

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
Escuela de Tecnología Médica



**TESIS PROFESIONAL**

***Para optar al título profesional de Tecnólogo Médico con mención***

***“Determinación de las frecuencias alélicas de siete polimorfismos genéticos en las enzimas CES1, CDA, TYMP, UMPS y DPYD involucradas en el metabolismo del pro-fármaco capecitabina, en muestras de población general chilena y población con alta carga ancestral mapuche”***

Alumno: Diego Alejandro Finschi Vargas

Tutor: Dr. Nelson Varela Figueroa



Firma tutor



Firma alumno

Fecha: 15/7/2022

## ACTA CURSO TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

El **Sr. Diego Alejandro Finschi Vargas**, estudiante de Tecnología Médica con Mención en Bioanálisis Clínico Molecular, Hematología y Medicina Transfusional, cumpliendo con los requisitos establecidos en el plan de estudio, realizó durante el noveno semestre de la carrera, la Tesis Profesional titulada: **“Determinación de la frecuencia alélica de siete polimorfismos genéticos en las enzimas CES1, CDA, TYMP, UMPS y DPYD involucradas en el metabolismo del pro-fármaco capecitabina, en una muestra de población general chilena”**, dirigida por el **Prof. Nelson Varela** académico del Departamento de Oncología Básico-Clínico, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad de Chile.

La Escuela de Tecnología Médica designó para su corrección una Comisión integrada por la: **Profa. Luisa Herrera**, académica del Programa Programa de Genética, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y el **Prof. Luis Quiñones**, académico del Departamento de Oncología Básico-Clínico, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

La calificación obtenida se detalla a continuación:

**Corrector 1 Luisa Herrera**

6.94 25%

**Corrector 2 Luis Quiñones**

6.79 25%

**Tutor(es) Guía:**

**Evaluación intermedia**

7.00 25%

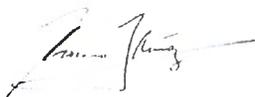
**Nota final tutor**

7.00 25%

**Nota final tesis profesional**

6.93

En consecuencia el estudiante **Diego Alejandro Finschi Vargas** aprueba satisfactoriamente la asignatura.



**Profa. Rosana Muñoz Videla**  
Coordinador(a) curso  
Trabajo de Investigación



**Prof. Hernán Torres**  
PEC curso  
Trabajo de Investigación

**A mi familia, por el apoyo incondicional durante el proceso y el camino que elegí.**

**A Andrea, por el amor que me entregas y por ser mi compañera de vida en este camino.**

**A mi papá y mamá que, aunque ya no estén acá, sé que me han acompañado.**

**A Perla, que cambiaste nuestra vida para siempre.**

## **Agradecimientos**

Agradezco profundamente a mi familia y amigos que me acompañaron durante todo este proceso. A mi madre y hermanos por nunca dudar de mí y apoyarme en todo momento pese a la adversidad. A mi tía Maricel y su familia, por considerarme como un hijo más en Santiago y estar siempre en las buenas y en las malas. A Andrea y su familia, por hacerme parte de ustedes, apoyarme y preocuparse por mí de corazón.

A todos los miembros del laboratorio CQF, por hacer de este un grato y enriquecedor proceso, tanto en lo académico como en lo personal. Gracias por resolver mis dudas, dedicar su tiempo para ayudarme a superar los obstáculos, por instruirme en las buenas prácticas del trabajo en laboratorio, por las agradables conversaciones.

Agradezco especialmente al Dr. Varela, por darme la oportunidad de participar en el laboratorio y en particular en este proyecto. Por su paciencia y disposición para escuchar y enseñar.

A Andrea, que estuviste a mi lado durante todo el proceso soportando mis altos y bajos. Gracias por tu apoyo y motivación para seguir adelante con mis proyectos.

## Índice

1. Resumen.....	1
2. Introducción.....	2
2.1. Cáncer colorrectal.....	2
2.2. Fluoropirimidinas: capecitabina.....	6
2.2.1. Dosificación del fármaco.....	7
2.2.2 SNPs y farmacogenética.....	10
3. Hipótesis y objetivos.....	16
3.1. Hipótesis.....	16
3.2. Objetivo general.....	16
3.3. Objetivos específicos.....	16
4. Materiales y métodos.....	17
4.1. Tipo de estudio y diseño.....	17
4.2. Tamaño de muestra.....	17
4.3. Criterios de inclusión y exclusión.....	17
4.4. Criterios de inclusión SNPs.....	18
4.5. Consideraciones éticas.....	18
4.6. Toma de muestra y extracción de ADN genómico.....	19
4.7. Control de calidad y selección de muestras.....	20
4.8. Análisis genotípico.....	21
4.9. Análisis estadístico.....	23
5. Resultados.....	24
5.1. Resultados detección rs2244613.....	24
5.2. Resultados detección rs7187684.....	25

