



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

“ASOCIACIÓN ENTRE POLIMORFISMOS  
GENÉTICOS DE *TPMT*, *SLC28A2* Y NEUTROPENIA  
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DIAGNOSTICADOS  
CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA  
TRATADOS CON 6-MERCAPTOPURINA EN  
PROTOCOLO DE INTENSIFICACIÓN PRECOZ”

Memoria para optar al título de Química Farmacéutica

Esperanza Torres Díaz

Director de memoria: Dr. Matías Martínez Olguín

Santiago, Chile

2024

## AGRADECIMIENTOS

Todos hemos tenido conversaciones difíciles en nuestra vida, y para mí, la conversación más difícil que he tenido hasta ahora fue cuando me senté en la cocina con mi mamá para decirle que quería cambiarme de carrera. Esperaba todo tipo de reacciones, pero lo que pensé iba a ser una conversación terriblemente difícil, terminó siendo todo lo contrario: me mostró todo su apoyo y no podría estar más agradecida por darme la confianza para partir un nuevo proceso. Gracias especialmente a ella, a mis hermanos y mi cuñado Héctor.

Gracias a Magaly, por ser la gran amiga que me dejó mi tiempo en la USACH, por darme todo su apoyo y amistad cuando decidí cambiarme de carrera a pesar del poco tiempo que llevábamos de conocernos. Hiciste que un momento muy complejo en mi vida fuera muchísimo más llevadero.

Gracias a Eduardo, mi mejor amigo desde hace 15 años, por todas las etapas que hemos pasamos juntos desde el colegio, su apoyo, compañía, las risas y los consejos.

Gracias a los amigos que hice entrando a la universidad, Manuel, Camila y Pía, que a pesar de todo nos juntamos sagradamente a almorzar cada día por años.

También a quienes se incorporaron más tarde a mi vida universitaria, Genesis, Weiheng y Maciel, hicieron que el último tiempo en la carrera fuera mucho más sencillo.

A mi maravillosa pareja Paola, por el apoyo incondicional en las decisiones que he tomado. Espero que esto sea uno de muchos logros que celebraremos juntas.

A Anita María, por acompañarme en todo el proceso de dar la PSU nuevamente sin esperar nada a cambio, por darte el tiempo de enseñarme ciencias con muchísima paciencia incluso ya una vez en la carrera, por el apoyo para sacar adelante los ramos, gracias por todas las quedadas en tu casa, los tecitos, el cariño y por darte el tiempo de enseñarme cuando ya realmente no me daba para hacerlo sola.

Muchas gracias a la QF Patricia Muquillaza por brindarme la primera oportunidad profesional, por enseñarme su ética de trabajo, que el tiempo es un bien preciado y lo importante que es formar un equipo de personas por sobre trabajar individualmente.

Gracias a Sandra Liberona (Q.E.P.D.) por hacerme creer que podía lograrlo cuando yo aún no lo creía. Cuando estuve a punto de ser eliminada de la carrera y tu aliento fue unas de las cosas que me hicieron dar vuelta la situación, estar en este punto no habría sido posible sin ti y te extraño infinitamente.

No quisiera terminar esto sin agradecer a aquellos profesores que fueron parte de mi formación y ya no están, Vicente Castro Castillo, Viviana Pardo Jiménez y Carolina Jullian Matthaei.

Muchas gracias también al servicio de Oncología y Hematología del Hospital pediátrico Dr. Roberto del Río, a la Dra. Pamela Silva por la acogida, y especialmente a los químicos farmacéuticos clínicos Angélica Valenzuela y Pablo Sepúlveda por toda su orientación, ayuda, consejo y amistad.

Finalmente, gracias a todos los pacientes que conocí y sus familias. Sentarme a hablar con ustedes y conocer sus historias es algo que atesoraré el resto de mi vida.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	VII
ABSTRACT .....	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS .....	9
METODOLOGÍA.....	10
RESULTADOS .....	17
Caracterización de la muestra.....	17
Asociación entre polimorfismo <i>TPMT*3B</i> y Recuento Absoluto de Neutrófilos .....	23
Asociación entre polimorfismo <i>SLC28A2</i> y Recuento Absoluto de Neutrófilos (RAN)...	27
Asociación entre esquema recibido (IB o IB aumentado) y Recuento Absoluto de Neutrófilos (RAN).....	32
Asociación entre nivel de riesgo final del paciente (estándar, medio, alto) y el Recuento Absoluto de Neutrófilos (RAN) .....	36
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIÓN.....	49
REFERENCIAS .....	51
ANEXOS.....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquema rutas metabólicas 6-MP. Extraído de libro "Dose and therapy individualization in cancer chemotherapy" capítulo 13 .....	4
Figura 2: Esquema de pacientes incluidos en el estudio.....	17
Figura 3: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<1500 por genotipo polimorfismo <i>TPMT*3B</i> (rs1800460).....	24
Figura 4: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<500 por genotipo polimorfismo <i>TPMT*3B</i> (rs1800460).....	24
Figura 5: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<100 por genotipo polimorfismo <i>TPMT*3B</i> (rs1800460).....	25
Figura 6: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN= 0 por genotipo polimorfismo <i>TPMT*3B</i> (rs1800460).....	26
Figura 7: Diagrama de caja de genotipos <i>TPMT*3B</i> y duración en días de RAN<1500, RAN<500, RAN<100 y RAN= 0. ....	27
Figura 8: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<1500 según genotipo <i>SLC28A2</i> (rs11854484).....	28
Figura 9: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<500 según genotipo <i>SLC28A2</i> (rs11854484).....	29
Figura 10: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<100 según genotipo <i>SLC28A2</i> (rs11854484).....	29
Figura 11: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN= 0 según genotipo <i>SLC28A2</i> (rs11854484).....	30
Figura 12: Diagrama de caja de genotipos <i>SLC28A2</i> y duración en días de RAN<1500, RAN<500, RAN<100 y RAN= 0. ....	31
Figura 13: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<1500 según esquema recibido. ....	32
Figura 14: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<500 según esquema recibido. ....	33
Figura 15: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<100 según esquema recibido. ....	35
Figura 16: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN= 0 según esquema recibido. ....	35
Figura 17: Diagrama de caja según esquema recibido y duración en días de RAN<1500, RAN<500, RAN<100 y RAN= 0. ....	36

Figura 18: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<1500 según nivel de riesgo final. ....	37
Figura 19: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<500 según nivel de riesgo final. ....	38
Figura 20: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<100 según nivel de riesgo final. ....	39
Figura 21: Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN= 0 según nivel de riesgo final. ....	40
Figura 22: Diagrama de caja según nivel de riesgo y duración en días de RAN<1500, RAN<500, RAN<100 y RAN=0. ....	41

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Variantes a estudiar ( <i>Single Nucleotide Polymorfism</i> , SNP).....	13
Tabla 2: Criterios de categorización de nivel de riesgo. ....	14
Tabla 3: Caracterización sociodemográfica. ....	18
Tabla 4: Rango de edad pacientes al diagnóstico.....	19
Tabla 5: Caracterización clínica.....	20
Tabla 6: Esquema de quimioterapia recibido. ....	22
Tabla 7: Características <i>TPMT*3B</i> .....	23
Tabla 8: Características <i>SLC28A2</i> .....	23
Tabla 9: Test U de Mann-Whitney para mediana de duración de neutropenia en días para modelos de herencia de <i>SLC28A2</i> .....	31
Tabla 10: Resumen regresión multivariada de Cox para la relación entre el esquema recibido e inicio de RAN<1500.....	33
Tabla 11: Resumen regresión multivariada de Cox para la relación entre el esquema recibido e inicio de RAN<500.....	34
Tabla 12: Resumen regresión multivariada de Cox para la relación entre el nivel de riesgo e inicio de RAN<1500.....	37
Tabla 13: Resumen regresión multivariada de Cox para la relación entre el nivel de riesgo e inicio de RAN<500.....	39

## ABREVIATURAS

6-MMP	: 6-Metilmercaptapurina
6-MMPR	: Ribonucleótidos de 6-Metilmercaptapurina
6-MP	: 6-Mercaptapurina
6-TGN	: 6-Tioguanina
ARA-C	: Citarabina
ASP	: Asparaginasa
CF	: Citometría de flujo
CNT	: Transportadores de nucleósidos concentrativos dependientes de sodio
CPM	: Ciclofosfamida
DE	: Desviación estándar
ERM	: Enfermedad mínima residual
G-CSF	: Factor estimulante de colonias de granulocitos
GMPS	: Guanosina monofosfato sintetasa
HEGC	: Hospital Exequiel González Cortés
HLCM	: Hospital Luis Calvo Mackenna
HPRT	: Hipoxantina fosforribosil transferasa
HR	: Hazard ratio
HRR	: Hospital Roberto del Río
IMPD	: Inosina monofosfato dehidrogenasa
LCR	: Líquido cefalorraquídeo
LLA	: Leucemia linfoblástica aguda
MO	: Médula ósea
MTX IT	: Metotrexato intratecal
NUDT15	: Nudix hidrolasa 15
PINDA	: Programa Infantil Nacional de Drogas Antineoplásicas
RA	: Riesgo alto
RAN	: Recuento absoluto de neutrófilos
RENCI	: Registro Nacional de Cáncer Infantil de Chile
RI	: Riesgo intermedio
RIC	: Rango intercuartílico
RS	: Riesgo estándar
SLC	: Solute carrier family
SLC28A2	: Solute carrier family 28 member 2
SNC	: Sistema nervioso central
SNP	: Single nucleotide polymorfism
SP	: Sangre periférica
TIMP	: Tiosina monofosfato
TPMT	: Tiopurina metil transferasa
VCR	: Vincristina
XO	: Xantina oxidasa

## RESUMEN

La leucemia es el cáncer más común en menores de 15 años a nivel mundial, representando el 40% de las neoplasias pediátricas. Entre las leucemias, la linfoblástica aguda (LLA) constituye el mayor número de casos (80%), presentándose más comúnmente en edades preescolares.

En la terapia de la LLA, la 6-mercaptopurina cumple un rol fundamental y aunque su beneficio está demostrado, su administración se asocia con la aparición de eventos adversos, como la neutropenia. Un factor que puede predisponer a la neutropenia es la genética.

El objetivo de este trabajo fue estudiar la asociación de variantes genéticas en el gen que codifica para la enzima *TPMT* y del transportador *SLC28A2* y variables clínicas con el inicio y duración de la neutropenia.

En total fueron incluidos 161 pacientes entre los Hospitales Dr. Roberto del Río, Dr. Exequiel González Cortés y Dr. Luis Calvo Mackenna. Los polimorfismos *TPMT* rs1800460 G>A y *SLC28A2* rs11854484 C>T fueron evaluados mediante análisis de sobrevida, la significancia estadística fue analizada con test de Log-rank. Las variables clínicas estudiadas en este grupo de pacientes corresponden a “nivel de riesgo final” y “esquema recibido” siendo los posibles esquemas de quimioterapia IB o IB aumentado, para su estudio también se realizó análisis de sobrevida y su diferencia fue testada con test de Log-rank.

A partir del análisis realizado se concluye que no existe una asociación significativa entre los polimorfismos estudiados y la duración o inicio de la neutropenia. No obstante, se observa una correlación entre las variables clínicas estudiadas y el inicio y duración de la neutropenia.

## ABSTRACT

Leukemia predominates as the most prevalent cancer among children aged under 15 years old worldwide, representing 40% of pediatric neoplasms. Within the spectrum of leukemias, acute lymphoblastic leukemia (ALL) stands out, accounting for 80% of cases. ALL primarily affects preschool-age children.

In ALL therapy, 6-mercaptopurine plays a fundamental role and although its benefit is proven, its administration is associated with the occurrence of adverse events, such as neutropenia. A factor that may predispose to neutropenia is genetics.

The aim of this study was to investigate the association of genetic variants in the gene encoding enzyme *TPMT* and the transporter *SLC28A2*, and clinical variables with the onset and duration of neutropenia.

A total of 161 patients between Dr. Roberto del Río, Dr. Exequiel González Cortés and Dr. Luis Calvo Mackenna Hospitals were included. *TPMT* rs1800460 G>A and *SLC28A2* rs11854484 C>T polymorphisms were evaluated by survival analysis, and the statistical significance was analyzed with the Log-rank test. The clinical variables studied in this group of patients correspond to “final risk level” and “received regimen”, with possible chemotherapy regimens being IB or IB augmented. Survival analysis was also performed, and the difference was tested with the Log-rank test.

From the analysis performed, it is concluded that there is no significant association between the studied polymorphisms and the onset or duration of neutropenia. However, a correlation is observed between the studied clinical variables and the onset and duration of neutropenia.

## INTRODUCCIÓN

La leucemia es el tipo de cáncer más común entre niños y adolescentes de hasta 15 años a nivel mundial, representa alrededor de un 40% de los diagnósticos de cáncer pediátricos. Las leucemias agudas constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades caracterizadas por la expansión clonal rápida y descontrolada de las células progenitoras del sistema hematopoyético.

Entre las leucemias agudas, la leucemia linfoblástica aguda (LLA) constituye el 80% de casos, presentándose más comúnmente en edades preescolares (1). En Chile se presentan aproximadamente entre 100 y 110 casos nuevos por año en el sistema de salud público (2).

En el caso de la LLA, el crecimiento descontrolado de las células progenitoras hematopoyéticas en la médula ósea o en el sistema linfático produce un aumento de células leucémicas. Estas células leucémicas invaden la médula ósea y se diseminan a la sangre periférica y otros lugares del cuerpo como bazo, hígado, ganglios linfáticos, sistema nervioso central (SNC) y testículos (3).

Los síntomas, por lo general, comienzan a presentarse días o semanas previo al diagnóstico, encontrándose entre los más comunes fatiga, debilidad, palidez, sangrados espontáneos, epistaxis, petequias y hematomas. Esto producto de la anemia y trombocitopenia.

Una característica adicional que se presenta en la LLA es la infiltración de células leucémicas en distintos órganos, provocando alteraciones como hepatomegalia, esplenomegalia o adenomegalia. De la misma manera, las células leucémicas pueden infiltrarse en el periostio y en la médula ósea, causando dolor óseo y articular (4).

Así mismo, la penetración de células leucémicas a nivel del sistema nervioso central puede provocar parálisis de los nervios craneales, síntomas visuales o auditivos, estado mental alterado, entre otros (5).

Los índices de supervivencia de la LLA han mejorado a lo largo de los años gracias a la evolución de los tratamientos. En 1960, las cifras de supervivencia eran menores al 10% en Europa y Estados Unidos, mientras que, en la actualidad, estas regiones sobrepasan el 80% (6,7). El índice de supervivencia en Chile es un 78% (8), similar a las cifras de países desarrollados.

### **Tratamiento de LLA**

El tratamiento de la LLA consiste en protocolos de quimioterapia predominantemente citotóxica, es decir, provocan muerte celular. La desventaja de este tipo de tratamientos es que los medicamentos usados afectan tanto a células leucémicas como no tumorales, lo que causa una alta toxicidad en el organismo.

Actualmente, en Chile se utiliza el protocolo “LLA-IC-BFM 2009 versión PINDA”, sugerido por el Programa Infantil de Drogas Antineoplásicas de Chile (PINDA). Este protocolo consiste en un tratamiento de 24 meses de aproximadamente (104 semanas) dividido en 3 etapas, inducción a la remisión, consolidación o intensificación y mantención o continuación (9).

Los esquemas específicos de tratamiento que recibirá cada paciente dependen del inmunofenotipo (si los linfocitos afectados corresponden a estirpe B o T) y la estratificación de su nivel de riesgo. Los pacientes son clasificados en 3 categorías, riesgo estándar (RS), intermedio (RI) y alto (RA).

Una vez ya conocido el nivel de riesgo del paciente y su inmunofenotipo, se escogen los esquemas que serán parte del tratamiento, ya que existen variaciones en los esquemas. Para inducción a la remisión se tiene como posibles elecciones IA o IA', seguido de IB o IB

aumentado. La siguiente etapa es la consolidación, para la cual se puede escoger entre mM, M o HR, seguido del protocolo II. Finalmente, la etapa de mantención, que es común para todos los pacientes, excepto para aquellos de riesgo alto que hayan sido trasplantados.

Dentro de la inducción a la remisión, existe la intensificación precoz, que corresponde a los esquemas IB o IB aumentado, protocolos de interés en este trabajo, debido al uso de altas dosis de 6-MP. Para los esquemas IB o IB aumentado, los medicamentos utilizados en el caso de ambos esquemas son citarabina (ARA-C), metotrexato intratecal (MTX IT), 6-mercaptopurina (6-MP) y ciclofosfamida (CPM). En el caso de IB aumentado además se utiliza vincristina (VCR) y asparaginasa (ASP) como indica el Anexo 1.

### **6-mercaptopurina (6-MP) en el esquema de quimioterapia de LLA**

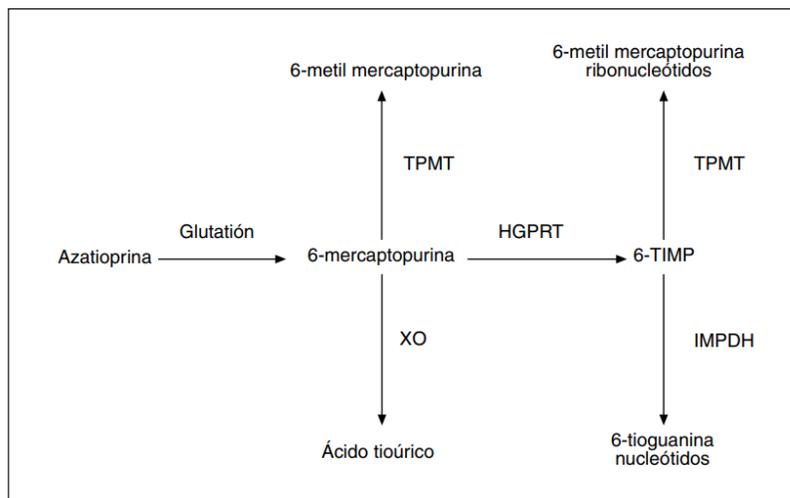
La 6-mercaptopurina cumple un rol fundamental en el tratamiento de la LLA en las etapas de intensificación precoz, consolidación y mantención, variando la dosis y cantidad de días de uso según el esquema (9).

Para la intensificación precoz en protocolo IB, la dosis de 6-MP es 60 mg/m<sup>2</sup>/día por 28 días consecutivos. Para IB aumentado se utiliza la misma dosis, pero la administración se distribuye en 2 bloques de 14 días con un descanso de 15 días entre ellos (Anexo 1).

La 6-MP es un profármaco análogo de las purinas que, para ser activado, debe ser metabolizado de forma intracelular. La 6-MP tiene 3 posibles rutas de metabolización, siendo la enzima Hipoxantina Fosforribosil Transferasa (HPRT) la que produce el metabolito activo. La 6-MP es catabolizada por HPRT para transformarla a tiinosina monofosfato (TIMP). TIMP luego es catalizado por medio de inosina monofosfato dehidrogenasa (IMPD) y guanosina monofosfato sintetasa (GMPS) para llegar a convertirse en tioguanosina monofosfato. Posteriormente, por medio de sus respectivas kinasas, se transforma de

tioguanosina monofosfato a trifosfato formando así sus metabolitos activos, los nucleótidos de 6-tioguanina (6-TGN) (10) (Anexo 2).

Las otras dos rutas por las cuales es catabolizada la 6-MP son XO (Xantina Oxidasa), que produce el metabolito inactivo ácido tiourico, y la ruta *TPMT* (Tiopurina Metiltransferasa) que metila la 6-MP y la convierte en los metabolitos inactivos 6-metilmercaptapurina (6-MMP) y ribonucleótidos de 6-metilmercaptapurina (6-MMPR) (10–12).



**Figura 1:** Esquema rutas metabólicas 6-MP. Extraído de publicación “Monitorización de la tiopurina metiltransferasa y de los metabolitos tiopurínicos para optimizar el tratamiento con azatioprina en la enfermedad inflamatoria intestinal”

Las toxicidades que se presentan más frecuentemente debido al tratamiento con 6-MP son de tipo gastrointestinales (vómitos, diarrea, náuseas, estomatitis) con  $\geq 1/100$  a  $< 1/10$  pacientes, hepáticas (hepatotoxicidad, estasis biliar) con  $\geq 1/100$  a  $< 1/10$  pacientes, trastornos metabólicos o endocrinos (anorexia) con  $\geq 1/1000$  a  $< 1/100$  pacientes y hematológicos (mielosupresión) con  $\geq 1/10$  pacientes (13).

Las toxicidades de tipo hematológicas más frecuentes son la leucopenia, trombocitopenia y neutropenia ( $\geq 1/10$  pacientes), además de anemia en menor medida, con  $\geq 1/100$  a  $< 1/10$  pacientes. Las toxicidades hematológicas pueden provocar la suspensión o retraso en la

continuación de la terapia, necesidad de disminución de dosis o incluso abandono del tratamiento por parte del paciente (5,13).

La neutropenia se define como un bajo recuento de neutrófilos, un tipo de glóbulo blanco relevante para la contención de infecciones que además es el primer elemento celular en la cascada inflamatoria. En el caso de la LLA, la infiltración de las células leucémicas en la médula ósea interfiere con la producción normal de células sanguíneas, lo que produce una disminución de neutrófilos. Agregado a esto, la quimioterapia citotóxica utilizada en este tratamiento también provoca neutropenia inducida por medicamentos.

