	GC	AA
0	1	AA	TG	CC	GG	GG
0	0	GG	TT	CG	GG	GA
0	0	AG	TT	CC	GC	GA
0	1	AA	TT	CC	GG	GG
0	1	AG	TG	NA	GG	GA
0	0	GG	TT	CC	GG	GA
0	0	AG	TT	CC	GG	GG
0	0	AG	TT	CC	GC	GG
0	0	AG	TG	CC	GG	GG
0	0	AA	TT	CC	GC	AA
0	0	AG	TT	CC	GC	GG
0	0	AG	TG	CG	GC	GA
0	0	AA	TT	GG	GG	GA
0	0	AA	TT	CC	GG	GA
0	0	GG	TT	CG	GC	GA
0	1	AA	TG	CG	GG	GG
0	0	AA	TT	CG	GG	GG
0	1	AA	TG	CC	GG	GA
0	0	AA	TG	CC	GG	GA
0	1	AG	TG	CG	GG	GA
0	1	AA	TT	CG	GG	GG
0	1	AG	TT	GG	GG	GG
0	0	AA	TT	CC	GG	GA
0	0	AA	TG	CC	GC	GA
0	0	AG	TT	CC	GG	GG
0	0	AG	TT	CG	GG	GA
0	1	AA	TG	CC	GG	GG
0	0	AA	TG	CC	GG	GA
0	0	AG	TG	CC	GG	GA
0	0	AG	TT	CG	GC	AA
0	0	AG	TT	CC	GG	GA
0	0	AG	TG	CC	GG	GA

0	1	AG	TT	CG	GG	GA
0	0	AA	TT	CC	GG	GA
0	0	AA	TT	CC	GG	GA
0	1	AG	TG	CC	CC	GG
0	1	AG	TG	CG	GG	GA
0	0	GG	TG	CG	GC	GG
0	1	AA	TT	CC	GG	AA
0	0	AG	TT	CC	GC	GA
1	1	AA	TT	CG	GG	GG
0	1	AG	TT	CC	GG	AA
0	1	AA	TG	CC	GC	GA
0	0	AG	TT	CG	GC	GG
0	0	AG	TG	CC	GC	GG
0	0	GG	TT	CC	GG	NA
0	0	AA	TT	CC	CC	GG

MTHFR rs1801131 T>G	ABCC2 rs717620 C>T	DPYD 1 rs55886062 A>C	DPYD 2 rs2297595 T>C	DPYD 3 rs1801159 T>C	DPYD 6 rs1801265 A>G	ERCC1 rs11615 A>G
TT	CC	AA	TC	TC	AG	AG
TG	CC	AA	TT	TC	AA	AA
TT	CC	AA	TC	TT	AG	GG
TT	CC	AA	TT	TT	AA	AG
GG	CC	AA	TT	CC	AA	AG
TT	CT	AA	TT	TC	AA	AG
TG	CC	AA	TC	TC	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TG	CC	AA	TT	TC	AG	AG
TT	CT	AA	TT	TC	AA	AA
TT	CC	AA	TT	TT	AG	AG
TG	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TT	CC	AA	TT	CC	AA	GG
TT	TT	AA	TT	TC	AA	AA
TT	CC	AA	TT	TC	AA	AA
TT	NA	NA	NA	NA	NA	NA
TG	CC	AA	TC	TT	AG	AG
TT	CC	AA	TT	TC	AA	GG
TT	CC	AA	TT	CC	AA	AA
TT	CC	AA	TT	CC	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AG	AG
TT	CC	AA	TT	TC	AG	GG
TT	CC	AA	TT	TC	AG	AG
TG	CC	AA	TT	CC	AG	AG
TG	CT	AA	TT	TT	AA	AA
TT	CC	AA	TT	TC	AA	AG
GG	CC	AA	TT	TC	AA	GG
TG	CC	AA	TT	TC	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TC	AG	AG
TG	CC	AA	TT	CC	AA	AG
TG	CC	AA	TT	TC	AA	AG
TT	CT	AA	TT	TC	AA	AG
TG	CC	AA	TT	TC	GG	AA

TT	CT	AA	TT	TC	AA	AG
GG	CC	AA	TT	CC	AA	AA
TT	CC	AA	TT	TT	AG	AG
TG	CC	AA	TT	TC	GG	GG
TG	CC	AA	TT	CC	AG	AG
TT	CT	AA	TT	TT	GG	AG
TG	CC	AA	TT	TC	NA	AG
TT	CC	AA	TT	TC	AA	AA
TT	CC	AA	TT	TT	AG	AG
TT	CC	AA	TT	TC	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AG	AG
GG	CC	AA	TT	TC	GG	AG
TG	CT	AA	TT	TC	AA	AG
TT	CC	AA	TT	CC	GG	AG
TG	CC	AA	TT	TT	AG	AA
TG	CT	AA	TT	TT	AA	AA
TT	CC	AA	TC	TT	AG	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AG	GG
GG	CT	AA	TT	TT	AA	GG
TG	CC	AA	TT	TC	GG	AG
TT	CC	AA	TT	TC	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TC	AA	AG
TT	CT	AA	TT	TC	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TC	AA	AG
TG	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TG	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TG	CT	AA	TT	CC	GG	AA
TT	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TG	CT	AA	TC	TC	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TT	CC	AA	TT	TC	AG	AG
TG	CC	AA	TT	TT	AG	GG
TT	CC	AA	TT	TT	AG	AG
TG	CC	AA	TT	TC	AA	AG
TG	CC	AA	TT	TT	AG	AA
TG	CC	AA	TT	TC	GG	AG
TG	CC	AA	TT	TT	GG	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AA	AA
TG	CC	AA	TT	TT	GG	AG
TG	CC	AA	TT	TC	AG	AG
TT	CT	AA	TT	CC	AA	GG
TG	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TG	CC	AA	TT	TT	AA	AG

TT	CT	AA	TT	TT	AG	AG
TG	CC	AA	TT	TT	AA	AA
TT	CC	AA	TT	TC	GG	AG
TT	CC	AA	TC	TT	AG	AG
TG	CC	AA	TT	TT	AG	AG
TT	CT	AA	TT	TT	AG	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AA	GG
TT	CC	AA	TT	TC	AA	GG
TT	CC	AA	TT	TC	AG	AG
TT	CC	AA	TT	TT	AG	GG
TG	CC	AA	TT	TC	AG	GG
TT	CC	AA	TT	TT	AA	AG
TG	CC	AA	TT	TC	AG	GG
TT	CC	AA	TT	TC	AA	GG
TG	CC	AA	TT	TT	AA	AA