5.3. Resultados detección rs10916825.....	25
5.4. Resultados detección rs532545.....	26
5.5. Resultados detección rs11479.....	26
5.6. Resultados detección rs4678145.....	27
5.7. Resultados detección rs3918290.....	27
6. Discusión.....	33
7. Conclusiones.....	38
8. Referencias bibliográficas.....	40
9. Anexos.....	46

## 1. Resumen

*Introducción:* En Chile, el año 2020 el cáncer colorrectal ocupó el segundo lugar entre los cánceres con mayor incidencia y el tercero en cuanto a mortalidad. La capecitabina corresponde a un profármaco antineoplásico del 5-fluorouracilo, cuya dosificación se realiza en base a la superficie corporal del paciente, lo cual podría afectar la eficacia del tratamiento y su seguridad frente reacciones adversas graves. Debido a que las frecuencias alélicas de los SNPs asociados a reacciones adversas no se ha descrito en población chilena, no es posible realizar estudios farmacogenéticos que permitan estimar el efecto que provocan en la toxicidad asociada al tratamiento con capecitabina. *Objetivo:* Determinar la frecuencia alélica de 7 variantes presentes en 5 genes codificantes para enzimas involucradas en el metabolismo de capecitabina (CES1, CDA, DPYD, TYMP y UMPS) en población general chilena (PGC) y población con alta carga ancestral mapuche (PAM). *Materiales y métodos:* Los genotipos fueron determinados utilizando la técnica de PCR en tiempo real asociado a sondas TaqMan® en una muestra de 91 voluntarios de PGC y 51 voluntarios de PAM. Para determinar el cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg, se utilizó la prueba de Chi-cuadrado. *Resultados y discusión:* Por un lado, las frecuencias alélicas del alelo minoritario (MAF, por su sigla en inglés) de los SNPs rs2244613, rs7187684, rs532545 y rs11479 en PGC y PAM (frecuencias, respectivamente) fueron mayores a las observadas en población caucásica. La MAF de los SNPs rs3918290 y rs4678145 en PGC y PAM (frecuencias, respectivamente) fueron similares a las observadas en población caucásica. En cambio, la MAF del SNP rs10916825 en PGC y PAM fueron menores que las observadas en población caucásica. Por otro lado, la MAF de los SNPs rs532545 y rs4678145 en PGC y PAM fueron mayores a las observadas en población asiática. La MAF del SNP rs3918290 tanto en PGC como en PAM es idéntica a la observada en población asiática. Finalmente, la MAF de los SNPs rs2244613, rs7187684, rs10916825 y rs11479 en PGC y PAM fueron menores a las observadas en población asiática.

## 2. Introducción

El cáncer es una enfermedad en la que células anormales de nuestro propio organismo presentan una multiplicación y diseminación fuera de control. De manera variable, las células cancerosas presentan características que las distinguen de las células normales, ya que las primeras pueden manifestar una proliferación descontrolada, anaplasia, pérdida de función, invasividad y metástasis (Rang y cols, 2012). En términos generales, existen tres métodos principales de tratamiento contra el cáncer ya establecido: resección quirúrgica, irradiación y quimioterapia, donde su utilización dependerá del estadio o etapa en la que se encuentre desarrollada la enfermedad. Dentro de los aspectos importantes de las estrategias de tratamiento farmacológico se encuentra la selectividad del fármaco por células neoplásicas por sobre las células normales del hospedador, la administración adecuada del fármaco teniendo en cuenta el estado inmunológico del paciente, el tiempo de administración del fármaco, el número de dosis y la cantidad de fármaco a administrar.

### 2.1 Cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal corresponde a uno de los cánceres con mayor incidencia en todo el mundo. De acuerdo con la *Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN), el cáncer colorrectal se encuentra en el tercer lugar de casos nuevos diagnosticados mundialmente y en el segundo lugar de los cánceres con mayor mortalidad, según datos obtenidos durante el año 2020. En Chile, para el año 2020 el cáncer colorrectal ocupó el segundo lugar entre los cánceres con mayor incidencia y el tercero en cuanto a mortalidad ya que, en dicho año, de las 54.227 personas que fueron diagnosticadas con cáncer 6.219 correspondían a cáncer colorrectal y 3.137 de ellas fallecieron a causa de éste.

Si bien el aumento en la incidencia del cáncer colorrectal se puede atribuir al envejecimiento poblacional y a un aumento en la exposición a factores de riesgo tales como la obesidad, la enfermedad inflamatoria intestinal, el tabaquismo, la falta de actividad física, consumo de carnes

rojas y bajo consumo de frutas y verduras (Ríos y cols, 2020; Johnson y cols, 2013), es importante destacar que los antecedentes familiares de cáncer colorrectal corresponden un factor de riesgo preponderante, ya que están asociados con un riesgo mucho mayor de padecer la enfermedad (Fuchs y cols, 1994; Quintero y cols, 2016).