Según la versión del año 2017 de los Criterios Comunes de Toxicidad del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos (14), la severidad de la neutropenia se clasifica en 4 grados:

- Grado 1: neutrófilos entre 1500 y 2000 células/mm<sup>3</sup>
- Grado 2: neutrófilos entre 1000 y 1500 células/mm<sup>3</sup>
- Grado 3: neutrófilos entre 500 y 1000 células/mm<sup>3</sup>
- Grado 4: neutrófilos menores a 500 células/mm<sup>3</sup>

Cabe destacar también que se considera neutropenia profunda cuando se alcanza un recuento absoluto de neutrófilos (RAN) < 100; así mismo, con un RAN < 500 el riesgo de infecciones serias aumenta (15). La más destacada e importante en este sentido es la neutropenia febril, un tipo de emergencia oncológica potencialmente mortal si no es tratada a tiempo. El paciente puede presentar entre 6 a 8 episodios de neutropenia febril a lo largo del tratamiento y en cada uno de ellos se requiere hospitalización, lo que finalmente repercute en la programación de la quimioterapia y compromete su efectividad al retrasar los protocolos (16).

La neutropenia puede ser explicada por ciertas variantes genéticas, siendo las más destacadas en la literatura aquellas en los genes *TPMT* y *Nudix Hidrolasa 15 (NUDT15)* (17) por su alta participación en el metabolismo de este medicamento.

*TPMT* es una enzima ampliamente estudiada por el campo de la farmacogenética debido a su conocido impacto en la metabolización de la 6-MP. Aproximadamente un 90% de la población adulta sana de origen caucásica son metabolizadores normales o extensivos (\*1, *wild type*), mientras que un 10% cuenta con algún polimorfismo en el gen, siendo \*2, \*3, \*3B y \*3C los principales (18). Estos cuatro explican alrededor de un 95% de los casos de actividad enzimática deficiente, lo que lleva a una metabolización intermedia del medicamento, y como consecuencia de esto aumenta tanto el riesgo de experimentar como la gravedad de los eventos adversos (16, 17).

La enzima *TPMT* (*wild type*), es codificada por un gen de 34 kb localizado en el cromosoma 6p22.3, que consta de 10 exones y 9 intrones (245 aminoácidos). Existen más de 20 variantes alélicas para este gen; la variante *TPMT\*3B* (rs1800460), objeto de este estudio, involucra la mutación del gen en el exón 7, del *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) G460A, que se traduce en el cambio aminoacídico Ala154Thr y una menor actividad de la enzima (19).

La presencia de estos polimorfismos provocan una disminución en la actividad enzimática de *TPMT* desviando el metabolismo de 6-MP a una mayor producción de 6-tioguanina (6-TG) (20). Este metabolito activo es responsable del efecto inmunosupresor y mielosupresor por el bloqueo en la síntesis de DNA y RNA lo que conduce muerte celular, que al encontrarse en mayor concentración aumenta el riesgo de toxicidad (21).

En 2011, el Consorcio para la Implementación de la Farmacogenética Clínica (CPIC) publicó una primera guía clínica sobre el ajuste de dosis a realizar en pacientes según su fenotipo metabolizador de *TPMT*. Como indica esta guía en su versión actualizada del año 2018, si el paciente es portador de un alelo que disminuye la función de *TPMT* se recomienda realizar ajuste de dosis para disminuir la toxicidad hematológica. Para metabolizadores intermedios, la indicación es partir con un 30 a 80% de la dosis normal y

ajustar según los eventos presentados, y para los metabolizadores pobres, partir con dosis extremadamente bajas (13).

### **SLC28A2**

El transporte de nucleósidos al interior de las células está mediado por dos familias de proteínas SLC ("*Solute Carrier Family*"), SLC28 y SLC29. SLC28 está constituido por 3 subtipos de transportadores de nucleósidos concentrativos que son dependientes de sodio extracelular (CNTs). CNT1, que corresponde a *SLC28A1*, transporta preferentemente nucleósidos de pirimidina, CNT2 (*SLC28A2*) transporta preferentemente nucleósidos de purina y CNT3 (*SLC28A3*) transporta tanto purinas como pirimidinas (22).

Los miembros de la familia SLC28 son cruciales para la respuesta a una variedad de análogos de nucleósidos anticancerígenos y antivirales ya que modulan la entrada de estas sustancias a la célula para finalmente llegar a su diana farmacológica (23).

Al ser la 6-MP un análogo a las bases púricas, su ingreso a la célula está dado principalmente por *SLC28A2* y en menor medida por *SLC28A3*, lo que indica la importancia de este transportador en la acción que pueda llegar a ejercer la 6-MP (24).

Actualmente el estudio del polimorfismo de *SLC28A2* (rs11854484), objeto de este trabajo, ha sido investigado principalmente respecto a su implicancia en el uso de fármacos antirretrovirales en el tratamiento de VIH y antimetabolitos. Aunque la información disponible sobre el polimorfismo es limitada, investigar como repercute en la LLA podría proporcionar nueva información sobre su relación con la toxicidad hematológica y su asociación con la 6-MP (26, 27).

El uso de la farmacogenética como herramienta cobra especial importancia en medicamentos relacionados con el tratamiento del cáncer, debido a las numerosas

reacciones adversas que se presentan a causa de la toxicidad que causan los esquemas de medicamentos utilizados (27–29).

Es por todo lo anteriormente expuesto que, para poder optimizar las terapias de LLA, es necesario identificar cuáles son las variantes genéticas que más afectan la farmacocinética y farmacodinamia de estos medicamentos mediante pruebas farmacogenómicas. Así, será posible optar a diseñar una serie de pruebas genéticas de utilidad clínica en el país para crear un tratamiento personalizado a cada paciente, y de este modo, disminuir el grado de toxicidad, mejorando la respuesta a los fármacos, y como consecuencia, mejorar la calidad de vida y la atención de los pacientes en tratamiento para LLA (30).

## OBJETIVOS

### General:

Estudiar la asociación entre inicio y duración de la neutropenia y variantes genéticas de *TPMT* y *SLC28A2* en conjunto con variables clínicas relevantes, en relación con el riesgo de toxicidad al tratamiento con 6-mercaptopurina en esquemas de intensificación precoz, de pacientes pediátricos diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda.

### Específicos:

- Determinar la asociación entre la presencia del polimorfismo *TPMT\*3B* (rs1800460) y el inicio y duración de neutropenia según recuento absoluto de neutrófilos.
- Determinar la asociación entre *SLC28A2* (rs11854484) y su relación con el inicio y duración de la neutropenia según recuento absoluto de neutrófilos.
- Determinar la asociación entre las variables clínicas descritas como “nivel de riesgo final” y “esquema recibido” por el paciente con el inicio y duración de la neutropenia según recuento absoluto de neutrófilos.

## **METODOLOGÍA**

Diseño del estudio:

Estudio de cohorte mixta (componente retrospectivo y prospectivo) en pacientes pediátricos diagnosticados con LLA en tres hospitales de la Región Metropolitana, Hospital Dr. Exequiel González Cortés (HEGC), Dr. Roberto del Río (HRR) y Dr. Luis Calvo Mackenna (HLCM), entre los años 2013 y 2023.

Participantes:

Criterios de inclusión: Pacientes diagnosticados con LLA menores de 15 años al momento del diagnóstico, tratados entre los años 2013 a 2023 que se encuentren en seguimiento en los hospitales.

Criterios de exclusión: Pacientes cuya información clínica no pudo ser obtenida. Pacientes mayores de 12 años que declinaron el asentimiento informado, a pesar de poseer el consentimiento informado por parte de tutores legales.

Procedimiento:

Para la selección de los pacientes, un médico hematólogo experto en leucemia pediátrica identificó a los pacientes que cumplen los criterios de inclusión. Una vez que los pacientes y/o tutores legales (según los requerimientos de edad) aceptaron participar, se dejó constancia en un consentimiento y asentimiento informado firmado (Anexos 4 y 5).

Para aquellos pacientes menores de 12 años, la autorización fue mediante la firma de un consentimiento informado por parte del tutor legal. Para los pacientes de 12 años y menores de 18 años que aceptaron participar, se hizo mediante un consentimiento informado firmado por el tutor legal, junto con un asentimiento informado firmado por el paciente. Si el tutor

estuvo de acuerdo, pero el paciente no, la muestra se descartaba. Para aquellos pacientes mayores de 18 años, bastaba con que ellos mismos firmaran el consentimiento informado.

Posteriormente se recopiló la información del paciente desde su ficha clínica, esta información fue ingresada a la plataforma REDCap® utilizando un código para cada paciente para asegurar su anonimato. La información ingresada a la plataforma abarcó aspectos sociodemográficos tales como sexo, edad de diagnóstico, comuna de origen, previsión de salud, antecedentes mórbidos, entre otros. Así mismo, resultados de exámenes al momento de diagnóstico, protocolos de quimioterapia utilizados, reacciones adversas presentadas durante el tratamiento y parámetros hematológicos detallados.

Procesamiento de la muestra:

A cada paciente se le solicitó una muestra de hisopado bucal (procedimiento no invasivo) que fue tomada por un miembro del equipo de investigación con el kit ORACollect®•DNA (OCR-100) de la cual se extrajo el ADN. Esto permitió obtener ADN de forma más sencilla que en otros métodos como la extracción de sangre, al tratarse de pacientes pediátricos la utilización de una técnica no invasiva ayudó a que aceptaran con mayor facilidad ser parte del estudio.

El procedimiento de extracción se realizó con el E.Z.N.A. Tissue DNA kit de la marca Omega Biotek® desde la muestra de saliva. Esto permitió obtener DNA de forma rápida y simple para la genotipificación. La pureza y concentración del DNA obtenido fue medido a través del espectrofotómetro *Nanodrop DeNovix DS-11 Spectrophotometer*. La concentración mínima aceptable para considerar una muestra como apta fue de 15 ng/mL y una razón de absorbancia de 260/280 > 1,70. El trabajo fue realizado en el Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Finalmente, una vez que la muestra fue analizada y la concentración fue considerada como suficiente, se procedió a realizar una contramuestra. Tanto la muestra como la contramuestra fueron almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  en el laboratorio de la Facultad de Medicina de la Universidad para conservar su estabilidad.

Una vez que el ADN de las muestras fue cuantificado, se procedió a realizar la genotipificación mediante la técnica de *real time Polymerase Chain Reaction* (rt-PCR). El análisis fue realizado con sondas Taqman®.

La técnica de rt-PCR fue realizada en un volumen total de 12  $\mu\text{L}$ , de los cuales 5  $\mu\text{L}$  correspondieron a Master mix, 0,5  $\mu\text{L}$  de sonda, 4,5  $\mu\text{L}$  de agua libre de nucleasas y 2  $\mu\text{L}$  de la muestra de ADN (que corresponden a 30 ng/ $\mu\text{L}$  de ADN).

Para esta técnica la sonda contiene en su estructura un fluoróforo unido covalentemente al extremo 5' del oligonucleótido y un desactivador de fluorescencia (quencher) en el extremo 3' unido a un oligonucleótido. Cuando la Taq polimerasa degrada la sonda durante la amplificación del ADN, emite fluorescencia que es detectada por el equipo.

Posteriormente, el protocolo de PCR fue ingresado en el equipo *AriaMx Real-time PCR System* que consistió en un ciclo de 10 minutos a  $95^{\circ}\text{C}$  para provocar la activación enzimática, seguido de 50 ciclos, cada uno de ellos compuestos por 15 segundos a  $95^{\circ}\text{C}$  para desnaturalizar el ADN y 1 minuto con 30 segundos a  $60^{\circ}\text{C}$  para elongación y extensión de la nueva hebra de ADN.

Finalmente, el resultado es analizado mediante las curvas de amplificación; se ajusta el umbral de detección para que el análisis de los datos sea uniforme para un mismo gen y que los resultados sean comparables.

VARIABLES DEL ESTUDIO:

Las variantes estudiadas se encuentran en la Tabla 1 y fueron escogidas en base a literatura (17,31).

**Tabla 1:** Variantes a estudiar (Single Nucleotide Polymorphism, SNP).

<b>Gen</b>	<b>Variante</b>	<b>Cambio Nucleotídico</b>	<b>Cambio aminoacídico</b>	<b>Efecto en proteína</b>
<i>TPMT</i>	rs1800460	460G>A	Ala154Thr	Menos actividad
<i>SLC28A2</i>	rs11854484	65C>T	Leu22Pro	Menos actividad

Las variables clínicas incorporadas son “nivel de riesgo final” y “esquema recibido”. El sistema de clasificación de nivel de riesgo inicial y final está basado en la edad al diagnóstico, recuento inicial de leucocitos, respuesta precoz al tratamiento, los dos marcadores genéticos t(9;22) y t(4;11) y/o sus equivalentes moleculares (BCR/ABL y MLL/AF4), la hipodiploidía  $\leq 44$  y la enfermedad mínima residual (ERM) por citometría de flujo (CF) en el día 15 de la terapia de inducción.

Se debe tomar en consideración entonces que la clasificación en los niveles de riesgo existentes es realizada por el equipo tratante al momento del diagnóstico en RS, RI y RA, pero en el transcurso de la terapia de inducción puede modificarse el nivel de riesgo del paciente según su respuesta a las primeras semanas de tratamiento. Todos los criterios que se deben considerar en la categorización de los pacientes se encuentran en la Tabla 2.

**Tabla 2:** Criterios de categorización de nivel de riesgo.

Grupo de riesgo	Criterios	
<b>Estándar</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Recuento de blastos en sangre periférica (SP) al día 8: &lt; 1000 blastos/<math>\mu</math>L</li> <li>• 1 año <math>\leq</math> edad &lt; 6 años</li> <li>• Recuento inicial de leucocitos &lt; 20000/<math>\mu</math>L</li> <li>• Si estuviera disponible, ERMxCF &lt;0,1% o MO M1/M2 en el día 15</li> <li>• M1 en la MO del día 33</li> </ul>	Todos los criterios deben cumplirse para ser categorizado como riesgo estándar
<b>Alto</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RI y, si estuviera disponible, ERMxCF &gt; 10% o M3 en la MO del día 15</li> <li>• RS y, si estuviera disponible, ERMxCF &gt; 10%</li> <li>• SP en el día 8: <math>\geq</math>1000 blastos/<math>\mu</math>L</li> <li>• M2 o M3 en la MO del día 33</li> <li>• Traslocación t (9;22) o t (4;11)</li> </ul>	Debe cumplir al menos uno de los criterios
<b>Intermedio</b>	Pacientes que no puedan ser estratificados como RS o RA.	

*ERMxCF: Enfermedad mínima residual por citometría de flujo; MO: médula ósea; M1: porcentaje de blastos <5%; M2: porcentaje de blastos entre  $\geq$  5% y < 25%; M3: porcentaje de blastos  $\geq$  25% de blastos*

Respecto a los criterios de la Tabla 2, se utiliza la ERMxCF (enfermedad mínima residual por citometría de flujo) para reconocer las células malignas remanentes luego del tratamiento antineoplásico. Tiene por objeto detectar a aquellos pacientes con mala respuesta al tratamiento y reasignarlos a un mayor nivel de riesgo de ser necesario, y por otro lado es una herramienta que permite identificar tempranamente a los pacientes en riesgo de sufrir recaídas.

La variable clínica a estudiar fue la neutropenia. Específicamente, la duración e inicio del evento según la definición de grados de neutropenia de los Criterios Comunes de Toxicidad del Instituto Nacional del Cáncer de Estados Unidos (14), RAN<1500, RAN<500, RAN<100 y RAN = 0. El RAN es un parámetro hematológico que indica la cantidad de neutrófilos en sangre y se informa en el hemograma. En algunos casos ya viene calculado, si este no es el caso se debe calcular. La forma de hacerlo depende de la información entregada en el

hemograma, por lo general se calcula multiplicando los glóbulos blancos por el porcentaje de neutrófilos segmentados más neutrófilos banda (32).

Para el análisis estadístico se utilizó STATA 15.0 ®. Para la caracterización de la muestra se utilizó estadística descriptiva. La determinación de la normalidad de las variables estudiadas fue realizada con el test de Shapiro-Wilk. La diferencia estadísticamente significativa fue asociada a un  $p < 0,05$ . Para aquellas variables en que se realizó comparación entre dos grupos que cumplieron con los supuestos de normalidad se aplicó la prueba t-test, y para aquellos en que se compararon más de dos grupos se utilizó análisis de varianza ANOVA.

En los casos de las variables no paramétricas se utilizaron las pruebas de U de Mann-Whitney para la comparación entre dos grupos y para aquellos en que se compararon tres grupos se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis.

Se realizó un análisis bivariado de asociación entre las variantes genéticas y las variables clínicas utilizadas (nivel de riesgo final y esquema utilizado), con el evento clínico de interés (inicio de neutropenia) mediante la prueba estadística de  $\chi^2$  (chi-cuadrado).

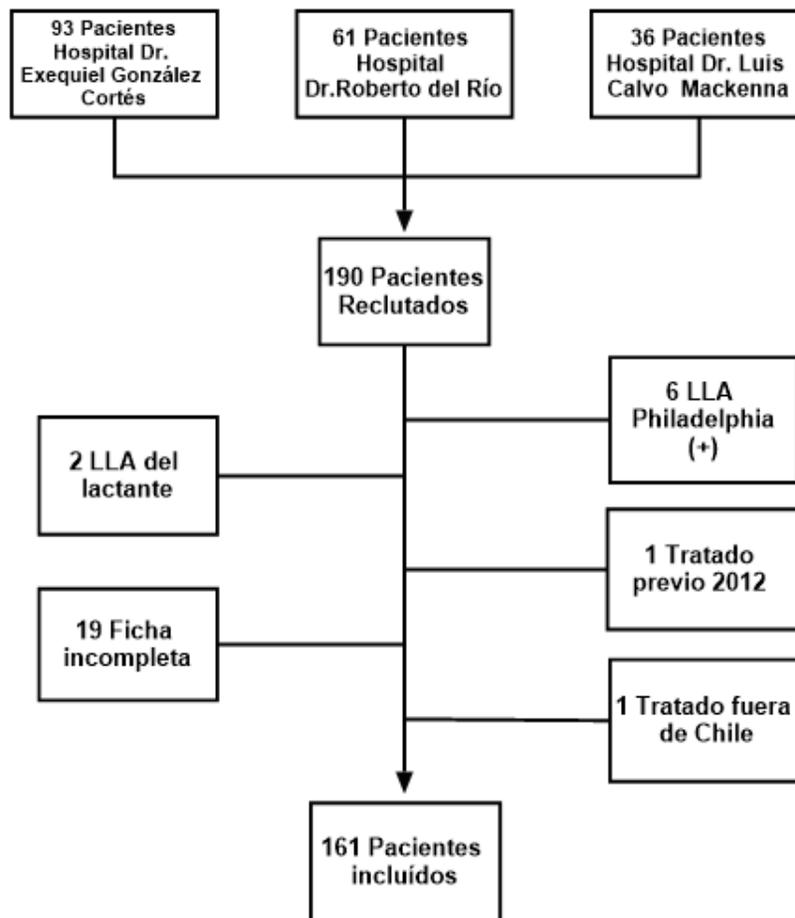
La diferencia entre genotipos fue evaluada por medio de análisis de supervivencia (curva de Kaplan Meier); con el test de Log-rank se testeó la diferencia y para aquellos con una diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) se realizó una regresión bivariada y multivariada de Cox para determinar la fuerza de asociación con el Hazard Ratio (HR) y el ic95%. Las variables incorporadas en el modelo multivariado incluyen edad, sexo, esquema recibido y riesgo final. El evento de interés estudiado fue el día de inicio de neutropenia contemplando el total de días en protocolo de quimioterapia. Se realizó el mismo ejercicio para las variables clínicas incorporadas en el trabajo.

La duración en días de neutropenia según las variables en estudio fue analizada de forma descriptiva por medio de diagramas de caja. Para las variables que comparan 2 grupos, la significancia estadística fue corroborada por medio del test de U de Mann-Whitney, mientras que para en caso de las variables que comparan 3 grupos se utilizó el test de Kruskal-Wallis. Se consideró que existía una diferencia estadísticamente significativa para un valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

### Caracterización de la muestra

Tal como se indica en la Figura 2, en total fueron reclutados 190 pacientes entre los 3 centros de salud; 93 HEGC, 61 HRR y 36 HLCM. Para efectos del análisis, 29 pacientes fueron excluidos por no cumplir con los criterios del estudio o por tener información incompleta en su ficha clínica, dejando un total de 161 pacientes para analizar.



*Figura 2: Esquema de pacientes incluidos en el estudio.*

La Tabla 3 de caracterización sociodemográfica presenta un resumen de características de la muestra de pacientes analizados (n=161). Se incluyen las variables como sexo, edad de diagnóstico, nacionalidad, región de origen y previsión de salud.

**Tabla 3:** Caracterización sociodemográfica.

<b>Características</b>		<b>Pacientes n (%)</b>
<b>Sexo</b>	Femenino	75 (46,6)
	Masculino	86 (53,4)
<b>Edad de diagnóstico mediana (RIC)</b>		4,8 (2,9 - 7,8)
<b>Edad de diagnóstico (media ± DE)</b>		5,7 ± 3,4
<b>Nacionalidad</b>	Chileno/a	111 (68,9)
	Otra	13 (8,1)
	Sin información	37 (23,0)
<b>Región de origen</b>	Arica y Parinacota	4 (2,5)
	Tarapacá	6 (3,7)
	Antofagasta	3 (1,9)
	Atacama	9 (5,6)
	Coquimbo	22 (13,7)
	Valparaíso	1 (0,6)
	Metropolitana	81 (50,3)
	Libertador Bernardo O´Higgins	29 (18,0)
	Maule	1 (0,6)
	Sin información	5 (3,1)
<b>Previsión</b>	FONASA	157 (97,5)
	ISAPRE	0 (0)
	Sin información	4 (2,5)
<b>Tramo FONASA</b>	A	72 (45,9)
	B	48 (30,6)
	C	20 (12,7)
	D	17 (10,8)
	Total	157 (100,0)

De los 161 pacientes, un 50,3% (81) corresponde a residentes de la Región Metropolitana, seguido de la Región del Libertador Bernardo O´Higgins y Región de Coquimbo. Con excepción de un Centro Integral PINDA (Unidad de Oncología Infantil de Alta Complejidad) en Antofagasta, los pacientes desde la Región de Arica hasta Libertador Bernardo O´Higgins deben trasladarse a la Región Metropolitana para recibir tratamiento, lo que se

ve reflejado en la Tabla 3. A partir de la Región de Valparaíso existen otros Centros Integrales del PINDA donde los pacientes de la zona sur reciben su tratamiento.

En cuanto a la edad de diagnóstico la mediana se encuentra en los 4,8 años y se encuentran distribuidos de la siguiente manera en rangos de edad:

**Tabla 4:** Rango de edad pacientes al diagnóstico

<b>Rango de edad</b>	<b>Pacientes n (%)</b>
<b>&gt; 1 año y &lt; 4 años</b>	63 (39,1)
<b>&gt;4 años y &lt;9 años</b>	63 (39,1)
<b>&gt;9 años y &lt;14 años</b>	28 (17,4)
<b>&gt;14 años y &lt; 18 años</b>	4 (2,5)
<b>Sin información</b>	3 (1,9)
<b>Total</b>	161 (100)

No se reclutaron pacientes menores de 1 año ya que en este grupo se utiliza un protocolo especialmente diseñado para LLA del lactante que es el protocolo INTERFANT 06. para estos pacientes el pronóstico es el menos favorable con un índice de supervivencia del 46% tal como se indica en la literatura.

Los puntos de corte relevantes de la edad al diagnóstico se encuentran en la Tabla 4. Los rangos de edad fueron escogidos en base a información de publicaciones donde se encontró que los pacientes diagnosticados entre 1 y 9 años tienen el mejor índice de supervivencia, siendo el peak de mejores resultados entre 1 y 4 años con un índice de supervivencia a 5 años del 87% que luego decae entre los 5 y 9 años con un índice de supervivencia a 5 años del 83%. Este patrón continúa en aquellos pacientes diagnosticados entre 9 y 14 años con un índice de supervivencia a 5 años del 71%, y finalmente entre 15 y 19 años con un índice de supervivencia a los 5 años del 57% (33).

Según la literatura la mayor incidencia de casos es en edades preescolares, específicamente entre los 2 y 5 años de edad. En el grupo de pacientes de este trabajo un 44,1% (71) se encuentran en ese rango de edad (34).

En la Tabla 5 de caracterización clínica se presentan las condiciones de salud de los pacientes al momento de ser diagnosticados, junto con los signos presentados. El estatus SNC, nivel de riesgo inicial y riesgo final son parámetros que se deben categorizar en los pacientes al momento de diagnóstico para decidir la quimioterapia a utilizar y el requerimiento de radioterapia.

**Tabla 5:** Caracterización clínica.

<b>Característica</b>		<b>Pacientes n (%)</b>
<b>Año de diagnóstico. Mediana (RIC)</b>		2020 (2018 - 2021)
<b>Condición de salud previa</b>	Asma	8 (17,4)
	Obesidad	10 (21,7)
	Hipotiroidismo	4 (8,7)
	Síndrome de Down	3 (6,5)
	Otras condiciones	13 (28,3)
	Condiciones de salud mental	8 (17,4)
	Total	46 (100,0)
<b>Condición salud mental</b>	TEA	3 (37,5)
	Otros trastornos del ánimo	2 (25,0)
	TDAH	1 (12,5)
	Trastorno adaptativo	1 (23,5)
	Depresión	1 (12,5)
	Total	8 (100,0)
<b>Órganos involucrados al diagnóstico</b>	Retina	2 (1,2)
	Parálisis del nervio craneal	1 (0,6)
	Hepatomegalia	99 (61,5)
	Esplenomegalia	85 (52,8)
	Timo/mediastino	6 (3,7)
	Testículos/ovarios	7 (4,4)
	Compromiso óseo	5 (3,1)
	Adenomegalia	3 (1,9)
	Nefromegalia	5 (3,1)
	Total	161 (100,0)

<b>Estatus SNC</b>	SNC-1	126 (78,3)
	SNC-2	17 (10,6)
	SNC-3	11 (6,8)
	Sin información	7 (4,4)
	Total	161 (100,0)
<b>Nivel de riesgo inicial</b>	Estándar	61 (39,4)
	Medio	88 (56,8)
	Alto	6 (3,9)
	Sin información	6 (3,9)
	Total	161 (100,0)
<b>Nivel de riesgo final</b>	Estándar	18 (11,2)
	Medio	109 (67,7)
	Alto	29 (18,0)
	Sin información	5 (3,1)
	Total	161 (100,0)

*TEA: trastorno del espectro autista; TDAH: trastorno por déficit de atención e hiperactividad; SNC: sistema nervioso central.*

Cabe destacar de la Tabla 5 de caracterización clínica que los pacientes pueden presentar más de un signo u órgano involucrado al momento de diagnóstico.

Los signos más repetidos al momento del diagnóstico fueron hepatomegalia y esplenomegalia con un 61,5% (n= 99) y 52,8% (n= 85) respectivamente. Para 73 pacientes, estos signos se dieron en forma conjunta, lo que se traduce en un 45,3% del total de pacientes.

En el estatus de SNC, un 78,3% (n= 126) corresponde a SNC-1, lo que implica la ausencia clínica de leucemia que afecte al sistema nervioso central. Un 10,6% (17) corresponde a SNC-2 lo que implica blastos identificados en el líquido céfalo raquídeo (LCR) o una punción lumbar traumática. Finalmente, un 6,8% (11) son categorizados SNC-3, lo que puede deberse a la presencia de una masa tumoral en el cerebro, parálisis de nervio craneal o compromiso retinal aislado. En SNC-3 los pacientes pueden presentar todos estos síntomas o solo uno de ellos, así como también pueden presentar síntomas de SNC-2, siendo no

excluyente para ser catalogado como SNC-3. De siete de los pacientes no se encontró información respecto a su estatus de SNC, lo que corresponde a un 4,4% (7).

Tal como se indica en la Tabla 5, el nivel de riesgo inicial puede variar con el que finalmente le fue asignado según la respuesta en los primeros días de tratamiento. De hecho, se logra apreciar que, si bien el 39,4% (61) de los pacientes son categorizados al inicio con riesgo estándar, este valor baja a un 11,2% (n= 18) debido a que son reclasificados en riesgo intermedio o alto durante el primer protocolo de quimioterapia.

**Tabla 6:** Esquema de quimioterapia recibido.

	<b>Características</b>	<b>Pacientes n (%)</b>
<b>Esquema Recibido</b>	IB	146 (90,7)
	IB aumentado	15 (9,3)
	Total	161 (100,0)
<b>Esquema IB</b>	Duración en días (media $\pm$ DE)	40 $\pm$ 9,7
	Duración en día, mediana (RIC)	40 (32 - 47)
<b>Esquema IB aumentado</b>	Duración en días (media $\pm$ DE)	73,1 $\pm$ 9,5
	Duración en días, mediana (RIC)	73 (66 - 81)

Como se indica en la Tabla 6 la duración del protocolo IB según la guía PINDA es de 28 días, con una duración real promedio para este grupo de pacientes de 40  $\pm$  9,7 días. Para el protocolo IB aumentado, la duración según protocolo es 53 días, siendo la duración real en este caso particular de 73,1  $\pm$  9,5 días.

### **Caracterización genética**

Para *TPMT\*3B* se hizo el análisis a 133 (82,6%) pacientes de los 161 que contaban con toda la información disponible.

**Tabla 7: Características TPMT\*3B.**

<b>Características TPMT*3B (rs1800460)</b>	
<b>Frecuencia alélica</b>	
<b>Alelo C</b>	0,974
<b>Alelo T</b>	0,026
<b>Frecuencia genotípica</b>	<b>Pacientes n (%)</b>
<b>C/C</b>	126 (94,7)
<b>C/T</b>	7 (5,3)
<b>T/T</b>	0

Para SLC28A2, el análisis se realizó a 114 (70,8%) pacientes de los 161 con los que se contaba con toda la información disponible, al igual que para TPMT\*3B. Esta reducción se debió exclusivamente a falta de reactivos para realizar el análisis a la muestra completa.

**Tabla 8: Características SLC28A2.**

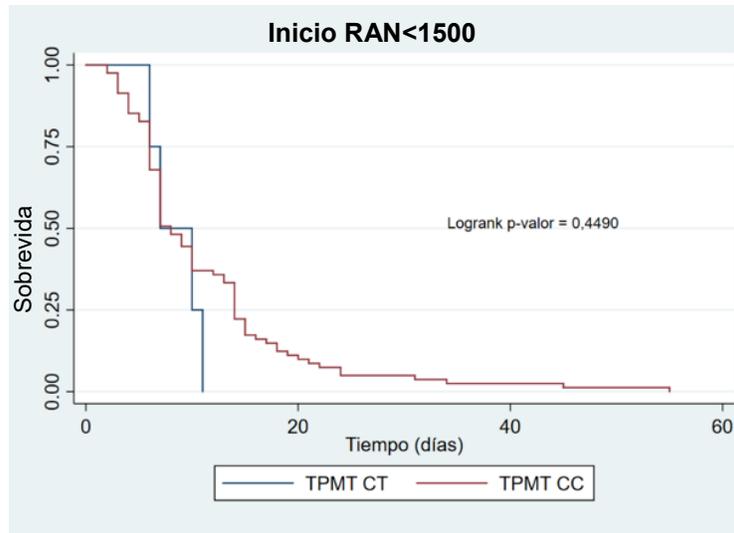
<b>Características SLC28A2 (rs11854484)</b>	
<b>Frecuencia alélica</b>	
<b>Alelo C</b>	0,671
<b>Alelo T</b>	0,329
<b>Frecuencia genotípica</b>	<b>Pacientes n (%)</b>
<b>C/C</b>	58 (50,9)
<b>C/T</b>	37 (32,4)
<b>T/T</b>	19 (16,7)

### **Asociación entre polimorfismo TPMT\*3B (rs1800460) y Recuento Absoluto de Neutrófilos**

#### Curvas de supervivencia según grado de neutropenia

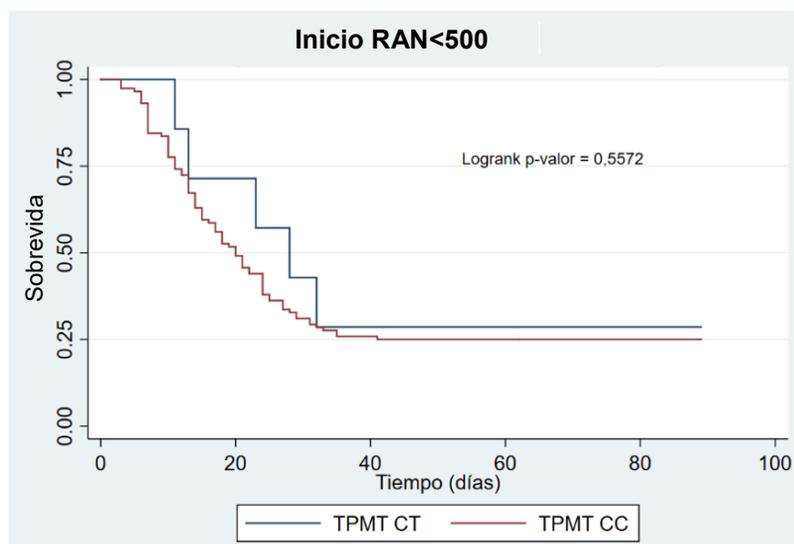
Para el caso del polimorfismo TPMT\*3B (rs1800460), no se encontró una diferencia significativa entre el heterocigoto C/T, homocigoto C/C y el inicio de RAN<1500. Esto fue probado con el test de Logrank con un p-valor= 0,4490. La mediana de supervivencia de inicio

de neutropenia para los pacientes de genotipo C/T fue de 7 días y para aquellos de genotipo C/C fue de 9 días.



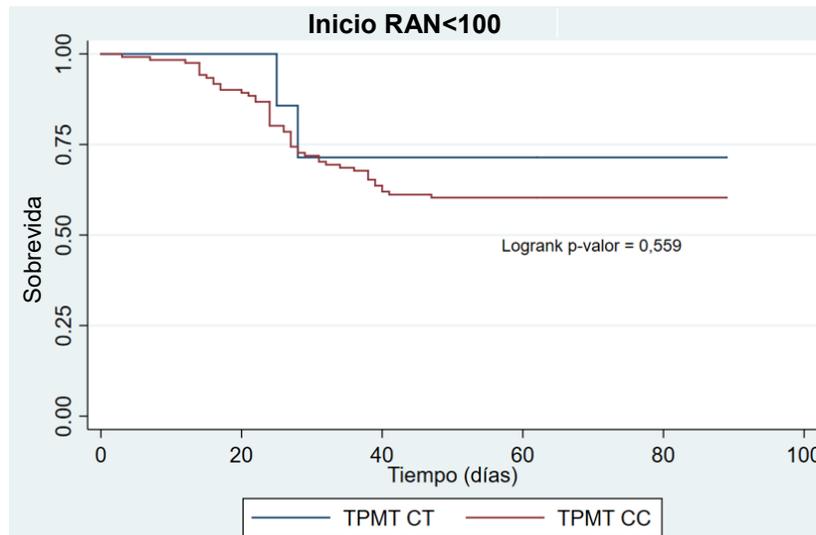
**Figura 3:** Curva de sobrevivida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<1500 por genotipo polimorfismo TPMT\*3B (rs1800460).

Como se aprecia en la Figura 4, no se encontró una diferencia significativa entre el heterocigoto C/T, homocigoto C/C y el inicio de RAN<500. Esto fue probado con el test de Logrank con un p-valor= 0,5572. La mediana de sobrevivida para los pacientes de genotipo C/T fue de 23 días y para aquellos de genotipo C/C fue de 21 días.



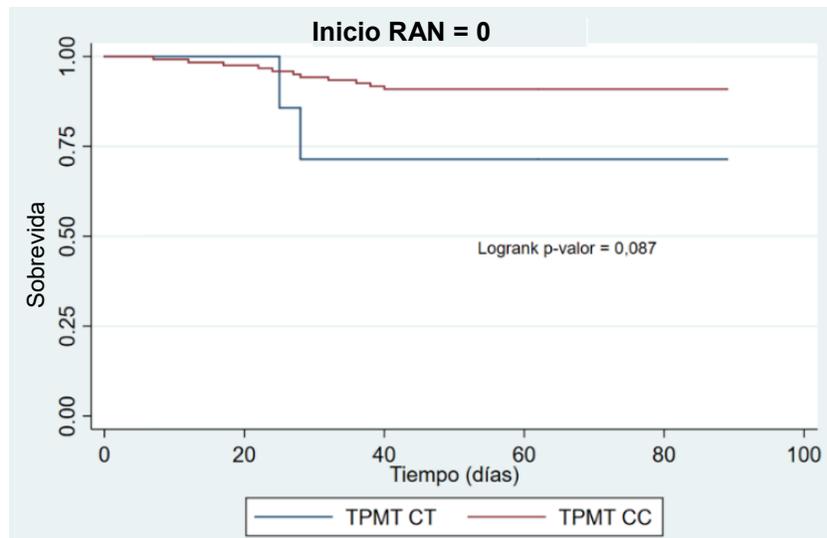
**Figura 4:** Curva de sobrevivida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<500 por genotipo polimorfismo TPMT\*3B (rs1800460).

De acuerdo con la Figura 5, no se encontró una diferencia significativa entre el heterocigoto C/T, homocigoto C/C y el inicio de RAN<100. Esto fue probado con el test de Logrank con un p-valor= 0,559. La mediana de sobrevida para los pacientes de genotipo C/T fue de 28 días y para aquellos de genotipo C/C fue de 26 días.



**Figura 5:** Curva de sobrevida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<100 por genotipo polimorfismo TPMT\*3B (rs1800460).

No se encontró una diferencia significativa entre el heterocigoto C/T, homocigoto C/C y el inicio de RAN = 0. Esto fue probado con el test de Logrank con un p-valor= 0,087. La mediana de sobrevida para los pacientes de genotipo C/T fue de 26,5 días y para aquellos de genotipo C/C fue de 27 días.

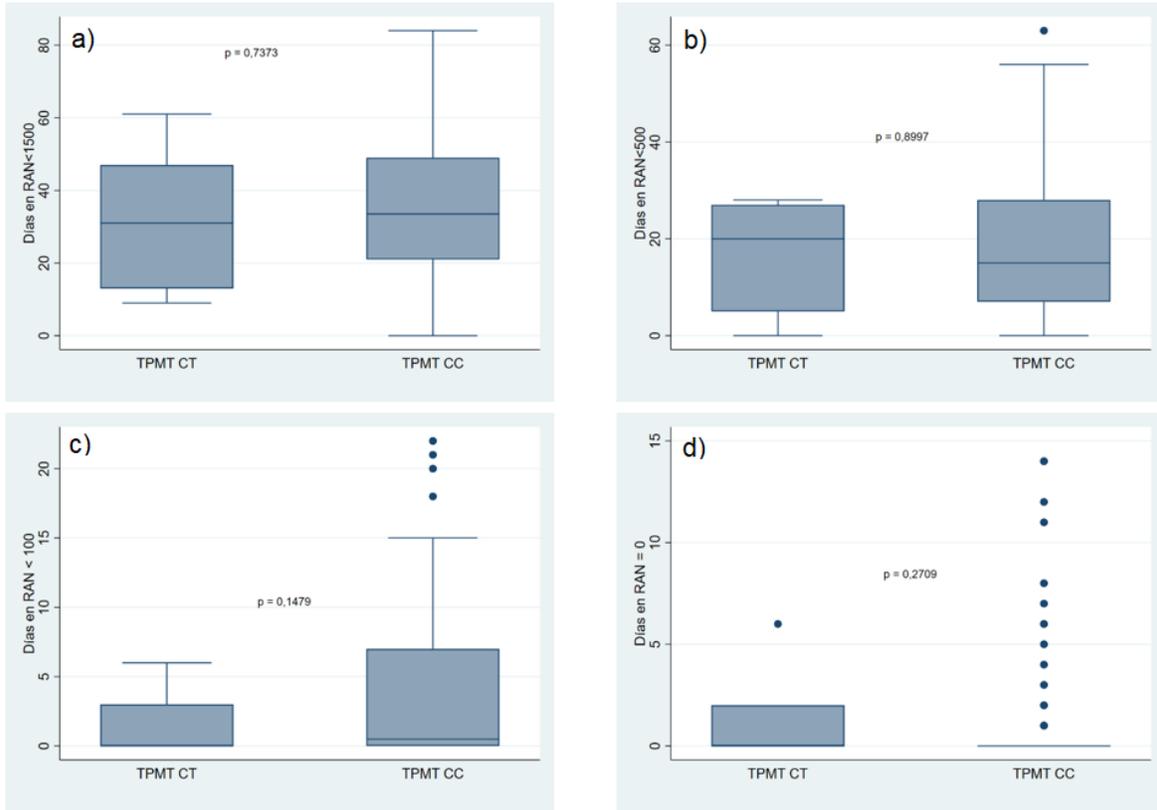


**Figura 6:** Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN= 0 por genotipo polimorfismo TPMT\*3B (rs1800460).

En conclusión, para ninguno de estos casos se encontró una diferencia significativa entre los genotipos y el inicio de RAN.

#### Análisis según duración en días de neutropenia

En el estudio de la duración en días de la neutropenia según genotipo, no se encontró una diferencia significativa en las medianas en ninguno de los casos (Figura 7). La diferencia fue testeada con la prueba U de Mann-Whitney.



**Figura 7:** Diagrama de caja de genotipos TPMT\*3B y duración en días de a) RAN<1500, b) RAN<500, c) RAN<100 y d) RAN= 0.

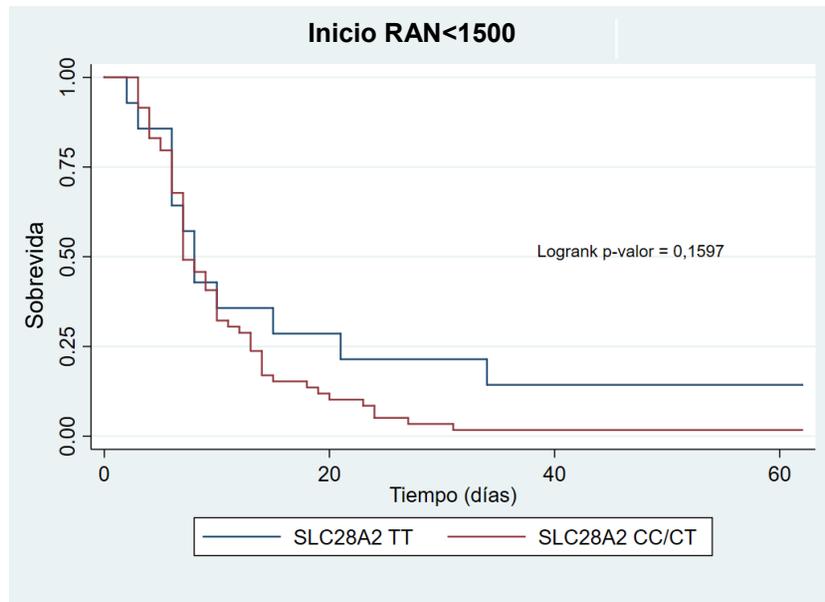
## Asociación entre polimorfismo SLC28A2 y Recuento Absoluto de Neutrófilos (RAN)

### Curvas de supervivencia según grado inicial de neutropenia

Para el análisis de SLC28A2 (rs11854484), se realizó un análisis de modelos de herencia para determinar si este polimorfismo sigue un modelo dominante, recesivo o codominante, siendo en este caso C el alelo normal.