En el tratamiento antineoplásico del cáncer existe gran variabilidad interindividual tanto en la farmacocinética como en la farmacodinamia producto de factores como la edad, la etnia, las interacciones fármaco-fármaco, la función hepática y renal, las comorbilidades del paciente, su estado nutricional, el consumo de alcohol y tabaquismo. No obstante, uno de los factores que más pueden impactar en la eficacia y toxicidad de los fármacos antineoplásicos son los factores genéticos (Bertholee y cols, 2017). En consecuencia, conocer el perfil genético del paciente ayudará a diseñar un tratamiento personalizado que mejore la respuesta al tratamiento, disminuya los posibles efectos adversos y mejore la calidad de vida del paciente.

El pronóstico del cáncer colorrectal depende, en gran medida, de la localización del tumor y el grado de su penetración en la pared intestinal, así como también si el intestino se encuentra obstruido o perforado, del compromiso de los ganglios linfáticos y de la presencia de metástasis distantes (Braun y cols, 2012).

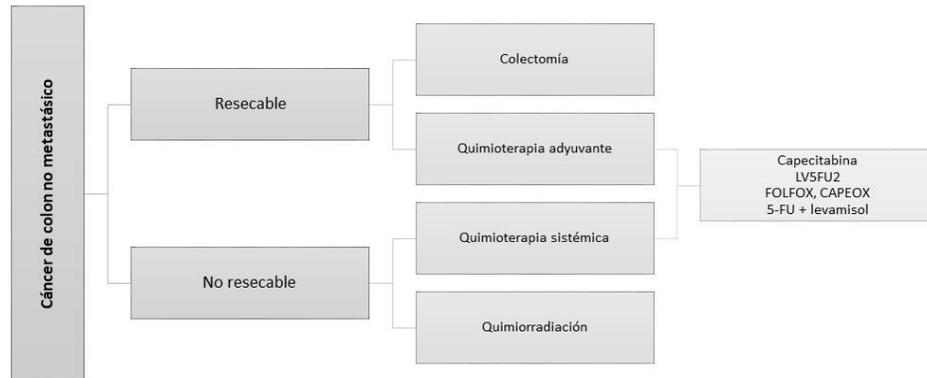
En relación a la estadificación del cáncer colorrectal, el sistema empleado más frecuentemente es la clasificación TNM (ver Tabla 1 en Anexo) del *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*, el cual permite establecer una relación directa entre el pronóstico de este cáncer y aspectos tales como el grado de penetración del tumor en la pared del colon o del recto (T), la propagación a los ganglios linfáticos regionales (N) y la presencia de metástasis distantes (M) (Machado y cols, 2011). La estadificación del cáncer colorrectal de acuerdo a la clasificación TNM se puede apreciar en la Tabla 2.

Con respecto al tratamiento, se debe distinguir si el cáncer corresponde a un cáncer metastásico o no metastásico, y a su vez, si éste es resecable o irresecable (ver Figura 1).

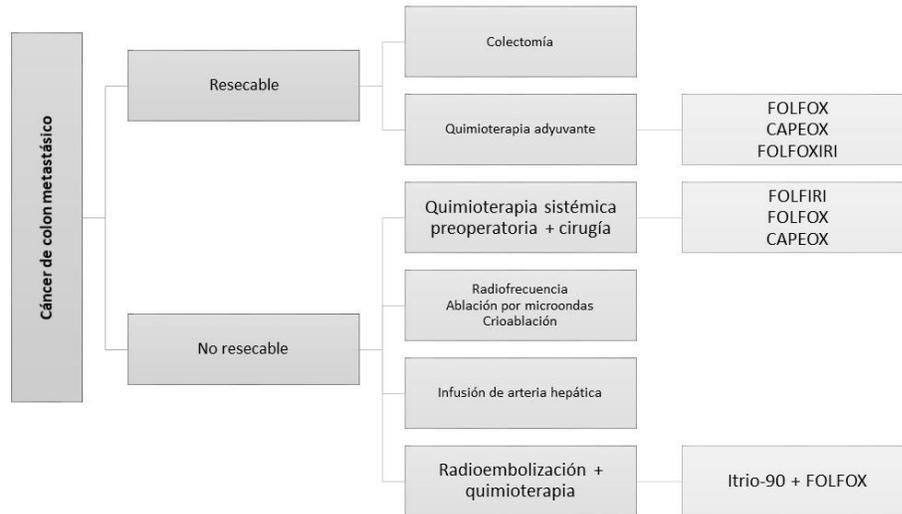
En caso de tratamiento frente a un cáncer de colon no metastásico, si éste es resecable es posible extirparlo mediante colectomía junto con la resección de ganglios linfáticos regionales, lo cual logra una curación en aproximadamente el 50% de los pacientes (Braun y cols, 2012). Sin embargo, en casos de cáncer de colon en estadios II a III puede estar indicado el tratamiento con quimioterapia adyuvante, donde se incluyen esquemas de capecitabina, 5-fluorouracilo (5-FU), 5-FU más leucovorina (LV5FU2), LV5FU2 más oxaliplatino (FOLFOX), oxaliplatino más capecitabina (CAPEOX) y 5-FU más levamisol (Haller y cols, 2011; André y cols, 2015; Wolmark y cols, 2016; Moertel y cols, 1990; Binefa y cols, 2014). Por el contrario, en caso que el cáncer no metastásico fuese irresecable, se recomienda el tratamiento de quimiorradioterapia adyuvante o el de quimioterapia mencionado anteriormente, en busca de que el tumor se torne resecable (Binefa y cols, 2014).

Por otro lado, en el cáncer colorrectal metastásico resecable el tratamiento se lleva a cabo mediante colectomía y la tasa de supervivencia a los 5 años es del 25% al 40% (Braun y cols, 2012); sin embargo, la quimioterapia adyuvante también puede ser utilizada con el fin de complementar las técnicas imagenológicas incapaces de detectar la enfermedad microscópica residual y realizar un mejor seguimiento de los pacientes (Ciliberto y cols, 2012). Por el contrario, el cáncer metastásico irresecable puede tratarse con quimioterapia preoperatoria en busca de convertir el tumor en resecable, haciendo uso de fármacos como FOLFOX, 5-FU más irinotecan más leucovorina (FOLFIRI) o CAPEOX. Además, existe la posibilidad de realizar terapias ablativas (radiofrecuencia, ablación por microondas y crioablación), terapias dirigidas como infusión de arteria hepática, radioembolización con itrio-90 más quimioterapia con FOLFOX (Clark y cols, 2014).

(a)



(b)



**Figura 1. Tratamiento contra el cáncer colorrectal.** (a) Esquema de tratamiento contra cáncer de colon no metastásico.

Si el cáncer es resecable, el tratamiento consiste en una colectomía o en quimioterapia adyuvante (en caso de encontrarse en cáncer de colon estadio II o III). En caso de que el cáncer no fuese resecable, se recomienda terapia de quimiorradiación o quimioterapia sistémica en busca de que el tumor se vuelva resecable. (b) Esquema de tratamiento contra cáncer de colon metastásico. Si el tumor es resecable, el tratamiento consiste en colectomía y quimioterapia adyuvante complementaria. Si el cáncer no es resecable, puede tratarse con quimioterapia preoperatoria con el fin de volver resecable al tumor. Además, existe la opción de realizar terapias ablativas (radiofrecuencia, ablación por microondas y crioablación), terapias dirigidas (infusión de arteria hepática) y radioembolización con itrio-90 más quimioterapia.

**Tabla 2.** Estadificación del cáncer colorrectal de acuerdo a la clasificación TNM

	T	N	M
<b>Estadio I</b>	2	0	0
<b>Estadio IIa</b>	3	0	0
<b>Estadio IIb</b>	4	0	0
<b>Estadio IIIa</b>	1 - 2	1	0
<b>Estadio IIIb</b>	3 - 4	1	0
<b>Estadio IIIc</b>	Cualquiera	2	0
<b>Estadio IV</b>	Cualquiera	Cualquiera	1

*Fuente: American Joint Committee on Cancer*

## 2.2. Fluoropirimidinas: capecitabina

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, es posible notar que gran parte de los esquemas terapéuticos, tanto en cáncer metastásico como no metastásico, están basados en el uso de fluoropirimidinas.

Las fluoropirimidinas (5-FU y capecitabina) corresponden a fármacos antineoplásicos del tipo antimetabolito, cuyo mecanismo de acción se basa en el bloqueo o interrupción de una o más vías metabólicas que intervienen en la síntesis de ADN. El 5-FU es metabolizado a monofosfato de fluorodesoxiuridina (FdUMP), el cual corresponde a un análogo del uracilo. Este metabolito activo interactúa con timidilato sintasa (TYMS) formando un complejo covalente, provocando su inhibición y la interferencia en la síntesis de dTMP. En consecuencia, el fármaco provoca la inhibición de la síntesis de ADN, pero no así de la síntesis de RNA y proteínas (Braun y cols, 2012). Existen fármacos que son metabolizados a 5-FU, tales como tegafur y capecitabina.