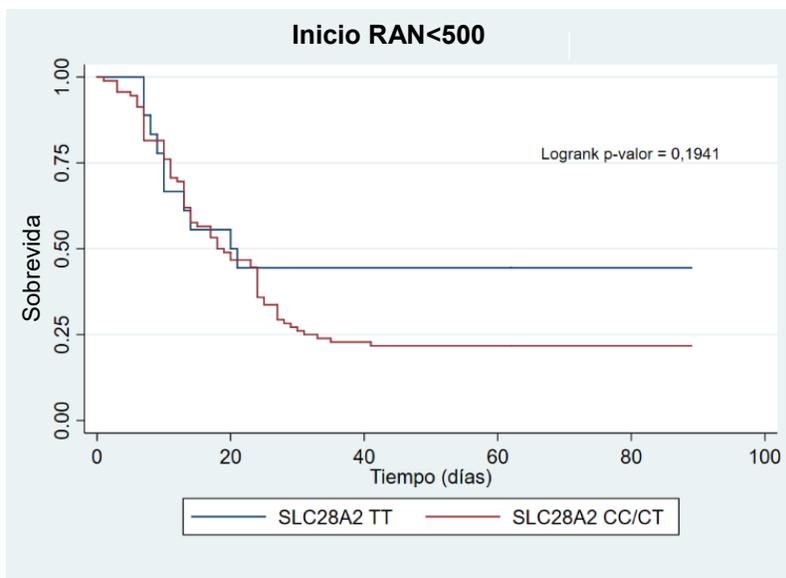
Se realizó también análisis de supervivencia para el inicio del RAN<1500, en este caso no se encontró una diferencia estadísticamente significativa al analizar con test de Logrank para el modelo dominante ( $p = 0,6336$ ), recesivo ( $p = 0,1597$ ) ni codominante ( $p = 0,9140$ ) (Anexo

6.1). La mediana de sobrevida para los pacientes de genotipo C/C fue de 7 días, para aquellos de genotipo C/T fue de 7 días y para pacientes de genotipo T/T 8 días.



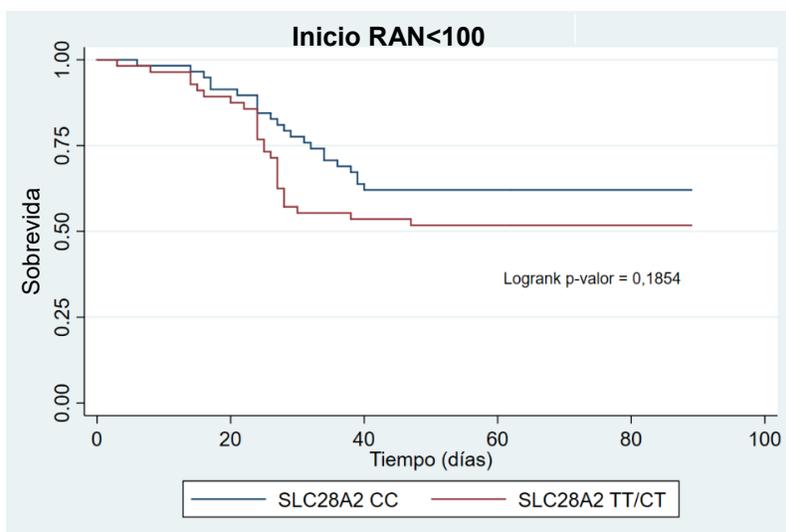
**Figura 8:** Curva de sobrevida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<1500 según modelo recesivo de SLC28A2 (rs11854484).

Se realizó análisis de curva de sobrevida para el inicio del RAN<500 y no se encontró una diferencia estadísticamente significativa al analizar con test de Logrank para el modelo dominante ( $p = 0,8479$ ), recesivo ( $p = 0,1941$ ) ni codominante ( $p = 0,7223$ ) (Anexo 6.2). La mediana de sobrevida para los pacientes de genotipo C/C fue de 20 días, para aquellos de genotipo C/T fue de 17 días y para pacientes de genotipo T/T 20 días.



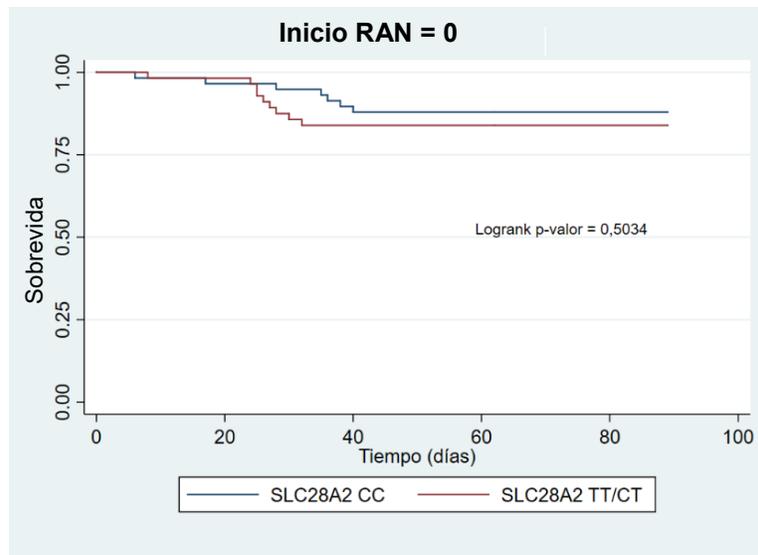
**Figura 9:** Curva de sobrevida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<500 según modelo recesivo de SLC28A2 (rs11854484).

Se realizó análisis de sobrevida para el inicio del RAN<100 y no se encontró una diferencia estadísticamente significativa al analizar con test de Logrank para el modelo dominante ( $p = 0,1854$ ), recesivo ( $p = 0,9898$ ) ni codominante ( $p = 0,3403$ ) (Anexo 6.3). La mediana de sobrevida para los pacientes de genotipo C/C fue de 26 días, para aquellos de genotipo C/T fue de 26,5 días y para pacientes de genotipo T/T 27 días.



**Figura 10:** Curva de sobrevida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<100 según modelo dominante de SLC28A2 (rs11854484).

Del mismo modo, se realizó análisis de sobrevida para el inicio del RAN = 0 y no se encontró una diferencia estadísticamente significativa al analizar con test de Logrank para el modelo dominante ( $p = 0,5034$ ), recesivo ( $p = 0,6468$ ) ni codominante ( $p = 0,6026$ ) (Anexo 6.4). La mediana de sobrevida para los pacientes de genotipo C/C fue de 35 días, para aquellos de genotipo C/T fue de 28 días y para pacientes de genotipo T/T 27 días.

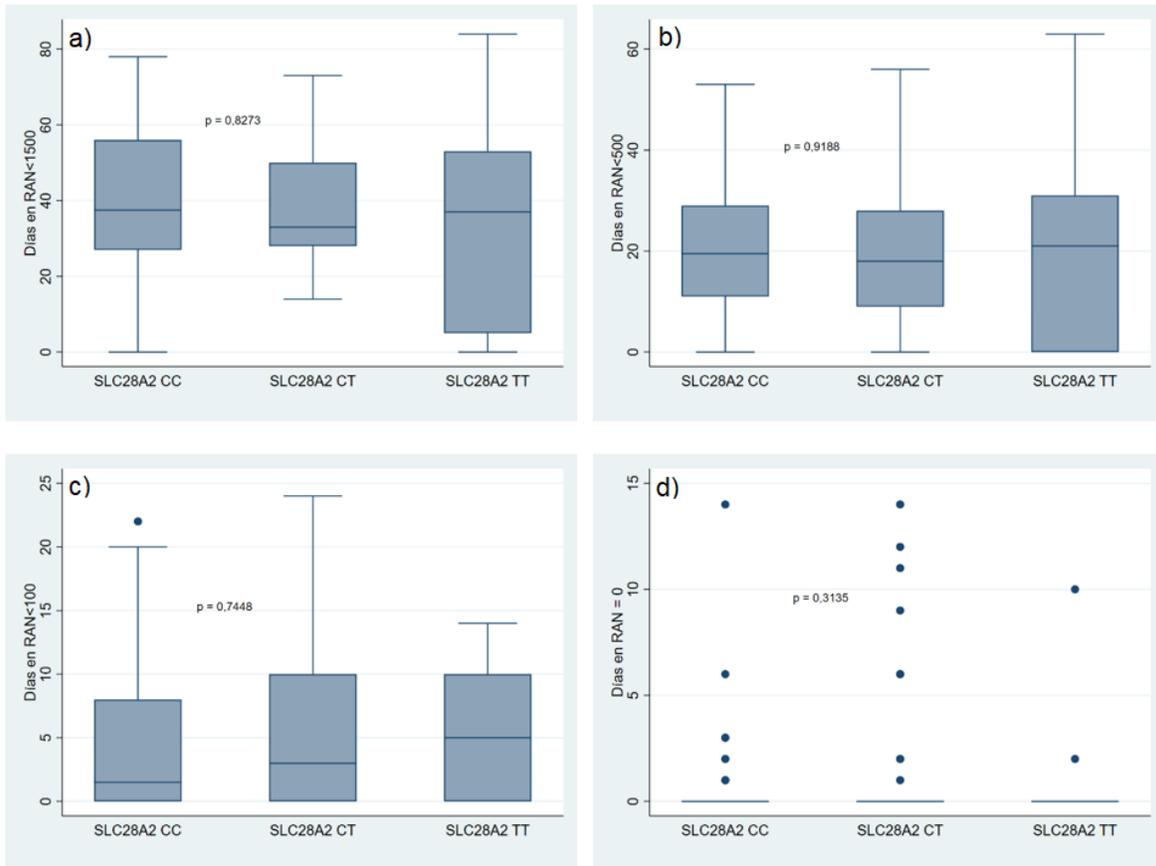


**Figura 11:** Curva de sobrevida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN= 0 según modelo dominante de SLC28A2 (rs11854484).

En conclusión, para SLC28A2 (rs11854484) no se encontró una diferencia significativa en el inicio de la neutropenia y el genotipo.

### Análisis según duración en días de neutropenia

Para los genotipos de SLC28A2 no se encontró diferencia significativa en las medianas de duración en días de neutropenia (Figura 12). La diferencia fue testeada con la prueba de Kruskal-Wallis.



**Figura 12:** Diagrama de caja de genotipos SLC28A2 y duración en días de a) RAN<1500, b) RAN<500, c) RAN<100 y d) RAN= 0.

Al probar los modelos de herencia dominante y recesivo tampoco se encontró diferencia en las medianas de duración de neutropenia como se indica en la Tabla 9, la diferencia fue testeada con la prueba de U de Mann-Whitney (Anexo 7).

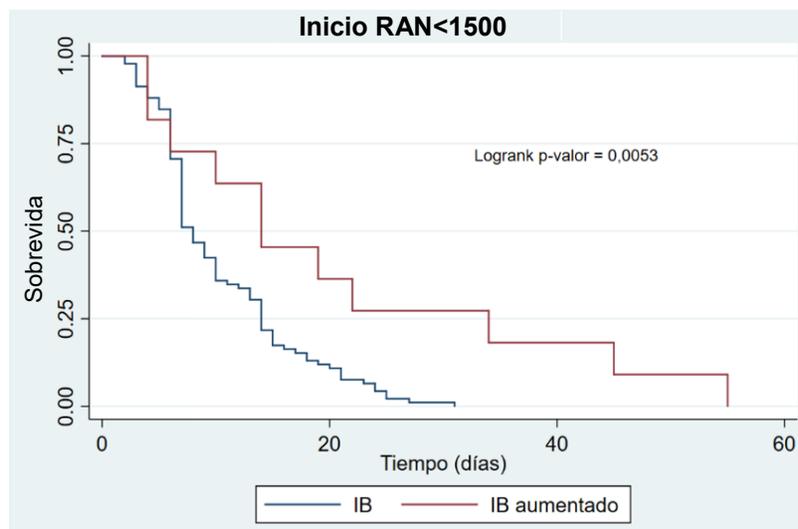
**Tabla 9:** Test U de Mann-Whitney para mediana de duración de neutropenia en días para modelos de herencia de SLC28A2.

Nivel de RAN	Modelo dominante	Modelo recesivo
<b>RAN &lt;1500</b>	p = 0,5941	p = 0,6050
<b>RAN &lt;500</b>	p = 0,8137	p = 0,6836
<b>RAN &lt;100</b>	p = 0,4943	p = 1,000
<b>RAN = 0</b>	p = 0,4594	p = 0,3959

## Asociación entre esquema recibido (IB o IB aumentado) y Recuento Absoluto de Neutrófilos (RAN)

### Curva de sobrevida según grado inicial de neutropenia

Para el caso del esquema recibido (IB o IB aumentado) se encontró una diferencia significativa en el inicio de RAN<1500 con un p-valor de 0,0053, lo que indica que el esquema utilizado está asociado con el inicio de la neutropenia. La mediana de sobrevida para los pacientes que recibieron esquema IB fue de 8 días y para aquellos con esquema IB aumentado fue de 14 días.



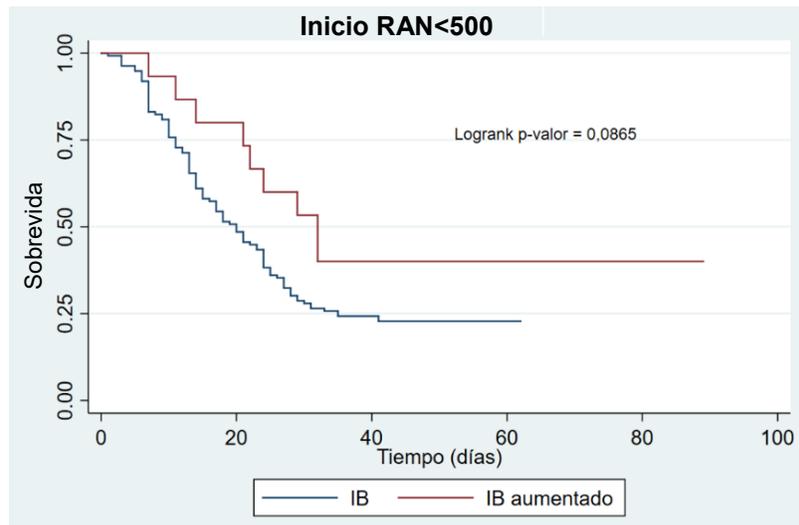
**Figura 13:** Curva de sobrevida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<1500 según esquema recibido.

De acuerdo con la Tabla 10 de resumen de la regresión multivariada de Cox los pacientes que utilizaron el esquema IB tienen 2,5 veces más riesgo de experimentar un RAN<1500 en comparación con aquellos pacientes en esquema IB aumentado (esquema de referencia), con un p – valor = 0,016. Las variables por las cuales fue ajustada este modelo, que son sexo, edad y riesgo final no resultaron ser estadísticamente significativas.

**Tabla 10:** Resumen regresión multivariada de Cox para la relación entre el esquema recibido e inicio de RAN<1500.

Variable		Hazard ratio	Intervalo de confianza del 95%		p - valor
Esquema	IB aumentado	1,00	Referencia		
	IB	2,5	1,19	5,32	0,016
Sexo	Femenino	1,00	Referencia		
	Masculino	1,02	0,66	1,58	0,909
Edad		0,96	0,9	1,03	0,242
Riesgo final	Estándar	1,00	Referencia		
	Intermedio	0,41	0,22	0,78	0,007
	Alto	0,59	0,25	1,38	0,225

Se realizó análisis de sobrevida para el inicio del RAN<500 y no se encontró una diferencia significativa entre los esquemas IB y IB aumentado, probado con test de Logrank p - valor = 0,0865. La mediana de sobrevida para los pacientes que recibieron esquema IB fue de 20 días y para aquellos con esquema IB aumentado fue de 32 días.



**Figura 14:** Curva de sobrevida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<500 según esquema recibido.

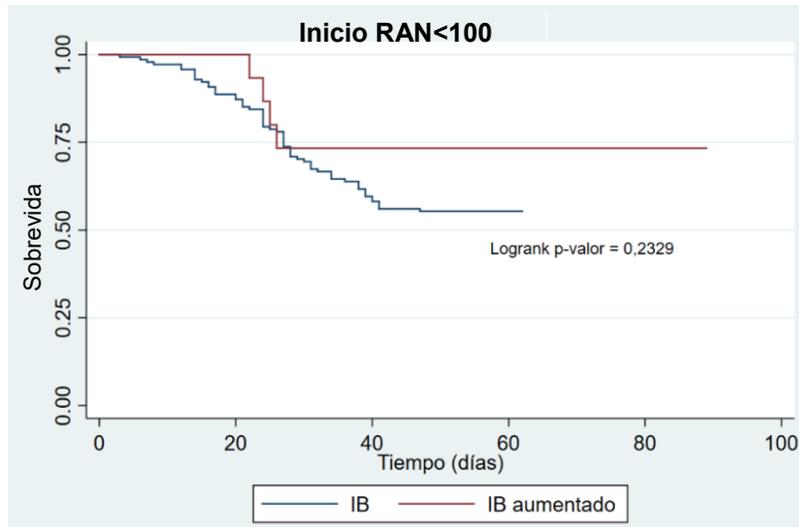
Si bien no se encontró evidencia en el test de Logrank ( $p = 0,0865$ ) que indique que las funciones de supervivencia entre los grupos definidos de pacientes en esquema IB y IB aumentado son estadísticamente diferentes, en el modelo de regresión de Cox en su conjunto si es significativo ( $p = 0,0051$ ).

Como se indica en la Tabla 11, en la variable esquema recibido, el HR es de 2,0 lo que sugiere que para aquellos pacientes en esquema IB tienen dos veces mayor riesgo de experimentar RAN<500 en comparación con aquellos en IB aumentado. Aunque este resultado para esquema recibido no es estadísticamente significativo a un nivel convencional ( $p = 0,060$ ), el valor  $p$  está a un decimal del umbral de 0,05.

**Tabla 11:** Resumen regresión multivariada de Cox para la relación entre el esquema recibido e inicio de RAN<500.

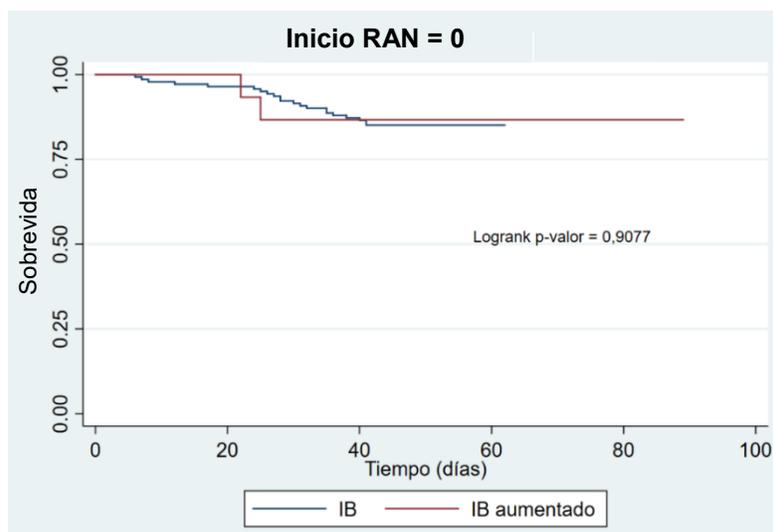
Variable		Hazard ratio	Intervalo de confianza del 95%		p - valor
Esquema	IB aumentado	1,00	Referencia		
	IB	2	0,97	4,14	0,06
Sexo	Femenino	1,00	Referencia		
	Masculino	0,74	0,51	1,09	0,13
Edad		0,94	0,89	1,01	0,083
Riesgo final	Estándar	1,00	Referencia		
	Intermedio	1,13	0,62	2,05	0,687
	Alto	2,38	1,16	4,86	0,017

Se realizó un análisis descriptivo mediante curva de supervivencia para el inicio del RAN<100 y no se encontró una diferencia significativa entre los esquemas IB y IB aumentado, esto fue probado con test de Logrank ( $p - valor = 0,2329$ ). La mediana de supervivencia para los pacientes que recibieron esquema IB fue de 26 días y para aquellos con esquema IB aumentado fue de 25 días.