La capecitabina corresponde a un profármaco de administración oral que es metabolizado en su forma activa a 5-FU preferentemente en el tejido tumoral, mediante una cascada enzimática de tres pasos y dos metabolitos intermedios, 5'-desoxi-5-fluorocitidina (5'-dFCR) y 5'-desoxi-5-

fluorouridina (5'-dFUR) (Figura 2). En primer lugar, capecitabina es metabolizada en el hígado por las enzimas carboxiesterasa (CES) y citidina deaminasa (CDA) produciendo 5'-dFCR y 5'-dFUR, respectivamente. La etapa final de la conversión desde 5'-dFUR a 5-FU es catalizada por la enzima timidina fosforilasa (TYMP), la cual se encuentra metabólicamente más activa en el tumor en comparación al tejido sano (Twelves y cols, 2005; Desmoulin y cols, 2002; Pasetto y cols, 2006). Por otra parte, la enzima dihidropirimidina deshidrogenasa (DPYD) representa el paso inicial y limitante de la velocidad en el catabolismo del 5-FU al metabolito inactivo dihidrofluorouracilo (DHFU) (Vasan y cols, 2019), el cual corresponde aproximadamente el 80% de la dosis administrada. Por el contrario, la conversión de 5-FU a FdUMP por uridina-5'-monofosfato sintasa (UMPS) corresponde al principal mecanismo de activación, el cual corresponde sólo entre el 1% y 3% del 5-FU administrado (Zhang y cols, 2007).

### **2.2.1 Dosificación del fármaco**

La dosificación para el tratamiento con capecitabina y 5-FU se basa en la fórmula del medicamento por superficie corporal:  $\text{mg}/\text{m}^2$ . Sin embargo, la obtención de dichas dosis corresponde a las máximas obtenidas en estudios clínicos iniciales; por lo que la dosificación fundamentada en dicha fórmula se encuentra asociada con una elevada variación inter e intrapaciente, ocasionando un aumento en la toxicidad y falla en el tratamiento a causa de considerables diferencias de concentración en los niveles plasmáticos (Matus-Santos y cols, 2015).

La dosis de capecitabina se puede ajustar de acuerdo a diversos factores y parámetros presentados por el paciente. Se indica vía oral la cantidad de  $1000 - 1250 \text{ mg}/\text{m}^2$  2 veces al día, por 2 semanas cada 21 días. En caso de presentar valores de clearance renal entre  $30 - 50 \text{ ml}/\text{min}$ , la dosis se debe ajustar al 75% de lo indicado anteriormente; si el valor de clearance de creatinina es menor a 30



Dentro de las posibles interacciones farmacológicas de la capecitabina encontramos los anticoagulantes orales, ya que la capecitabina puede exacerbar los efectos farmacodinámicos de la warfarina, aumentando el riesgo de sufrir hemorragia; el consumo concomitante de antiácidos puede provocar el aumento de absorción de capecitabina; la capecitabina puede aumentar la concentración sérica de fenitoína; además, el ácido folínico aumenta los efectos adversos de la capecitabina (Gersch y cols, 2017; Casciato y cols, 2012).

Se ha descrito un gran número de efectos adversos asociados al tratamiento con capecitabina, dentro de los cuales se encuentra la diarrea, mielosupresión grave en pacientes con deficiencia de DPYD, mucositis, lagrimación excesiva, decoloración cutánea, deshidratación, eritrodisestesia palmoplantar, vasoespasmo coronario, disfunción cerebelosa reversible, somnolencia, confusión y convulsiones (Govindan y cols, 2016; Vasan y cols, 2019, Casciato y cols, 2012).

Estudios de asociación entre concentración plasmática de 5-FU y eficacia clínica han demostrado que ajustes de dosis guiados farmacogenéticamente pueden mejorar sustancialmente el índice terapéutico del tratamiento. Además, dichos estudios han evidenciado que sólo entre un 20% y 30% de los pacientes bajo tratamiento con 5-FU se encuentran en un rango terapéutico apropiado, mientras que entre un 40% y 60% de los pacientes se encuentran subdosificados y entre el 10% y el 20% sufren una sobredosis (Saif y cols, 2018). Sin embargo, la dosificación del fármaco basada únicamente en el cribado farmacogenético puede ser ilusorio, esto debido a que la deficiencia de DPYD no es el único determinante de la toxicidad del 5-FU. Por lo tanto, se hace necesario realizar ensayos prospectivos de mayor magnitud que permitan proponer el uso de pruebas farmacogenéticas para predecir la toxicidad de las fluoropirimidinas y optimizar la dosificación personalizada para pacientes bajo este tratamiento (Falvella y cols, 2015).

### 2.2.2 SNPs y farmacogenética

La farmacogenética es la disciplina encargada de estudiar la influencia de la herencia en la variabilidad de la respuesta de los fármacos. Las posibilidades de esta ciencia estriban en que el conocimiento de la secuencia de ADN de un paciente podrá utilizarse para potenciar el tratamiento farmacológico, aumentar al máximo el efecto de un fármaco y reducir la incidencia de reacciones adversas a fármacos (Golan y cols, 2012). Dentro de las causas de intolerancia a fluoropirimidinas, la deficiencia de DPYD es la más conocida y estudiada hasta la fecha, donde se ha detectado en hasta 61% de los pacientes con toxicidad grave. Esto se debe principalmente a que una reducción de la actividad de DPYD conlleva a un incremento intracelular de metabolitos activos de 5-FU y, así, a un mayor riesgo de toxicidad (Van Kuilenburg y cols, 2004).

Actualmente, agrupaciones como *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* (CPIC) y *Dutch Pharmacogenetics Working Group* (DPWG) han desarrollado recomendaciones para la interpretación de test farmacológicos utilizados para guiar la dosificación de fluoropirimidinas en pacientes con deficiencia de DPYD. Por ejemplo, la CPIC define el probable fenotipo del paciente en base a su genotipo. Los fenotipos a los cuales se les clasifica corresponden a metabolizadores normales, metabolizadores intermedios o pobremente metabolizadores. A cada fenotipo se le asigna un *score* de actividad de la DPYD basado en la funcionalidad de sus alelos: *score* 0 (pobremente metabolizador), *score* 1 o 1,5 (metabolizadores intermedios) y *score* 2 (metabolizadores normales). Al someter al paciente a un test farmacológico para conocer su genotipo es posible recomendar la dosis de fluoropirimidinas para su tratamiento en base a su fenotipo de DPYD asignado (Tabla 4). Sin embargo, el hecho de no encontrar explicación para gran parte de los efectos adversos sugiere la necesidad de estudiar variantes en los genes de otras enzimas implicadas en el metabolismo de capecitabina.

**Tabla 4.** Dosis recomendada de fluoropirimidinas en base a su fenotipo DPYD. (Modificado de *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*, 2017).

Fenotipo	Implicaciones para las medidas fenotípicas	Dosis recomendada	Clasificación de la recomendación
Metabolizador normal DPYD	Actividad normal de DPYD y riesgo "normal" de toxicidad a fluoropirimidinas	De acuerdo al genotipo, no hay indicación de cambiar la dosis o terapia.	Fuerte
Metabolizador intermedio DPYD	Actividad disminuida de DPYD y riesgo fatal o severo de toxicidad al tratarse con fluoropirimidinas	Reducir la dosis inicial según el score de actividad seguido de la titulación de la dosis basada en toxicidad. <b>Score 1:</b> Reducir dosis al 50% <b>Score 1,5:</b> Reducir dosis del 25% al 50%.	<b>Score 1:</b> Fuerte <b>Score 2:</b> Moderada
Pobremente metabolizador DPYD	Deficiencia completa de DPYD y riesgo fatal o severo de toxicidad al tratarse con fluoropirimidinas	<b>Score 0,5:</b> Evitar el uso de 5-FU o regímenes basados en él. En caso de, según el consejo clínico, los esquemas alternativos no se consideren adecuados, administrar 5-FU en dosis altamente reducidas en conjunto a monitoreo temprano. <b>Score 0:</b> Evitar el uso de 5-FU o regímenes basados en profármacos de 5-FU.	Fuerte

**Tabla 5.** Variantes farmacogenéticas incluidas en el estudio

Gen	CES1	CDA	DPYD	TYMP	UMPS
<b>rs</b>	2244613	10916825	3918290	11479	4678145
<b>Localización</b>	Intrón 10	Intrón 2	Intrón 14	Exón 10	Intrón
<b>Variante</b>	g.55810697G>T	g.20605281A>G	g.97450058C>T	g.50964236G>A	g.124731234G>C
<b>Efecto</b>	Alteración <i>splicing</i> mRNA	Alteración <i>splicing</i> mRNA	Omisión del exón 14	Mutación <i>Missense</i>	Alteración <i>splicing</i> mRNA
<b>Cambio aminoacídico</b>	N/A	N/A	N/A	S471L	N/A
<b>Consecuencia funcional enzima</b>	Actividad reducida	No descrito	Actividad reducida	Sin actividad enzimática	Actividad aumentada
<b>Relación clínica</b>	Alelo G está asociado a mayor riesgo de toxicidad en comparación al alelo T	Alelo A está asociado a un mayor riesgo de presentar diarrea en comparación al alelo G	Genotipo CT está asociado a un mayor riesgo de toxicidad en comparación al genotipo CC	Genotipos AA + AG están asociados a un mayor riesgo de toxicidad en comparación al genotipo GG	Genotipos CC + CG están asociados a una mayor probabilidad de presentar astenia en comparación al genotipo GG
<b>Referencia</b>	Hamzic y cols, 2017; Matsumoto y cols, 2020.	Hamzic y cols, 2017.	Madi y cols, 2018; Lam y cols, 2016.	Jennings y cols, 2013; Meulendijks, 2016.	Pellicer y cols, 2017.