**Figura 15:** Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN < 100 según esquema recibido.

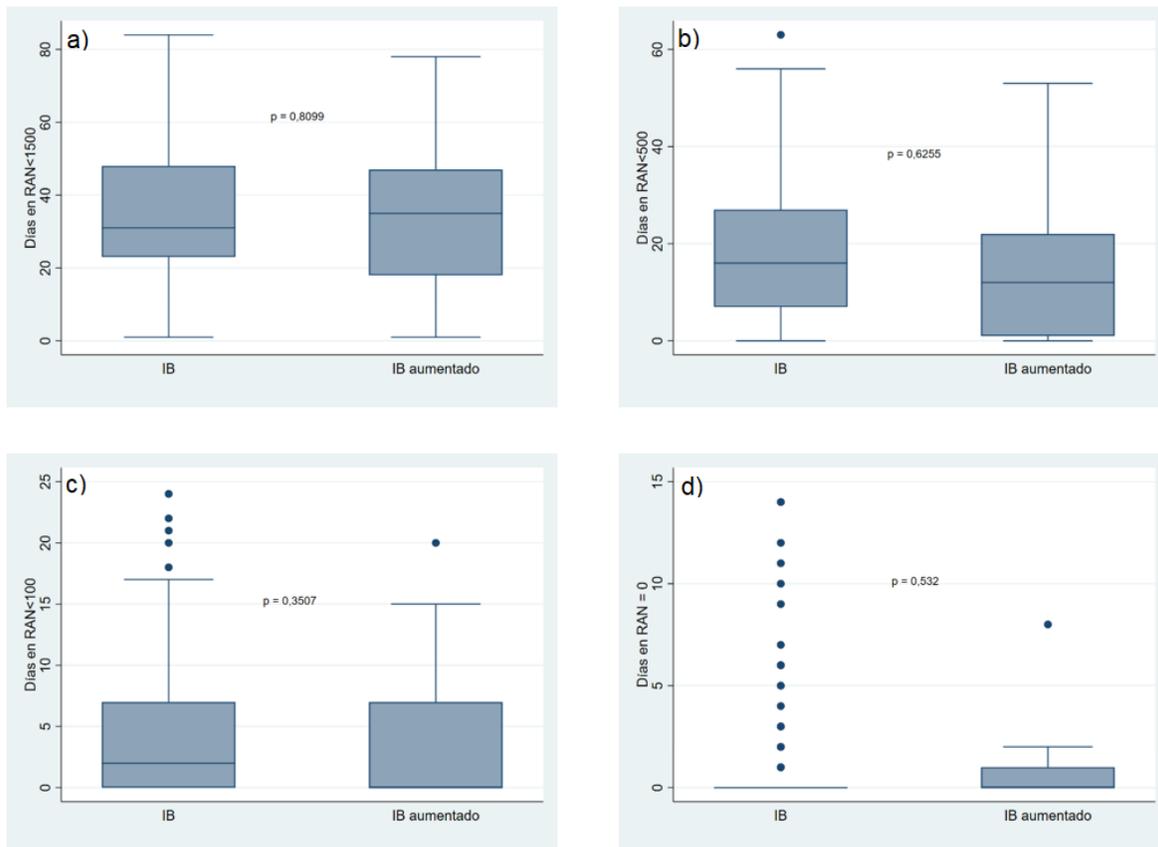
Se realizó análisis de supervivencia para el inicio del RAN = 0 y no se encontró una diferencia significativa entre los esquemas IB y IB aumentado. Probado con test de Logrank p-valor = 0,9077. La mediana de supervivencia para los pacientes que recibieron esquema IB fue de 28 días y para aquellos con esquema IB aumentado fue de 23,5 días.



**Figura 16:** Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN = 0 según esquema recibido.

## Análisis de duración en días neutropenia por esquema recibido

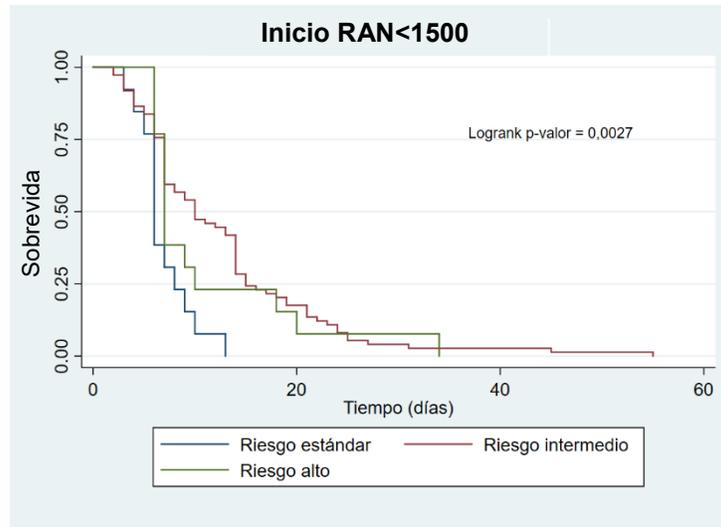
En cuanto a la duración en días de neutropenia según esquema recibido, no se encontró diferencia significativa en ninguno de los niveles de neutropenia estudiados. La diferencia fue testeada con prueba U de Mann-Whitney.



**Figura 17:** Diagrama de caja según esquema recibido y duración en días de a) RAN < 1500, b) RAN < 500, c) RAN < 100 y d) RAN = 0.

## **Asociación entre nivel de riesgo final del paciente (estándar, medio, alto) y el Recuento Absoluto de Neutrófilos (RAN)**

Para el estudio de nivel de riesgo final se encontró una diferencia estadísticamente significativa en las curvas de supervivencia entre los tres niveles de riesgo para en el inicio de RAN < 1500 con un p-valor de 0,0027. La mediana de supervivencia para los pacientes de RS fue de 6 días, pacientes en RI fue de 10 días y para aquellos en RA fue de 7 días.



**Figura 18:** Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<1500 según nivel de riesgo final.

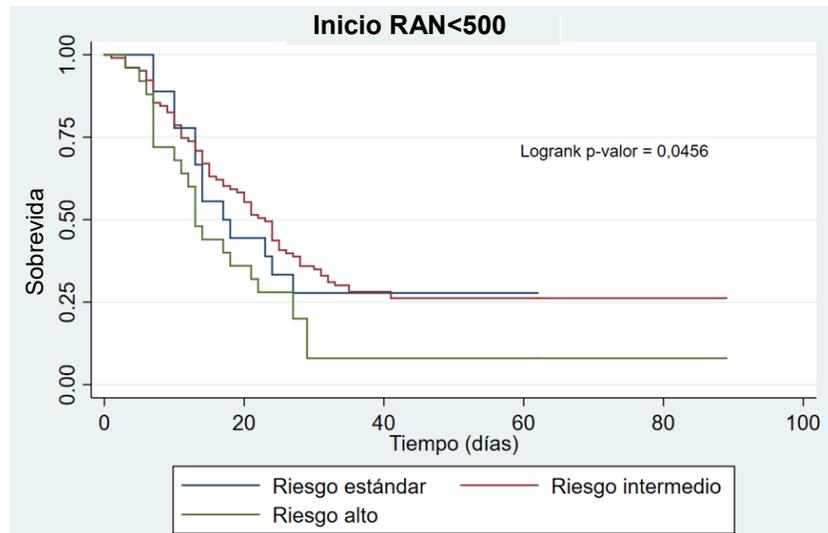
Se realizó una regresión multivariada de Cox ajustado por sexo, edad y esquema recibido como se muestra en la Tabla 12, siendo el RI el valor de referencia, se observó una diferencia que los pacientes con RS presentan 2,4 veces mayor riesgo de experimentar el inicio de neutropenia, con un HR = 2,41 y  $p = 0,007$ .

En el caso de los pacientes de RA también se observó un riesgo relativo mayor de sufrir neutropenia (HR = 1,425,  $p = 0,271$ ) respecto a los pacientes en RI, pero esta asociación no fue estadísticamente significativa.

**Tabla 12:** Resumen regresión multivariada de Cox para la relación entre el nivel de riesgo e inicio de RAN<1500.

Variable		Hazard Ratio	Intervalo de confianza del 95%		p - valor
Riesgo final	Estándar	2,41	1,27	4,58	0,007
	Intermedio	1,00	Referencia		
	Alto	1,43	0,76	2,68	0,271
Sexo	Femenino	1,00	Referencia		
	Masculino	1,03	0,67	1,58	0,909
Edad		0,96	0,9	1,03	0,242
Esquema	IB aumentado	1,00	Referencia		
	IB	2,54	1,18	5,41	0,016

También, se encontró un resultado significativo en la curva de sobrevida; para  $RAN < 500$  esta diferencia fue probada con el test de Logrank con un p – valor de 0,0456. La mediana de sobrevida para los pacientes de RS fue de 17 días, pacientes en RI fue de 24 días y para aquellos en RA fue de 13 días.



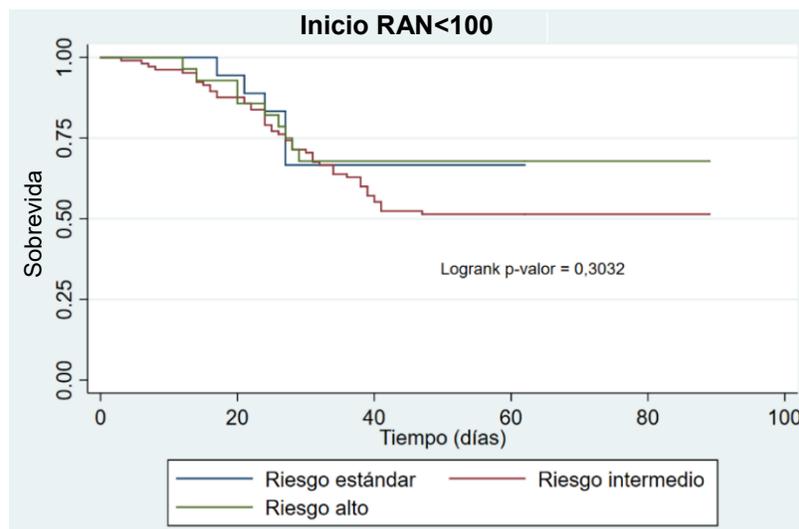
**Figura 19:** Curva de sobrevida para análisis de tiempo hasta inicio de  $RAN < 500$  según nivel de riesgo final.

Se realizó una regresión de Cox (Tabla 13) donde el valor de referencia es RS y se encontró que, para los pacientes de RA, el HR es de 2,38 con un p-valor de 0,017, lo que indica que el riesgo de experimentar el evento (inicio de  $RAN < 500$ ) es 2,38 veces mayor en comparación a los pacientes de RS. En cuanto a los pacientes en RI con RS como referencia, el HR es 1,13 lo cual no es estadísticamente significativo. Respecto a las variables de ajuste utilizadas en el modelo (sexo, edad y esquema recibido), no se encontró una asociación significativa.

**Tabla 13:** Resumen regresión multivariada de Cox para la relación entre el nivel de riesgo e inicio de RAN<500.

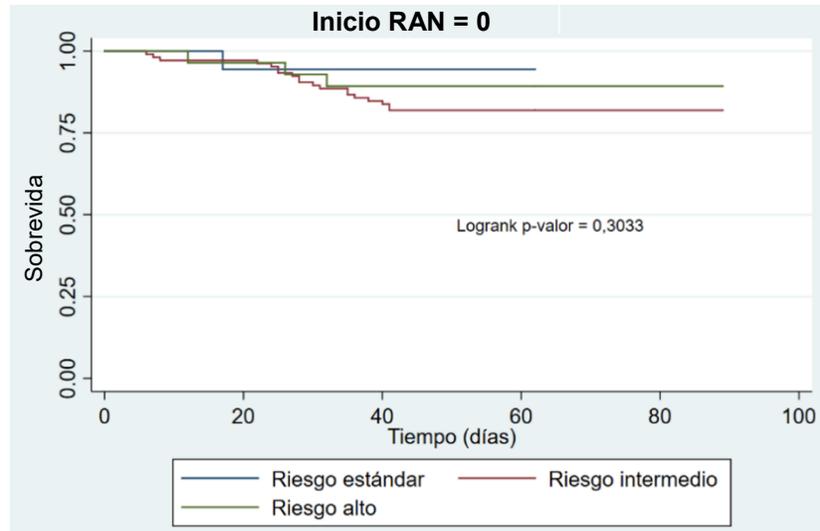
Variable		Hazard Ratio	Intervalo de confianza del 95%		p - valor
Riesgo final	Estándar	1,00	Referencia		
	Intermedio	1,13	0,62	2,06	0,687
	Alto	2,38	1,16	4,87	0,017
Sexo	Femenino	1,00	Referencia		
	Masculino	0,74	0,51	1,09	0,133
Edad		0,95	0,89	1,01	0,079
Esquema	IB aumentado	1,00	Referencia		
	IB	1,94	0,94	4,03	0,072

De acuerdo con la Figura 20, para el inicio de RAN<100 ( $p$ -valor= 0,3032) no se encontró una diferencia estadísticamente significativa, probado con test de Logrank. La mediana de supervivencia para los pacientes de RS fue de 24 días, pacientes en RI fue de 24 días y para aquellos en RA fue de 25 días.



**Figura 20:** Curva de supervivencia para análisis de tiempo hasta inicio de RAN<100 según nivel de riesgo final.

Para el inicio de RAN= 0 ( $p$ -valor= 0,3033) no se encontró diferencia significativa con la prueba de regresión de Cox ni Logrank. La mediana de sobrevida para los pacientes de RS fue de 17 días, pacientes en RI fue de 28 días y para aquellos en RA fue de 26 días.

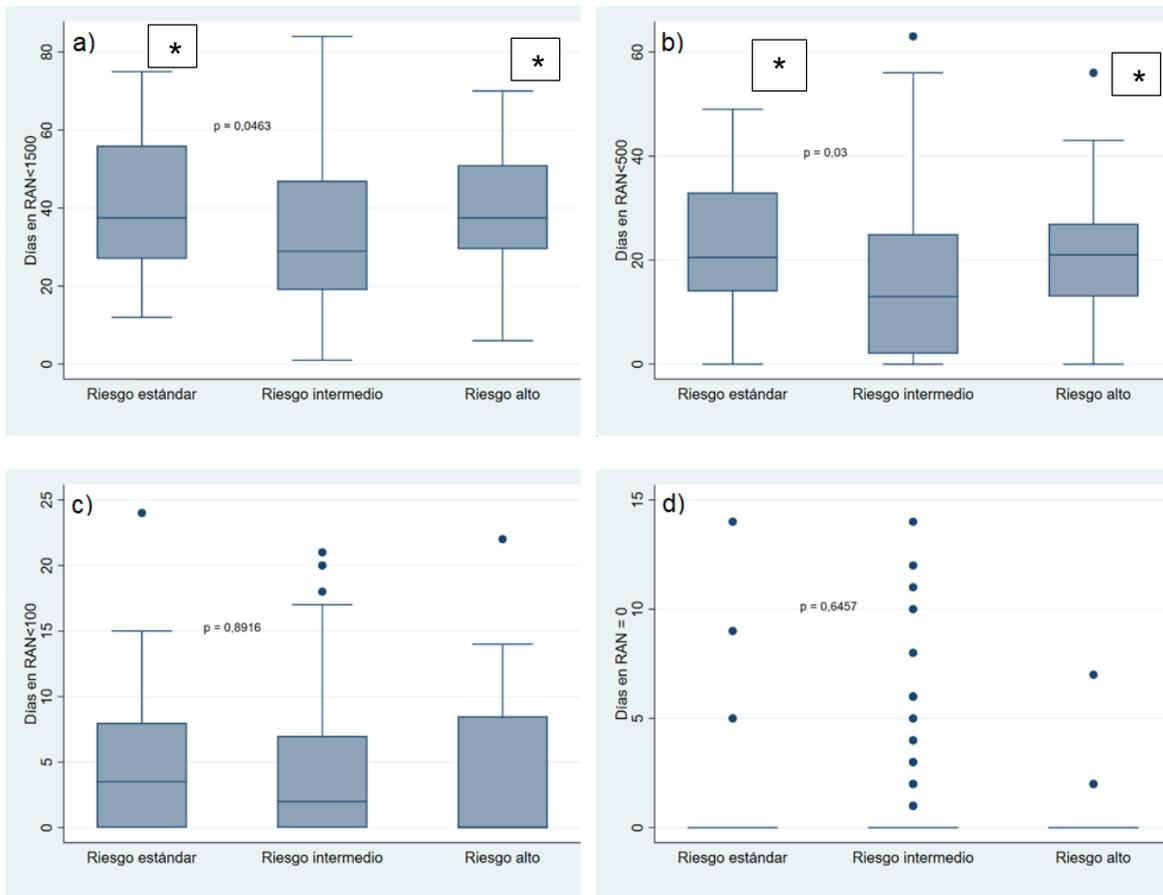


**Figura 21:** Curva de sobrevida para análisis de tiempo hasta inicio de RAN= 0 según nivel de riesgo final.

### Análisis de duración en días neutropenia según riesgo final del paciente

Se observó una diferencia significativa en duración de días en neutropenia para pacientes en RAN<1500. La significancia de estas diferencias fue confirmada por medio de la prueba de Kruskal-Wallis con un  $p$ -valor de 0,0463.

De igual forma, como se indica para RAN<500, la significancia de estas diferencias fue confirmada por la prueba de Kruskal-Wallis con un  $p$ -valor de 0,03. En el caso de RAN<100 y RAN= 0 no se encontró una diferencia significativa en la duración de la neutropenia.



**Figura 22:** Diagrama de caja según nivel de riesgo y duración en días de a) RAN<1500, b) RAN<500, c) RAN<100 y d) RAN=0.

En el caso de la figura 22-a), luego de realizar un análisis post hoc tras haber obtenido un resultado significativo con el test de Kruskal-Wallis, la diferencia significativa en la duración de días en neutropenia está dado por los pacientes en RS versus los pacientes en RI, y también por aquellos pacientes en RS versus pacientes en RI. No se encontró una diferencia significativa entre el grupo de pacientes en RS versus los pacientes de RA.

Para el caso de la figura 22-b), nuevamente, después de realizar un análisis post hoc por un resultado significativo en el test de Kruskal-Wallis la diferencia significativa entre los grupos está dada por aquellos pacientes en RS y RA versus los pacientes en RI. No se encontró una diferencia significativa entre los pacientes en RS y RA.

## DISCUSIÓN

El estudio de los polimorfismos de los genes involucrados en la farmacoterapia de la LLA es un claro ejemplo de los posibles beneficios de la farmacogenética en la aplicación clínica. La presencia de reacciones adversas potencialmente mortales, como es el caso de la neutropenia producida por la 6-MP, indica la importancia de la medicina personalizada según cada paciente y sus particularidades.

La evidencia de estudios en Chile que busquen identificar en pacientes pediátricos con LLA las frecuencias de polimorfismos de los genes más importantes según literatura, y su impacto clínico según las reacciones adversas presentadas y la gravedad de éstas es escasa, por lo que este estudio es un primer acercamiento a identificar polimorfismos de importancia clínica y su impacto en la neutropenia.

Por otra parte, no existe en Chile un estudio reciente que contemple caracterización de pacientes pediátricos con LLA; el último fue publicado en 1999 (35), por lo que los datos que aporta este nuevo grupo de pacientes es de gran valor.

El polimorfismo *TPMT\*3B* (rs1800460) se ha asociado con una menor actividad de la enzima *TPMT*, lo que se traduce en mayor toxicidad en los pacientes. En algunos casos, se hace necesario disminuir la dosis de 6-MP, lo que se ve de manera consistente en la literatura (17). En el estudio realizado, se encontraron 7 (5,2%) pacientes heterocigotos para el polimorfismo estudiado. Sin embargo, no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el polimorfismo y la duración e inicio de la neutropenia.

Dentro de población chilena, el único estudio previo de genotipificación para el gen *TPMT* en pacientes pediátricos con LLA indica que de 103 pacientes reclutados ninguno presentó el polimorfismo *TPMT\*3B* (36), por lo que no se pudo realizar el análisis del polimorfismo y su impacto en la toxicidad.

En este contexto, la única publicación con población chilena es de Owen y cols, la cual encontró una frecuencia de presentación del polimorfismo para esta población del 3,1%, siendo el segundo grupo de población que más presenta este polimorfismo en comparación con población americana mestiza (4%), europea (2,8%), asiáticos del este (0%), sudeste asiáticos (0,4%) y africana (0,3%) (37). En este aspecto, lo esperado según la literatura era tener una menor cantidad de pacientes que presentaran el polimorfismo en población chilena.

Si bien existen publicaciones donde fue encontrada una relación significativa entre genotipo de *TPMT* y la toxicidad hematológica relacionada con 6-MP (38), también hay estudios donde no se encontró esta diferencia estadísticamente significativa, como el caso de uno de los escasos estudios realizados en Latinoamérica por Correa-Jiménez y cols en población colombiana, donde el polimorfismo *TPMT\*3B* no tuvo relación estadísticamente significativa con la toxicidad hematológica a causa de 6-MP (39). Esta variabilidad en los resultados podría deberse a factores como la diferencia en la frecuencia del polimorfismo en la población estudiada o número de pacientes considerados en cada estudio respectivamente.

El Consorcio para la Implementación de Farmacogenética en la Clínica (CPIC) reconoce la importancia de la presencia de este polimorfismo y recomienda, dentro de sus directrices para los genotipos de *TPMT* (17), que en presencia de *TPMT\*3B* se mantenga una monitorización rigurosa de la mielosupresión en el paciente y se realice ajuste de dosis en función de ello, por lo que es importante profundizar en su estudio (20).

Los resultados entre el polimorfismo de *SLC28A2* (rs11854484) y la relación con la duración e inicio de la neutropenia resultaron ser no estadísticamente significativos en ninguno de los casos presentados. Para este polimorfismo en particular existe poca información disponible.

La motivación de incluir el gen *SLC28A2* en este estudio se basa en la relación encontrada en la literatura con la toxicidad hematológica. Sin embargo, estos hallazgos son para la variante rs2413775, mientras que la utilizada en esta investigación (rs11854484) ha mostrado toxicidad hematológica en otras enfermedades (VIH, Hepatitis C y algunos tipos de cáncer) por acción de otros medicamentos como gemcitabina, ribavirina y peginterferon alfa-2b, no así por 6-MP (31,40).

En el trabajo realizado por Soo y cols (35) se encontró una asociación de la presencia de *SLC28A2* (rs11854484) y la neutropenia. En este trabajo, el medicamento de interés fue gemcitabina en cáncer de pulmón de células no pequeñas. En el modelo de herencia para este trabajo se encontró que, para el modelo dominante, aquellos pacientes con genotipo CC tuvieron un menor grado de neutropenia en contraste con aquellos con genotipos CT/TT.