La Tabla 5 resume las principales características de las variantes incluidas en el presente estudio.

La variante rs3918290 del gen *DPYD* se encuentra asociada a mayor toxicidad farmacológica en genotipo CT comparado al genotipo CC (Madi y cols, 2018), cuya consecuencia corresponde a una sustitución de glicina por alanina en el sitio de splicing del intrón 14, lo que provoca una omisión del exón 14 y da como resultado una proteína truncada sin actividad enzimática (Lam y cols, 2016).

Se ha identificado un haplotipo de *CES1* que contempla 5 variantes (rs2244613, rs2244614, rs3217164, rs11861118, rs7187684) asociadas a toxicidad general de inicio temprano y donde el alelo G está asociado a mayor toxicidad en comparación con el alelo T. (Hamzic y cols, 2017).

El gen *CDA* se encuentra ampliamente estudiado, donde se ha descrito un mayor riesgo de presentar eritrodiseptesia palmoplantar asociada a variante rs532545 (Caronia y cols, 2011), y un mayor riesgo de diarrea asociado a variantes rs602950 y rs10916825 (Hamzic y cols, 2017).

Con respecto al gen *TYMP*, la variante rs11479 se asocia a mayor toxicidad farmacológica en genotipos AA + AG en comparación con genotipo GG (Jennings y cols, 2013).

El gen *UMPS* presenta variantes (rs2279199, rs4678145) que se relacionan a mayor probabilidad de vómitos, náuseas y astenia en genotipos CC + CG en comparación con genotipo GG (Pellicer y cols, 2017).

La frecuencia alélica de estos SNPs se puede apreciar en la Tabla 6, donde es posible notar que, para el polimorfismo rs2244613 existe una gran variabilidad entre población asiática y las demás poblaciones. Sin embargo, se observa que la frecuencia del alelo G en población africana y población mestiza americana es bastante similar. Con respecto al polimorfismo rs7187684, la frecuencia del alelo T en población europea discrepa notablemente de las demás poblaciones; no obstante, la frecuencia de este alelo en población asiática y africana es equivalente. El polimorfismo rs10916825 presenta una frecuencia del alelo G semejante en las poblaciones mencionadas, a pesar de que en población africana la frecuencia es relativamente menor. Por otro lado, la

frecuencia del alelo T en el polimorfismo rs532545 es altamente similar en población europea y población mestiza americana; mientras que en población asiática y africana es notablemente menor. Respecto al SNP rs3918290, la frecuencia alélica es ínfima en todas las poblaciones referidas. En relación con el polimorfismo rs11479, la frecuencia alélica en población europea y africana es notablemente menor en comparación a población asiática y mestiza americana. Referente al SNP rs4678145, la población europea y mestiza americana presentan frecuencias alélicas similares, mientras que la población africana y asiática expresan valores muy por debajo de los primeros.

**Tabla 6.** Frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados.

SNP	Gen	Alelos	MAF* p. europea	MAF* p. africana	MAF* p. asiática	MAF* p. mestiza americana
rs2244613	<i>CES1</i>	G > T	0,16 (G)	0,25 (G)	0,40 (T)	0,27 (G)
rs7187684	<i>CES1</i>	T > C	0,16 (T)	0,46 (T)	0,46 (T)	0,29 (T)
rs10916825	<i>CDA</i>	A > G	0,39 (G)	0,23 (G)	0,36 (G)	0,30 (G)
rs532545	<i>CDA</i>	C > T	0,30 (T)	0,06 (T)	0,12 (T)	0,31 (T)
rs3918290	<i>DPYD</i>	C > T	0,00 (T)	0,00 (T)	0,00 (T)	0,00 (T)
rs11479	<i>TYMP</i>	G > A	0,07 (A)	0,03 (A)	0,29 (A)	0,17 (A)
rs4678145	<i>UMPS</i>	G > C	0,13 (C)	0,05 (C)	0,05 (C)	0,10 (C)

\*MAF: frecuencia del alelo menos común, según datos obtenidos desde 1000 Genomes.