En el trabajo realizado el resultado en el test de Logrank más cerca a la significancia fue para RAN<1500 con un  $p = 0,1597$  para el modelo recesivo. Para RAN<500, también fue el modelo recesivo con  $p = 0,1941$ . Sin embargo, para RAN<100 y RAN = 0 se acercó más a la significancia el modelo dominante con un  $p = 0,1854$  y  $p = 0,5034$  respectivamente, lo que indica que para determinar el modelo de herencia que mejor se ajusta se debe profundizar en su estudio.

El esquema de tratamiento utilizado por el paciente se analizó debido a la diferencia en la administración de 6-MP. Para el protocolo IB (duración de 29 días), la 6-MP es administrada al comienzo del tratamiento por 28 días consecutivos, mientras que en el protocolo IB aumentado (duración de 56 días), también se da la misma dosis por 28 días, pero se administra dividido en bloques de 14 días consecutivos, con un descanso de 14 días entre bloques, como es indicado en el protocolo de tratamiento.

Cabe destacar que la duración de ambos esquemas mencionados en el párrafo anterior son los estipulados en el protocolo de tratamiento, sin embargo, estos protocolos se entregan de forma ambulatoria y el calendario particular para cada paciente no considera dar quimioterapia en fines de semanas o feriados, lo que puede afectar la duración del esquema, junto con otros factores. Como se indica en la Tabla 6, los pacientes en esquema IB tienen una duración real de  $40 \pm 9,7$  días y aquellos en IB aumentado es  $73,1 \pm 9,5$  días.

Otros de los posibles factores que puede llevar a aumentar la duración del protocolo es la interrupción del tratamiento en el caso de pacientes que presentan neutropenia febril y deben ser hospitalizados por ello. Este evento lo sufrieron 55 pacientes (34,2%) durante el protocolo. Por otro lado, también se debe interrumpir el tratamiento cuando el recuento de parámetros hematológicos es bajo, en el caso de leucocitos si estos son  $\geq 500/\mu\text{L}$  se debe interrumpir el uso de ARA-C y 6-MP.

Como se indica en la Figura 13, se encontró una diferencia significativa en el inicio del  $\text{RAN} < 1500$  (Logrank p-valor= 0,0053), siendo los pacientes en esquema IB quienes sufren primero el evento en comparación con el grupo de pacientes que recibieron el esquema IB aumentado. Esto puede deberse principalmente a la diferencia al dar la 6-MP, ya que al ser la mielosupresión su principal reacción adversa, el administrar este medicamento por 28 días sin descanso puede aumentar la probabilidad de llegar más rápido a un estado neutropénico en comparación con aquellos pacientes que reciben el esquema IB aumentado. En ese sentido, el esquema que recibe el paciente es un factor a considerar para la monitorización de sus valores de RAN.

Para el caso de  $\text{RAN} < 1500$  en pacientes en esquema IB, la mediana de sobrevida fue de 8 días. Para IB aumentado fue de 14 días con un test de Logrank  $p = 0,0053$ , lo que indica que la diferencia es significativa a pesar de que hasta el día 14 del protocolo no hay diferencias en los medicamentos administrados. Por otro lado, para  $\text{RAN} < 500$  en pacientes

en esquema IB, la mediana de supervivencia fue de 20 días. En esquema IB aumentado fue de 32 días con un  $p = 0,0865$ , que tiene tendencia a la significancia. Posteriormente, al realizar un análisis multivariado de Cox, resultó sí ser significativo.

En cuanto a los demás análisis realizados según el protocolo de RAN<100 y RAN= 0, no se encontró una diferencia significativa entre ambos esquemas de inicio del evento, al igual que en la duración de la neutropenia. Esto puede deberse a que el impacto de la administración de 6-MP continua por 28 días en contraste con bloques de 14 días con descanso entre ellos no es tan pronunciado en estos niveles de neutropenia.

Con respecto a la variable clínica "nivel de riesgo" del paciente una vez diagnosticado, se realiza una categorización de riesgo inicial, la que puede variar según la respuesta a las primeras semanas de tratamiento, tal como se observa en la Tabla 5 de caracterización clínica. Es posible apreciar una migración importante de pacientes categorizados inicialmente en riesgo estándar que, para la categorización final, son reclasificados como riesgo intermedio o alto debido a la respuesta clínica.

Las variables contempladas para categorizar el nivel de riesgo tienen relación con una respuesta inadecuada a las primeras semanas de tratamiento (junto con variables citogenéticas), razón por la cual el nivel de riesgo final fue escogido como la variable clínica a analizar.

El nivel de riesgo final se asoció significativamente con el inicio del RAN<1500. Como se indica en la Tabla 12 de resumen de la regresión multivariada, el grupo de pacientes en RI como grupo de referencia es el que tiene una diferencia significativa al inicio del RAN<1500 respecto al grupo en RS ( $p = 0,007$ ). Para RA, esta diferencia no fue significativa.

Esto puede deberse, en parte, al esquema al que son asignados los pacientes según su nivel de riesgo. Como se ve en la regresión de Cox, el esquema recibido es uno de los

factores que influye en la significancia de los resultados con un  $p = 0,016$ . Otros factores que pudieron influenciar los resultados es el cómo están distribuidos los pacientes, ya que en su mayoría están concentrados en el nivel RI.

Para  $RAN < 500$ , en la regresión de Cox se puede ver que la diferencia significativa estuvo dada entre aquellos pacientes en RS como valor de referencia versus los pacientes en RA con un p-valor de 0,017.

Por otra parte, en el análisis hecho con  $RAN < 100$  y  $RAN = 0$  no se encontraron diferencias significativas en duración ni para el inicio de neutropenia. Estos resultados resaltan la importancia de tener en consideración el nivel de riesgo final en los pacientes como variable en la neutropenia.

Cabe destacar que, como limitación del estudio, a algunos pacientes con un RAN consistentemente bajo por un periodo prolongado, se les administraba factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) para ayudar en la recuperación de la médula ósea, produciendo así más glóbulos blancos. No se consideró el uso de G-CSF puesto que la información en cuanto a dosis y cantidad de días recetados no estaba de forma clara en todas las fichas clínicas. La administración de G-CSF, puede haber tenido influencia sobre el estado neutropénico de los pacientes, por tanto, sobre los resultados obtenidos.

Si bien ambos genes estudiados resultaron no influir en la neutropenia, este estudio estuvo acotado solo a reactivos disponibles al momento de realizar la fase experimental en el Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenómica de la Universidad de Chile.

Otra de las limitaciones para realizar este trabajo fue la recopilación de información de los pacientes, ya que de los 190 reclutados con muestra disponible, 19 de ellos no contaban con ficha completa, por lo que su información no pudo ser utilizada.

Si bien los resultados obtenidos para los polimorfismos estudiados no fueron significativos, se trata de un área de estudio en Chile que se encuentra en desarrollo y es relevante seguir realizando análisis farmacogenéticos en este grupo de pacientes para obtener información más completa de la caracterización realizada.

*TPMT\*2*, *TPMT\*3A*, *TPMT\*3B* y *TPMT\*3C* son las variantes más prevalentes responsables de aproximadamente el 95% de las mutaciones descritas para *TPMT*, por lo que, en perspectiva al futuro, sería importante realizar un análisis de este grupo de pacientes con toda esta batería de polimorfismos de *TPMT* para tener una idea más completa de los resultados obtenidos en este trabajo con *TPMT\*3B*.

Así mismo, se puede observar de forma gráfica en el Anexo 3 la existencia de varios transportadores de influjo de la superfamilia SLC (*SLC28* y *SLC29*) que regulan el ingreso de 6-MP a la célula, por lo que el análisis de todos esos transportadores sería un importante complemento a lo estudiado con *SLC28A2*.

Dada la muestra conseguida de pacientes, es importante expandir las pruebas farmacogenéticas realizadas a otras reacciones adversas también significativas en la LLA pediátrica producto de la quimioterapia. Entre estos, por ejemplo, se destaca la necesidad de analizar la relación entre metotrexato y la mucositis, así como también las reacciones alérgicas graves asociadas a la administración de asparaginasa. Así, con más información disponible, es posible optimizar la seguridad del tratamiento y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

## CONCLUSIÓN

No se encontraron resultados estadísticamente significativos en este trabajo en relación con el polimorfismo *TPMT\*3B* para inicio ni duración de neutropenia. Dado que en la literatura existe evidencia de la importancia de los principales cuatro polimorfismos del gen *TPMT* (*TPMT\*2*, *\*3A*, *\*3B* y *\*3C*), se deben realizar más análisis respecto a las toxicidades hematológicas descritas en la literatura como relevantes.

De manera similar, no se encontraron resultados significativos para ninguno de los niveles de neutropenia analizados con el polimorfismo de *SLC28A2* (rs11854484). Para este polimorfismo se cuenta con poca información disponible, por lo que se debe realizar más investigación sobre posibles polimorfismos de los transportadores SLC y comprender como éstos afectan la farmacodinamia de 6-MP.

En el caso de la variable clínica “esquema recibido”, se encontró una asociación estadísticamente significativa con el esquema de elección y la presencia de neutropenia. Los pacientes que reciben el esquema IB tienen 2,5 veces más riesgo de presentar RAN<1500 respecto a los pacientes que recibieron el esquema IB aumentado. En el caso de RAN<500 también se encontró una relación estadísticamente significativa.

Este hallazgo sugiere que el esquema de quimioterapia y la forma en que es administrada la 6-MP puede influir en el riesgo de desarrollar neutropenia, por lo que es un factor clínico a tener en consideración en pacientes que mantengan un RAN consistentemente bajo.

En el caso de la variable clínica “riesgo final” siendo el RI el valor de referencia, se observó que para para los pacientes en RS presentaron 2,6 veces más riesgo de experimentar neutropenia para RAN<1500, mientras que para RAN<500 se encontró que los pacientes en RA tienen 2,38 veces más riesgo de experimentar el evento en comparación con pacientes en RS (grupo de referencia).

Si bien los polimorfismos estudiados no mostraron una asociación significativa, existe evidencia de su importancia para ayudar a predecir la respuesta de la quimioterapia, por lo que se requiere más investigación respecto a los polimorfismos relevantes para LLA. Se demostró la relevancia de las variables clínicas analizadas, lo que destaca la importancia de buscar factores clínicos que aporten a mejorar la seguridad de la quimioterapia y calidad de vida de los pacientes.

## REFERENCIAS

1. Key Statistics for Childhood Leukemia [Internet]. [citado 26 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://www.cancer.org/cancer/types/leukemia-in-children/about/key-statistics.html>
2. Ministerio de Salud, Gobierno de Chile. Guía clínica leucemia en menores de 15 años. [Internet]. 2010. Disponible en: <https://www.minsal.cl/portal/url/item/7220fdc433e944a9e04001011f0113b9.pdf>
3. Harrison TR. Principios de Medicina Interna [Internet]. 20.<sup>a</sup> ed. Vol. 2. Mc Graw Hill Education; [citado 26 de noviembre de 2023]. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?sectionid=197384474&bookid=2461>
4. Cheek MH, Evans WE. Acute lymphoblastic leukaemia: a model for the pharmacogenomics of cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. febrero de 2006;6(2):117-29.
5. MSD. Manual MSD versión para profesionales. 2022 [citado 26 de noviembre de 2023]. Leucemia linfoblástica aguda (LLA) - Hematología y oncología. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-cl/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/leucemias/leucemia-linfobl%C3%A1stica-aguda-lla>
6. Verdezoto Unda SD, Estrella Cahueñas BM, Robles Aguirre RS, Verdezoto Unda SD, Estrella Cahueñas BM, Robles Aguirre RS. Sobrevida en población pediátrica con leucemia linfoblástica aguda tratada con protocolo ALLIC-BFM de quimioterapia. Revisión sistemática. *Rev Eugenio Espejo*. abril de 2023;17(1):78-97.
7. Miranda-Filho A, Piñeros M, Ferlay J, Soerjomataram I, Monnereau A, Bray F. Epidemiological patterns of leukaemia in 184 countries: a population-based study. *Lancet Haematol*. 1 de enero de 2018;5(1):e14-24.
8. Ministerio de Salud, Departamento de Epidemiología. 3° Informe de vigilancia de cáncer infantil. Registro nacional de cáncer infantil (RENCI). Trienio 2017-2019. Chile 2023.
9. Programa Nacional de Cáncer Infantil, Ministerio de Salud. LLA-IC-BFM 2009 Versión PINDA. 2009.
10. Lennard L. The clinical pharmacology of 6-mercaptopurine. *Eur J Clin Pharmacol*. 1992;43(4):329-39.
11. Elgemeie GH, Mohamed-Ezzat RA. Chapter 3 - Purine-based anticancer drugs. En: Elgemeie GH, Mohamed-Ezzat RA, editores. *New Strategies Targeting Cancer Metabolism* [Internet]. Elsevier; 2022 [citado 26 de noviembre de 2023]. p. 69-105. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128217832000054>
12. Hempel G. Chapter 13 - Dose and therapy individualization in cancer chemotherapy. En: Hempel G, editor. *Handbook of Analytical Separations* [Internet]. Elsevier Science B.V.; 2020 [citado 26 de noviembre de 2023]. p. 291-319. (Methods of Therapeutic Drug Monitoring Including Pharmacogenetics; vol. 7). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444640666000137>
13. Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios (CIMA). Ficha técnica mercaptopurina Aspen 50mg comprimidos [Internet]. 2023 [citado 4 de abril de 2024]. Disponible en: [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/34565/FT\\_34565.html#3](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/34565/FT_34565.html#3)
14. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, National Cancer Institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE). 2017;
15. Sobrevilla Calvo P de J, Sobrevilla Moreno N, Ochoa Carrillo FJ. Neutropenia inducida por quimioterapia: el punto de vista del oncólogo. *Gac Mex Oncol*. 1 de noviembre de 2016;15(6):344-9.
16. Santolaya ME, Contardo V, Torres JP, López-Medina E, Rosanova MT, Álvarez AM, et al. Manejo de los episodios de neutropenia febril en niños con cáncer. Consenso de la Sociedad Latinoamericana de Infectología Pediátrica 2021. *Rev Chil Infectol*. diciembre de 2021;38(6):857-909.

17. Relling MV, Schwab M, Whirl-Carrillo M, Suarez-Kurtz G, Pui C, Stein CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for Thiopurine Dosing Based on *TPMT* and *NUDT 15* Genotypes: 2018 Update. *Clin Pharmacol Ther.* mayo de 2019;105(5):1095-105.
18. Jorquera A, Solari S, Vollrath V, Guerra I, Chianale J, Cofré C, et al. Genotipo y fenotipo de la enzima tiopurina metiltransferasa en población chilena. *Rev Médica Chile.* julio de 2012;140(7):889-95.
19. Zhou S. Clinical pharmacogenomics of thiopurine S-methyltransferase. *Curr Clin Pharmacol.* enero de 2006;1(1):119-28.
20. Schwarz UI, Woldanski-Travaglini M, Swanston V, Mikhail M, Cacciotti C, Cairney E, et al. Thiopurine Methyltransferase Intermediate Metabolizer Status and Thiopurine-Associated Toxicity During Maintenance Therapy in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Clin Pharmacol Ther.* junio de 2023;113(6):1326-36.
21. Schaffenburg WC, Lockshin BN, DeKlotz CMC. 3 - Polymorphisms: Why Individual Drug Responses Vary. En: Wolverton SE, editor. *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy (Fourth Edition)* [Internet]. Elsevier; 2021 [citado 26 de noviembre de 2023]. p. 21-33.e2. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323612111000036>
22. Owen RP, Gray JH, Taylor TR, Carlson EJ, Huang CC, Kawamoto M, et al. Genetic analysis and functional characterization of polymorphisms in the human concentrative nucleoside transporter, CNT2. *Pharmacogenet Genomics.* febrero de 2005;15(2):83-90.
23. Errasti-Murugarren E, Pastor-Anglada M. Drug transporter pharmacogenetics in nucleoside-based therapies. *Pharmacogenomics.* junio de 2010;11(6):809-41.
24. Gray JH, Owen RP, Giacomini KM. The concentrative nucleoside transporter family, SLC28. *Pflüg Arch Eur J Physiol.* febrero de 2004;447(5):728-34.
25. Yang M, Xu X. Important roles of transporters in the pharmacokinetics of anti-viral nucleoside/nucleotide analogs. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2022;18(7-8):483-505.
26. Pastor-Anglada M, Pérez-Torras S. Nucleoside transporter proteins as biomarkers of drug responsiveness and drug targets. *Front Pharmacol.* 10 de febrero de 2015;6:13.
27. Gil Agramonte M, Year Alós IB, González Otero A, Gil Agramonte M, Year Alós IB, González Otero A. Eventos adversos a medicamentos durante el tratamiento de inducción de la leucemia linfocítica aguda en niños. *Rev Cuba Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. septiembre de 2021 [citado 6 de abril de 2024];37(3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0864-02892021000300007&lng=es&nrm=iso&tling=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-02892021000300007&lng=es&nrm=iso&tling=es)
28. Hunger SP, Mullighan CG. Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *N Engl J Med.* 15 de octubre de 2015;373(16):1541-52.
29. Miteva-Marcheva NN, Ivanov HY, Dimitrov DK, Stoyanova VK. Application of pharmacogenetics in oncology. *Biomark Res.* 17 de agosto de 2020;8(1):32.
30. Arturo Prior-González O, Garza-González E, Fuentes de la Fuente HA, Rodríguez-Leal C, Maldonado-Garza HJ, Bosques-Padilla FJ. Farmacogenética y su importancia clínica: hacia una terapia personalizada segura y eficiente. *Med Univ.* 1 de enero de 2011;13(50):41-9.
31. PharmGKB [Internet]. [citado 27 de febrero de 2024]. Role of ITPA and SLC28A2 genes in the prediction of anaemia associated with protease inhibitor plus ribavirin and peginterferon in hepatitis C treatment. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/literature/15089693>
32. Instituto de Salud Pública, Ministerio de Salud. Recomendaciones para la interpretación del hemograma: serie blanca, roja y plaquetaria. 2017.

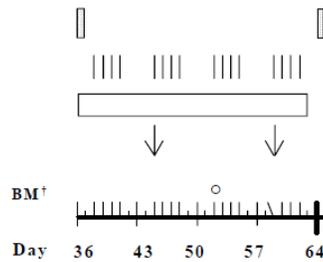
33. Hossain MJ, Xie L, McCahan SM. Characterization of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia Survival Patterns by Age at Diagnosis. *J Cancer Epidemiol.* 2014;2014:865979.
34. Tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda infantil (PDQ®) - NCI [Internet]. 2024 [citado 10 de abril de 2024]. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia/pro/tratamiento-lla-infantil-pdq>
35. Campbell B M, Ferreiro C. M, Tordecilla C. J, Joannon S. P, Rizzardini L. C, Rodríguez Z. N. Leucemia linfoblástica aguda. Características al diagnóstico en 100 niños. *Rev Chil Pediatría.* julio de 1999;70(4):288-93.
36. Farfan MJ, Salas C, Canales C, Silva F, Villarroel M, Kopp K, et al. Prevalence of TPMT and ITPA gene polymorphisms and effect on mercaptopurine dosage in Chilean children with acute lymphoblastic leukemia. *BMC Cancer.* 28 de abril de 2014;14:299.
37. Owen GI, Cordova-Delgado M, Bustos BI, Cerpa LC, Gonzalez P, Morales-Pison S, et al. Assessing the Occurrence and Influence of Cancer Chemotherapy-Related Pharmacogenetic Alleles in the Chilean Population. *Pharmaceutics.* 19 de abril de 2024;16(4):561.
38. Adam de Beaumais T, Jacqz-Aigrain E. Pharmacogenetic determinants of mercaptopurine disposition in children with acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Clin Pharmacol.* septiembre de 2012;68(9):1233-42.
39. Correa-Jimenez O, Yunis JJ, Linares-Ballesteros A, Sarmiento-Urbina I. Susceptibility to thiopurine toxicity by TPMT and NUDT15 variants in Colombian children with acute lymphoblastic leukemia. *Colomb Médica CM.* 52(3):e2074569.
40. PharmGKB [Internet]. [citado 27 de febrero de 2024]. Distribution of gemcitabine pathway genotypes in ethnic Asians and their association with outcome in non-small cell lung cancer patients. Disponible en: <https://www.pharmgkb.org/literature/15051066>

## ANEXOS

**Anexo 1:** Representación esquemática de los protocolos IB y IB aumentado, extraído de Protocolo PINDA.

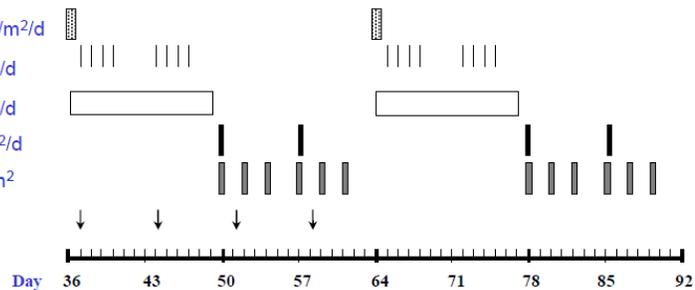
### Protocolo I B Intensificación Precoz: RS , RI (rama-1), RA (rama-1)

**CPM** p.i. (1h) 1,000 mg/m<sup>2</sup>/d  
(+ MESNA: 400 mg/m<sup>2</sup> i.v. x3 at h: 0, +4, +8)  
**ARA-C** i.v. 75 mg/m<sup>2</sup>/d  
**6-MP** p.o. (28 d) 60 mg/m<sup>2</sup>/d  
**MTX** IT  
Dose age-adapted: <1Y 1Y 2Y ≥3Y  
MTX IT (mg) 6 8 10 12  
†BM: obligatory on d 52 (only HR if NR d 33)

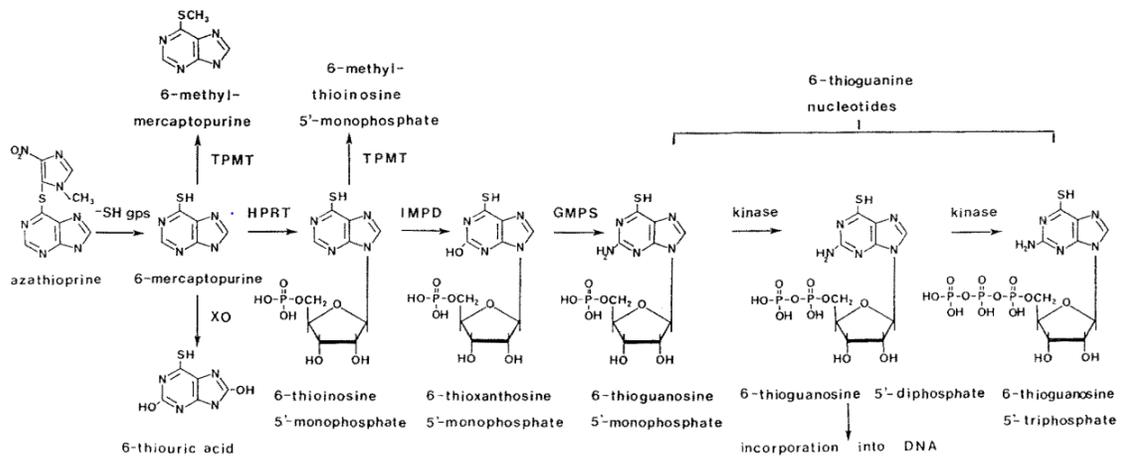


### Protocolo IB Aumentado Intensificación Precoz: RI-2 & RA-2

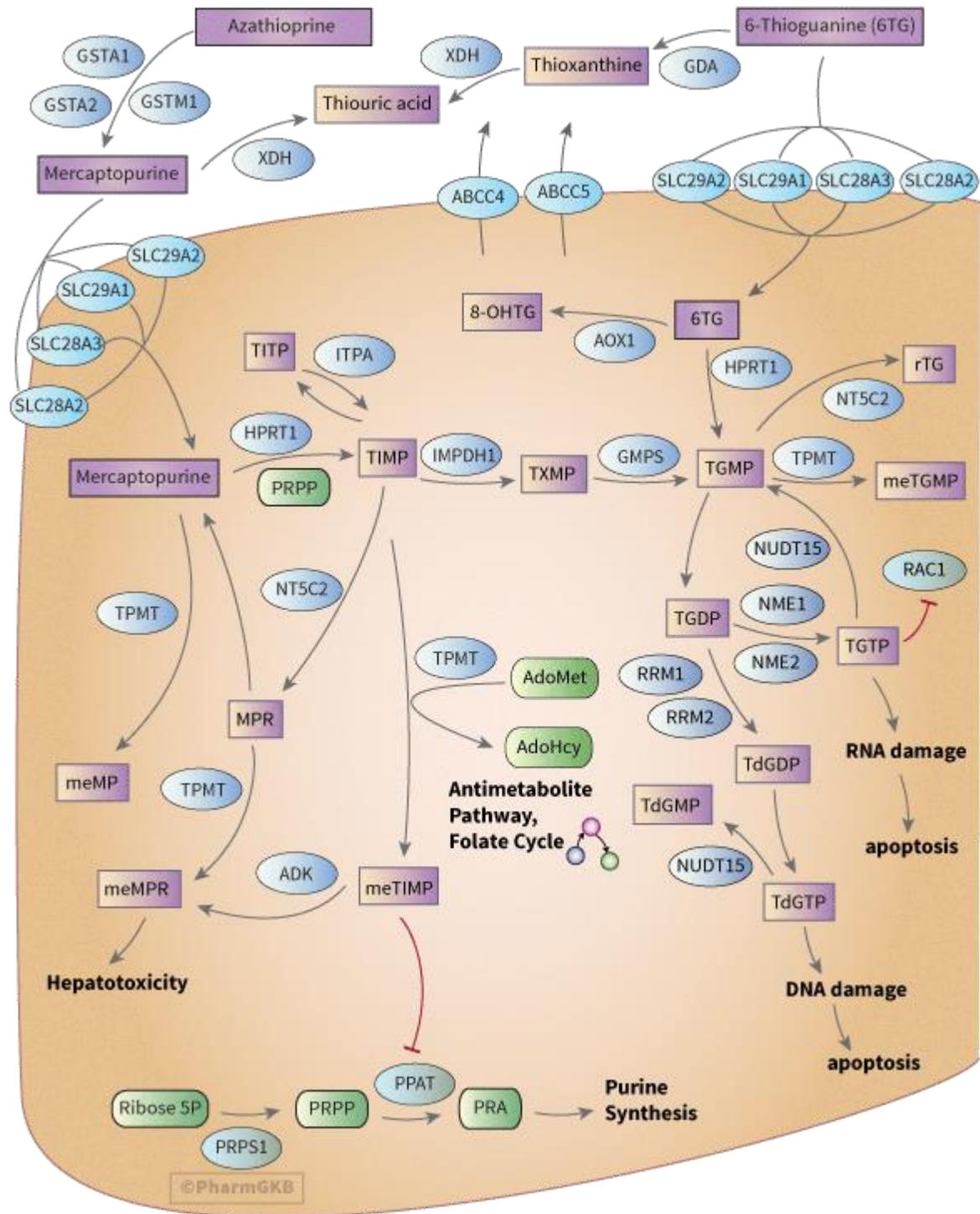
**CPM** PI (1 h) 1.000 mg/m<sup>2</sup>/d  
**ARA-C** IV 75 mg/m<sup>2</sup>/d  
**6-MP** po 60 mg/m<sup>2</sup>/d  
**VCR** IV 1.5 mg/m<sup>2</sup>/d  
**ASP** IV 5.000 U/m<sup>2</sup>  
**MTX** i.th.



**Anexo 2:** Rutas 6-MP detalladas. Extraída de publicación "The clinical pharmacology of 6-mercaptopurine".



**Anexo 3:** Ruta metabolización de 6-MP en el intracelular. Extraído de “PharmGKB”.



## Anexo 4: Formulario de consentimiento informado entregado a pacientes y tutores.

### FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### *“Asociación entre variantes genéticas y las reacciones adversas a la quimioterapia en pacientes pediátricos diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda”,*

Patrocinante: Dra. Carmen Salgado Muñoz  
Nombre del Investigador principal: Dr. Matías Martínez Olguín  
R.U.T: 17.565.413-5  
Institución: Universidad de Chile  
Teléfono: +56991817236 e-mail: matiasmartinez@ug.uchile.cl

**Invitación a participar:** Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación “Asociación entre variantes genéticas y las reacciones adversas a la quimioterapia en pacientes pediátricos diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda”, debido a que buscamos prevenir la toxicidad de la quimioterapia, estudiando si hay factores genéticos que hagan a un paciente más susceptible, extendemos esta invitación para estudiar la hospitalización de varios pacientes y saber si su genética se relaciona a la respuesta a los medicamentos.

**Objetivos:** Esta investigación tiene por objetivos estudiar si existe una relación entre la genética de los pacientes y las posibles reacciones adversas que se pueden presentar durante la quimioterapia. El estudio incluirá a un número total de 250 *pacientes*, del Hospital Exequiel González Cortés.

**Procedimientos:** La participación involucra una única toma de muestra desde un hisopo que se pasará por el interior de la boca y la lengua, de esa muestra se extraerá el ADN para analizar la genética de cada paciente. La toma de muestra se hará mientras esté en el hospital (Control y hospitalización, no tendrá que asistir en otro momento para esto). La muestra la tomará personal calificado del Hospital Exequiel González Cortés.

Luego nosotros accederemos a su ficha clínica y relacionaremos la información genética con los eventos ocurridos durante la quimioterapia

**Riesgos:** La toma de muestra no produce ningún dolor, podría generar cosquillas o leve molestia, cualquier problema que presentes indícale de inmediato a quién está tomando la muestra.

**Costos:** No existe ningún costo asociado a la participación en este proyecto.

**Beneficios:** Los principales beneficios se reflejarán en los futuros pacientes con la misma enfermedad, ya que contaremos con más información para predecir su respuesta.

**Compensación:** No existe una compensación económica asociada a su participación.

**Confidencialidad:** Toda la información derivada de su participación en este estudio será conservada en forma de estricta confidencialidad, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación, mediante codificación de los datos personales como nombre y RUT, por lo que no se podrá relacionar su información clínica con sus datos personales. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima.

**Usos potenciales de los resultados de la investigación:** Con los resultados de la investigación se busca optimizar la quimioterapia de los pacientes con leucemia, intentando prevenir los efectos adversos utilizando información genética.



**Voluntariedad:** Su participación en la investigación es totalmente voluntaria y se puede retirar en cualquier momento comunicándolo al investigador o médico tratante, sin que ello signifique modificaciones en el tratamiento habitual de su enfermedad.

**Complicaciones:** No se prevén complicaciones mayores asociadas al estudio, dado que el único procedimiento del estudio no es invasivo.

**Derechos del participante:** Usted recibirá una copia íntegra y escrita de este documento firmado. Si usted requiere cualquier otra información sobre su participación en este estudio o bien conocer los resultados puede comunicarse con:

Dr. Matías Martínez Olguín, teléfono +56991817236. Encargado del estudio.

Dra. Carmen Salgado Muñoz, +56990812127. Jefa de Servicio.

**Otros Derechos del participante:** En caso de duda sobre sus derechos debe comunicarse con el Presidente del "Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos", Dr. Manuel Oyarzún G., Teléfono: 2 - 978 95 36, Email: ceish.med@uchile.cl, cuya oficina se encuentra ubicada a un costado de la Biblioteca Central de la Facultad de Medicina, Universidad de Chile en Av. Independencia 1027, Comuna de Independencia.

**Uso de la muestra:** La muestra será almacenada a una temperatura de -80°C en el laboratorio que dirige el Dr. Luis Quiñones en la Universidad de Chile (Contacto: [lquinone@uchile.cl](mailto:lquinone@uchile.cl)) y se guardará por un plazo de 5 años, en plazo renovable según aprobación de comité de ética. Una vez cumplido el plazo, la muestra se eliminará siguiendo los protocolos de la Universidad de Chile.

La muestra solicitada podría ser usada en futuros estudios, con nuevos fondos. Siempre estrictamente relacionados con la genética o expresión de genes y la relación con la respuesta a la quimioterapia. No se volverá a contactar ni deberá acudir al hospital para una nueva muestra.

**Conclusión:**

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, otorgo mi consentimiento para participar en el proyecto "Asociación entre variantes genéticas y las reacciones adversas a la quimioterapia en pacientes pediátricos diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda".

\_\_\_\_\_  
Nombre del Participante  
Rut. :

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre de Director  
de Institución o Delegado  
Art. 11 Ley 20120  
Rut. :

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Nombre del Investigador  
Rut. :

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Fecha



## **Anexo 5:** Formulario de asentimiento informado entregado a menores de 12 años.

### **FORMULARIO DE ASENTIMIENTO INFORMADO**

Hola, nosotros somos investigadores de la *Universidad de Chile* y el *Hospital Exequiel González Cortés* y te estamos invitando a participar en el proyecto de investigación "*Asociación entre variantes genéticas y las reacciones adversas a la quimioterapia en pacientes pediátricos diagnosticados con Leucemia Linfoblástica Aguda*", debido a que buscamos prevenir la toxicidad de la quimioterapia, estudiando si hay factores genéticos que hagan a un paciente más susceptible, extendemos esta invitación para estudiar la hospitalización de varios pacientes y saber si su genética se relaciona a la respuesta a los medicamentos.

Se invitará a participar a 250 niños/adolescente del *Hospital Exequiel González Cortés*.

#### **Procedimientos:**

Para conocer la genética de cada uno, pasaremos un hisopo por el interior de la boca (no doloroso) mientras estés en el hospital (no tendrás que venir de forma específica para esto), esto lo hará una enfermera/o o médica/o del hospital. Tú solo debes abrir la boca y el tomador de muestra pasará el hisopo por el interior de la mejilla y la lengua.

Luego relacionaremos la información genética derivada de la muestra con los resultados de la hospitalización que obtendremos de la ficha clínica.

Un investigador hará algunas preguntas como en qué curso estás y con quién vives actualmente, puedes responder solo lo que quieras, tus padres o tutores te pueden ayudar.

#### **Riesgos:**

La toma de muestra no produce ningún dolor, podría generar cosquillas o leve molestia, cualquier problema que presentes indícale de inmediato a quién está tomando la muestra.

#### **Beneficios:**

El beneficio principal será para que los futuros pacientes puedan tener tratamientos más seguros, si encontramos alguna relación entre la genética y la respuesta a los medicamentos.

#### **Voluntariedad:**

La participación es voluntaria, si decides no participar no habrá consecuencias negativas para ti o tu familia, aun cuando tus tutores hayan dicho que puedes participar, la decisión final es tuya. De todas formas, si decides participar, luego puedes retirarte en cualquier momento o no realizar alguna actividad o responder a alguna pregunta que le incomode.

En la siguiente página te preguntaremos si deseas participar **¿tienes alguna duda?** ¡No temas en preguntar!

09|NOV|2021



**Conclusión:**

Después de que me explicaron y entendí toda la información de este documento y he aclarado todas mis dudas, he decidido que:

Si quiero participar.

No quiero participar.

\_\_\_\_\_  
Nombre del Participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

**Para niños que no saben leer:**

Leer en voz alta: Si quieres participar marca la mano con el dedo hacia arriba, si no quieres participar, marca la mano con el dedo hacia abajo.

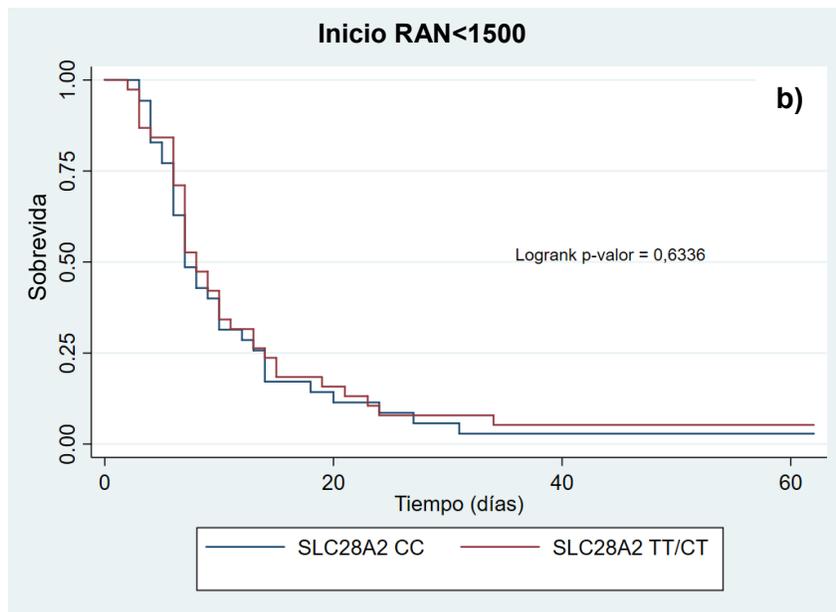
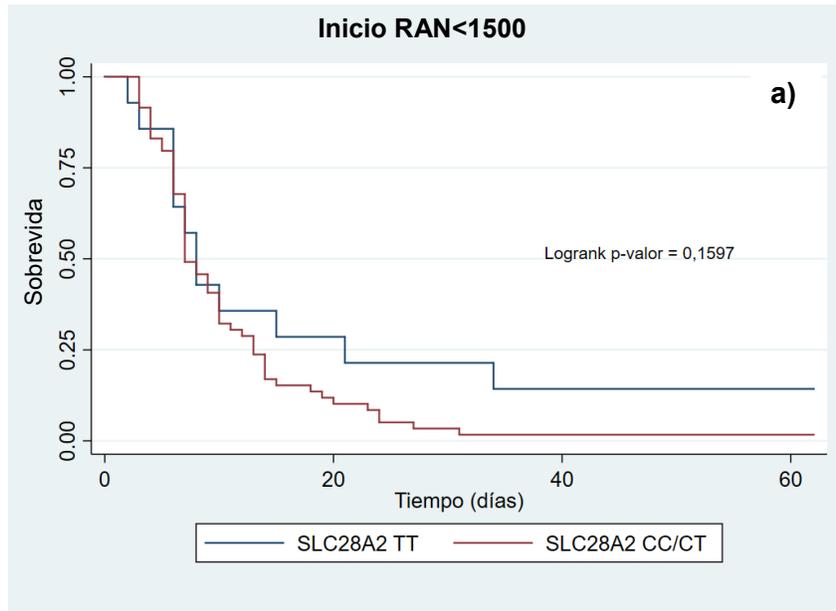


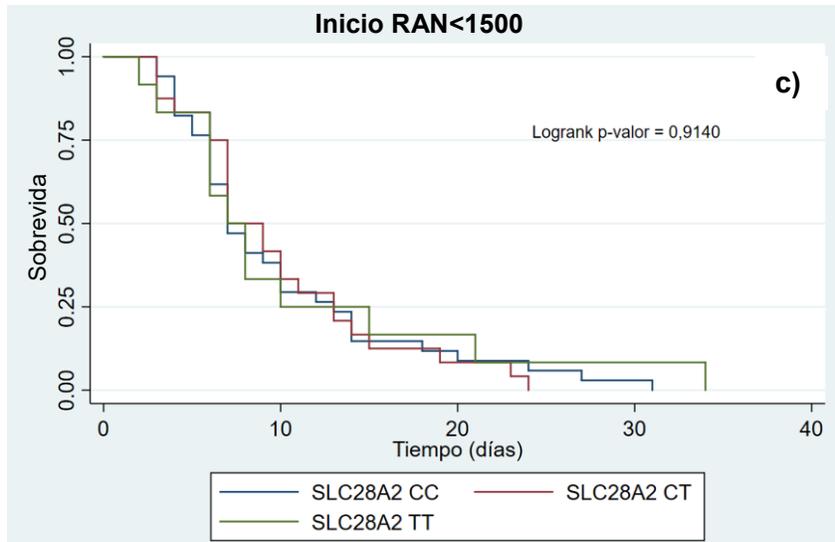
09|NOV|2021



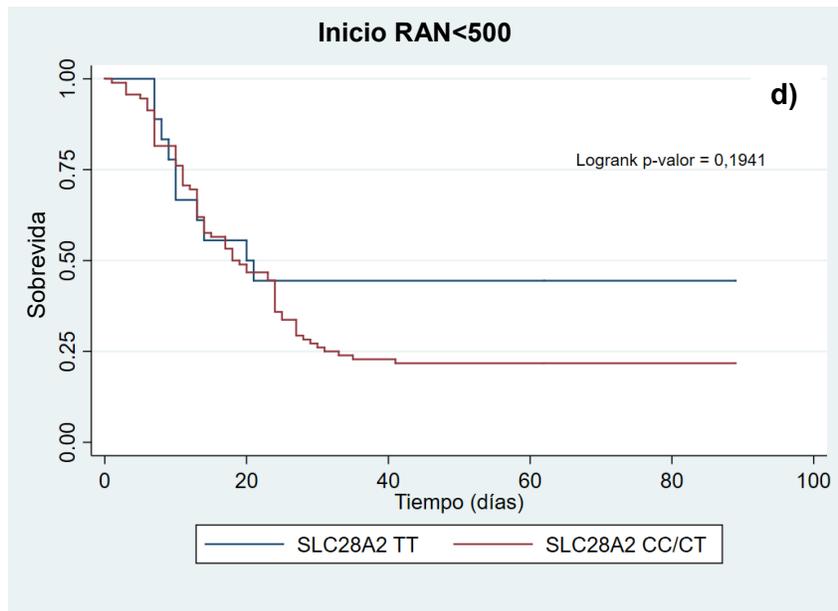
**Anexo 6:** Curvas de sobrevida según modelos de herencia *SLC28A2*.

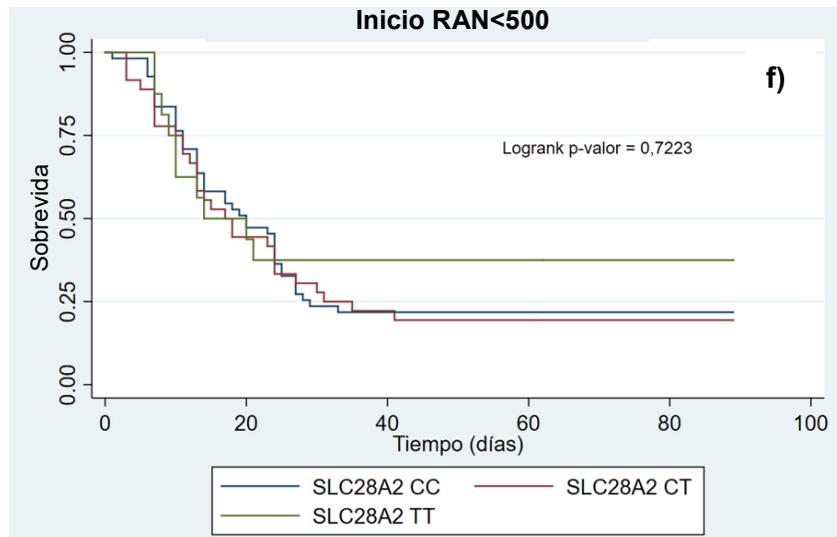
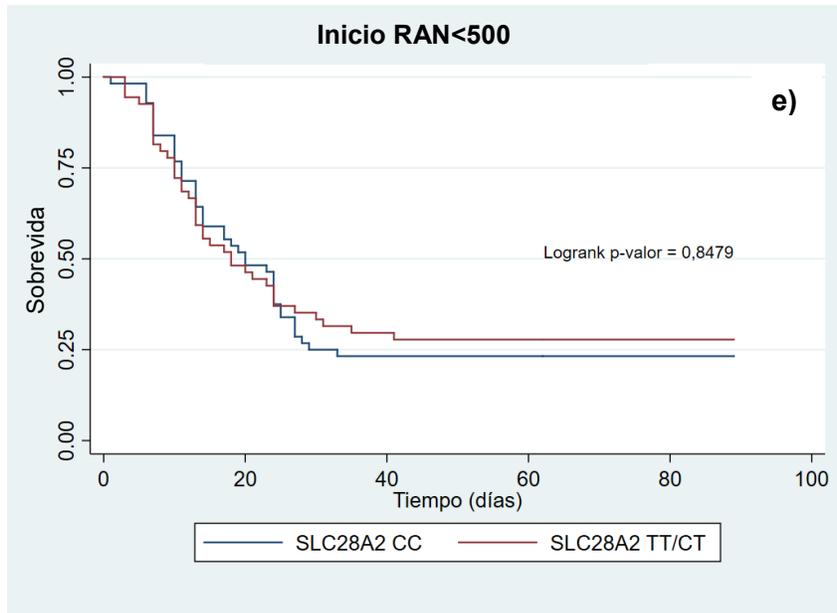
**6.1:** Curva de sobrevida para RAN<1500 para modelos de herencia a) recesivo, b) dominante y c) codominante.



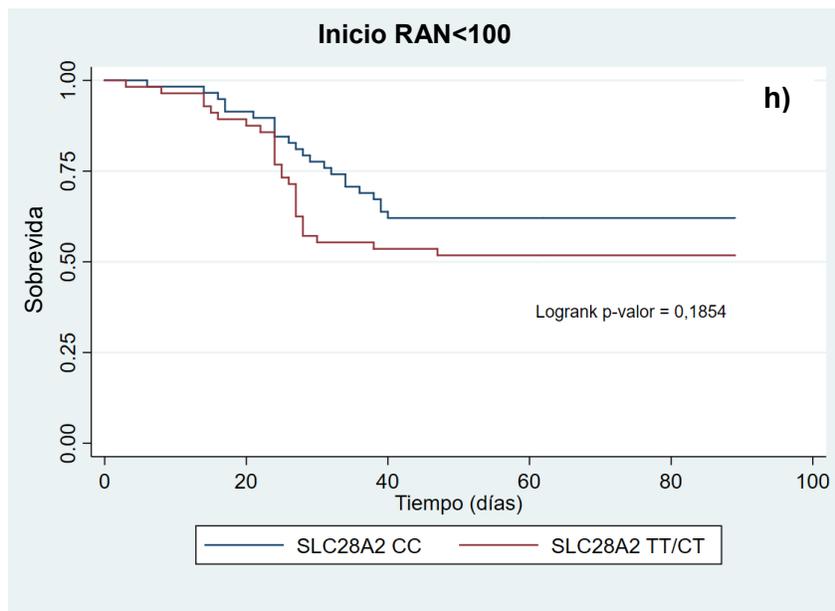
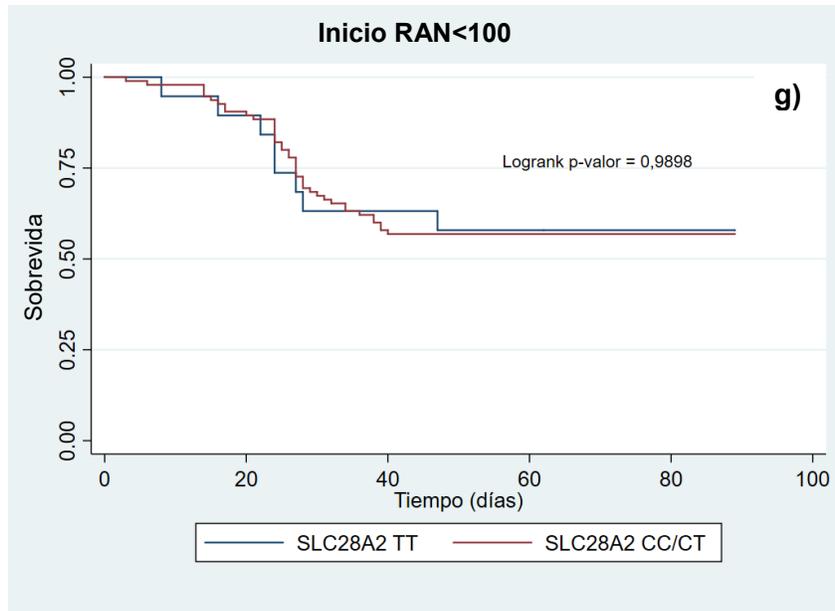


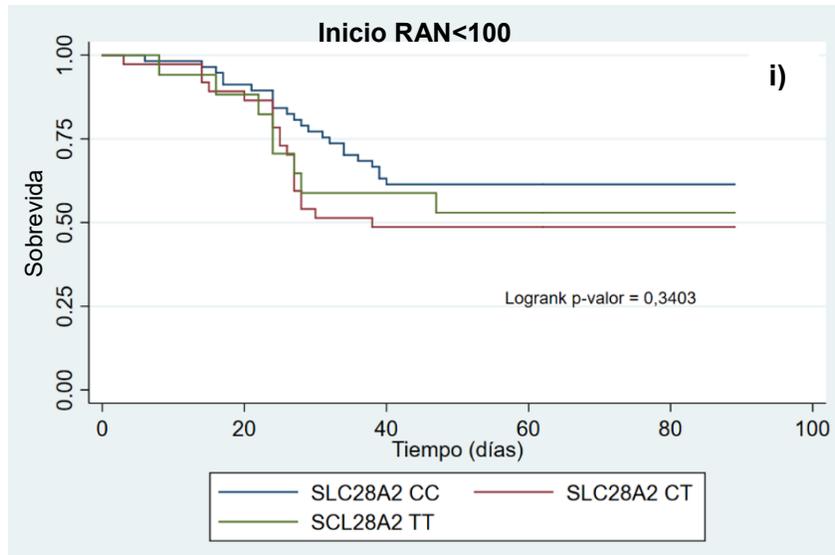
**6.2:** Curvas de supervivencia RAN<500 para modelos de herencia d) recesivo, e) dominante y f) codominante



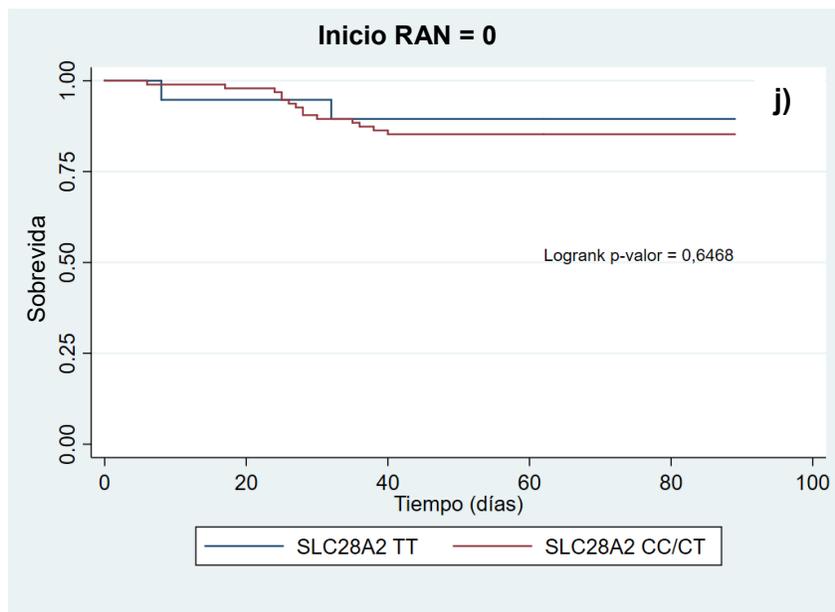


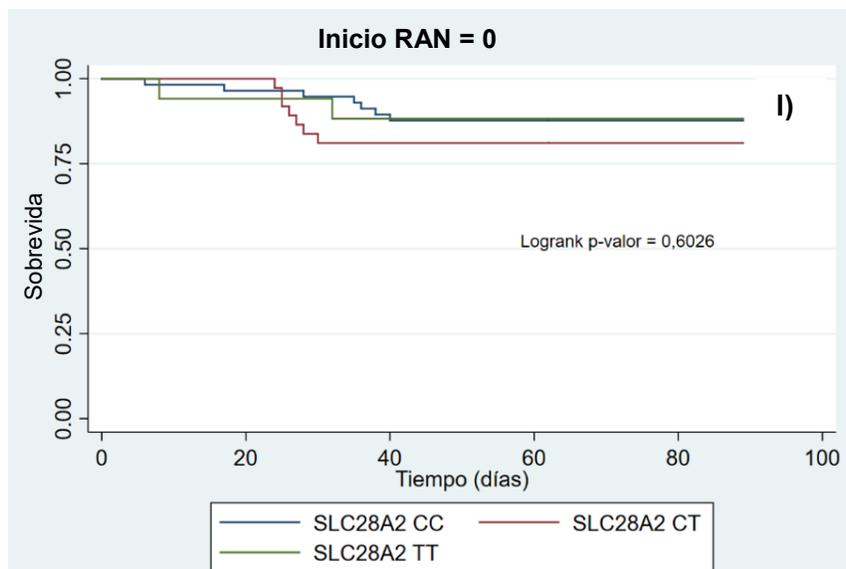
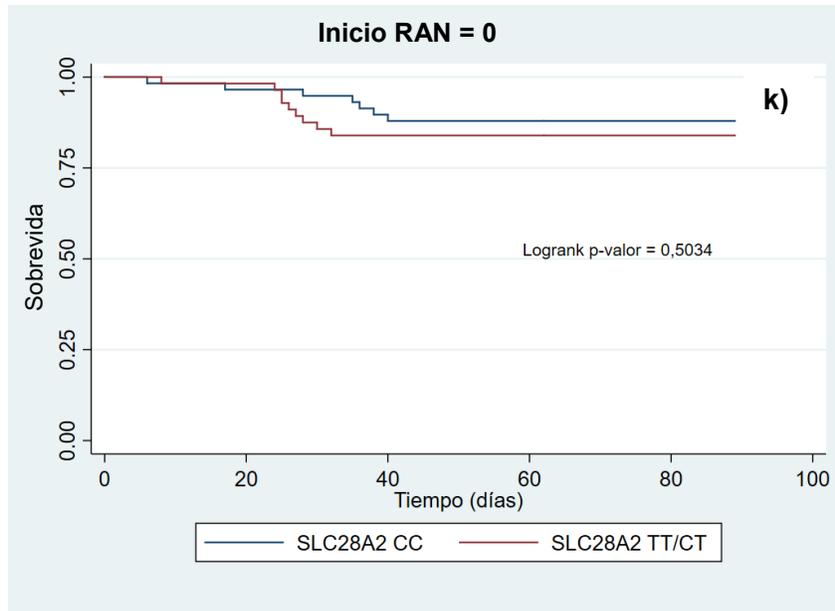
**6.3:** Curva de sobrevida para RAN<100 para modelos de herencia g) recesivo, h) dominante y i) codominante





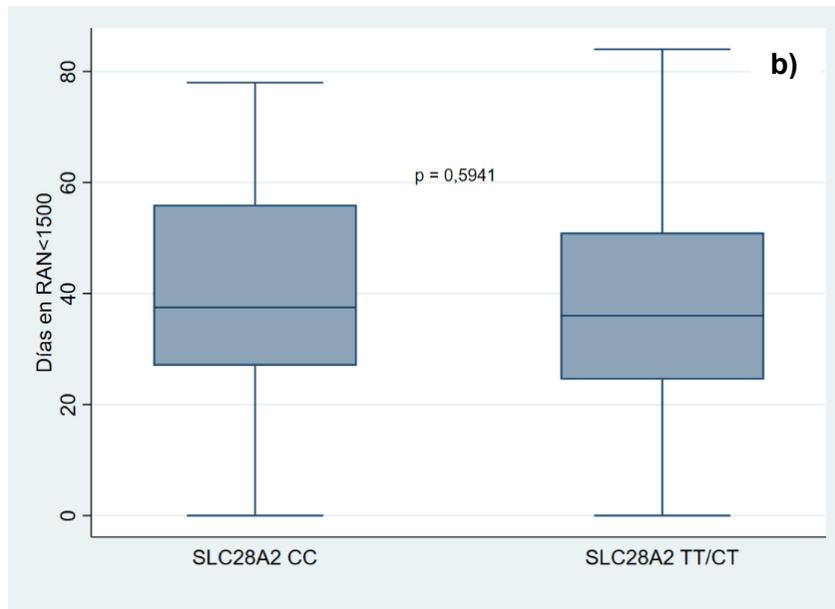
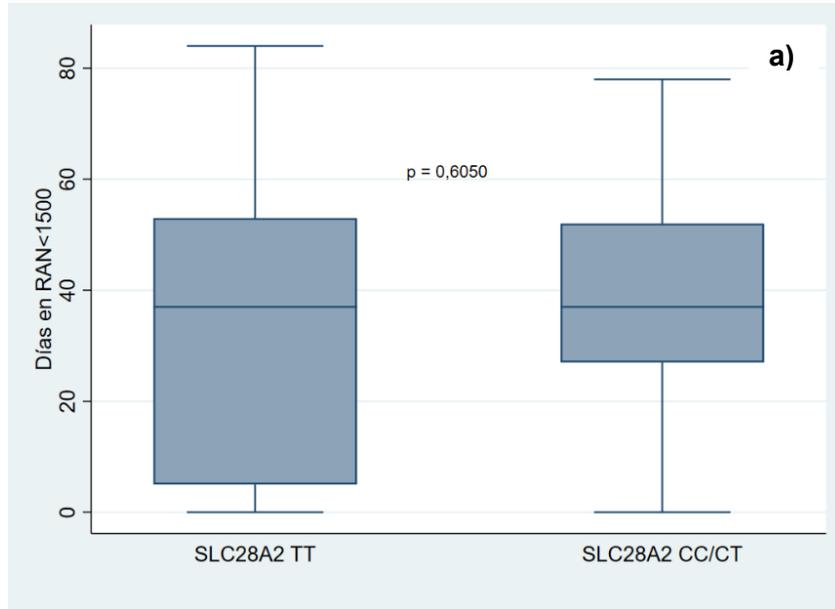
**6.4:** Curva de sobrevivida para RAN = 0 para modelos de herencia j) recesivo, k) dominante y l) codominante



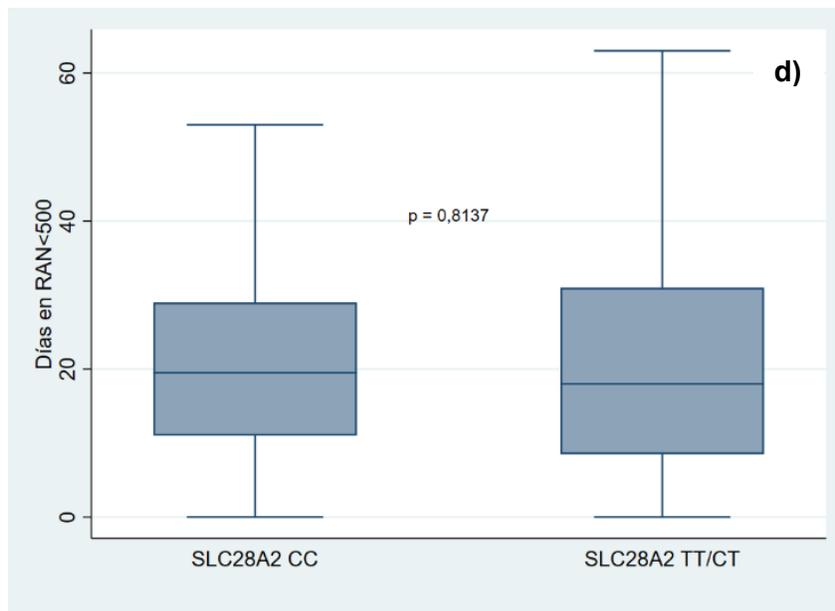
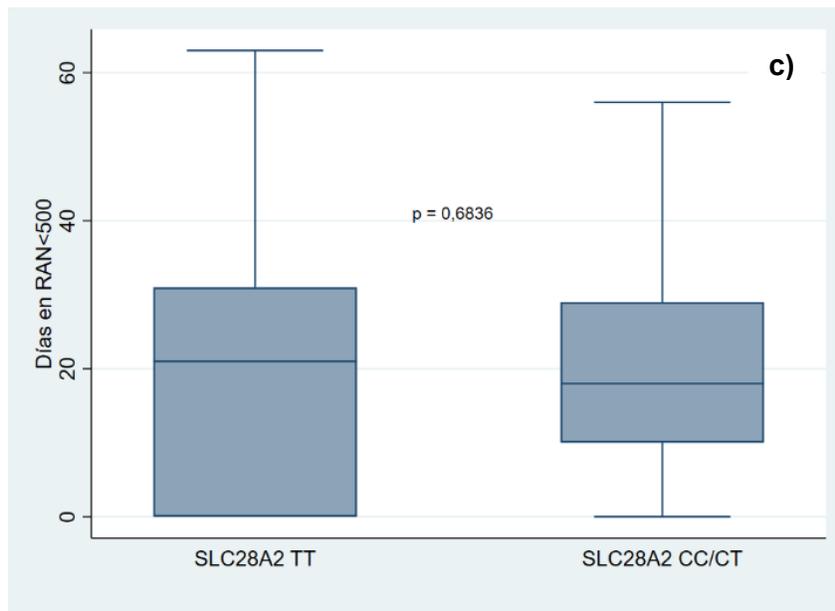


**Anexo 7:** Duración en días de neutropenia según modelos de herencia para *SLC28A2*.

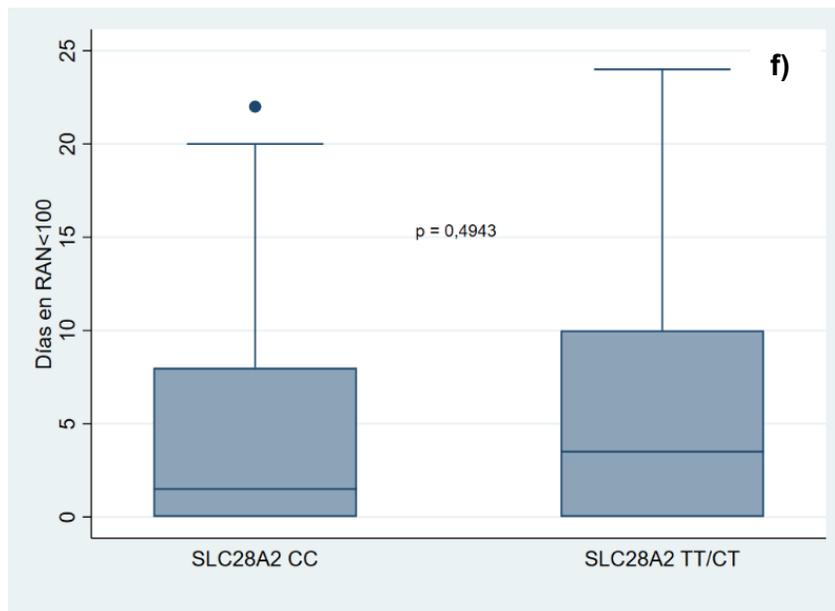
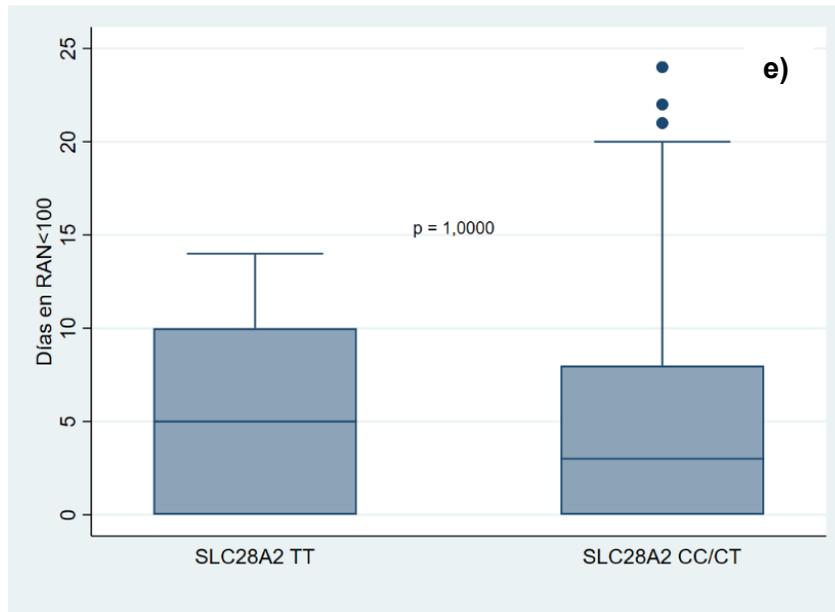
**7.1 :** Duración en días de RAN<1500 según modelos de herencia a) recesivo y b) dominante



7.2 : Duración en días de RAN<500 según modelos de herencia c) recesivo y d) dominante



7.3 : Duración en días de RAN<100 según modelos de herencia e) recesivo y f) dominante



7.4 : Duración en días de RAN = 0 según modelos de herencia g) recesivo y h) dominante