A partir de lo anterior, es posible dar cuenta de la gran variabilidad genética entre etnias, lo cual resulta imperante de considerar al momento de realizar estudios genéticos en las poblaciones. Otro aspecto importante a tomar en cuenta es el mecanismo de deriva genética, por el cual una población puede ver alteradas sus frecuencias alélicas en el tiempo a causa del azar, de manera que incluso puede provocar la pérdida de algunos alelos (Wright, 1980). Esto permite realizar la

caracterización de un grupo poblacional de acuerdo a sus variantes genéticas, las cuales podrían verse alteradas cuantitativa o cualitativamente dependiendo si dicha población sufrió los efectos del mestizaje entre etnias diferentes o producto de la globalización, o bien si la población corresponde a una etnia con bajo porcentaje de mestizaje.

La población chilena corresponde a una mezcla de etnias, cuyo proceso se llevó a cabo desde la llegada de los españoles, a mediados del siglo XVI durante la conquista, con mujeres indias nativas del continente (Valenzuela y cols, 2011). Además, Rocco y cols (2002) han reportado que el mestizaje de la población chilena se debe a hombres europeos y mujeres indias nativas, en base al estudio de marcadores biológicos en su ADN mitocondrial. Por otra parte, el grupo sanguíneo O corresponde a un marcador ancestral aborígen (Acuña y cols, 2000), por lo que la presencia de los diversos grupos sanguíneos en población chilena y, particularmente, en sus distintas etnias, corresponde a una representación diferencial respecto a la etnia a la cual provienen sus habitantes. Debido a lo anterior, el considerar variables como la presencia del grupo sanguíneo O y contar con uno o ambos apellidos de origen mapuche corresponde a un indicador confiable de que el individuo en cuestión posee una alta carga ancestral de dicha etnia.

Debido a que la frecuencia alélica de los SNPs mencionados anteriormente no se ha descrito en población chilena, no es posible realizar estudios farmacogenéticos que permitan estimar el efecto que provocan estos SNPs en la toxicidad asociada al tratamiento con capecitabina. Debido a lo anterior, la dosificación del fármaco se continúa realizando en base a la superficie corporal del paciente a pesar de que la dosis se debe ajustar a su propia tolerancia al fármaco, lo cual podría retrasar el inicio del siguiente ciclo hasta su recuperación de la toxicidad, afectando la eficacia del tratamiento y su seguridad frente reacciones adversas graves.

### 3. Hipótesis y objetivos

#### 3.1 Hipótesis

Variantes genéticas de las enzimas CES1, CDA, DPYD, TYMP y UMPS, involucradas en el metabolismo de capecitabina, se encuentran presentes tanto en población chilena como en población con alta carga ancestral mapuche en valores intermedios entre las frecuencias alélicas observadas en población caucásica y población asiática.

#### 3.2 Objetivo general

Determinar la frecuencia alélica de 7 variantes presentes en 5 genes codificantes para enzimas involucradas en el metabolismo de capecitabina (CES1, CDA, DPYD, TYMP y UMPS) en población general chilena y población con alta carga ancestral mapuche.

#### 3.3 Objetivos específicos

3.3.1 Implementar la detección de 7 variantes polimórficas en los genes codificantes para las enzimas involucradas en el metabolismo de capecitabina: *CES1* (rs2244613, rs7187684), *CDA* (rs10916825, rs532545), *DPYD* (rs3918290), *TYMP* (rs11479) y *UMPS* (rs4678145), mediante PCR en tiempo real utilizando sondas TaqMan®.

3.3.2 Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de las 7 variantes polimórficas señaladas en el objetivo específico n° 1 en una muestra de población general chilena, y en una muestra de población con alta carga ancestral mapuche.

#### **4. Materiales y métodos**

##### **4.1 Tipo de estudio y diseño**

Estudio observacional, descriptivo y transversal con reclutamiento entre 2018 y abril de 2022. Las muestras de ADN genómico corresponden a muestras de individuos chilenos mayores de edad, tomadas al azar, los cuales participaron en el proyecto “Configuración de un banco de colección de ADN para estudios farmacogenómicos en población chilena” del Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética (CQF) de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Si bien parte de las muestras de los voluntarios que participaron fueron tomadas durante el periodo en el que se desarrolló el presente estudio, es importante mencionar que un número considerable correspondió a muestras de ADN preexistente de voluntarios que ya habían participado en el banco de colección de ADN del Laboratorio CQF. Los participantes de este estudio fueron clasificados en grupos de población general chilena y población mapuche, de acuerdo a criterios mencionados a continuación.

##### **4.2 Tamaño de muestra**

Se analizó un total de 91 muestras de población general chilena y 51 muestras de población con alta carga ancestral mapuche.

##### **4.3 Criterios de inclusión y exclusión**

Respecto al grupo de población general chilena, se incluyeron participantes chilenos mayores de edad, de cualquier sexo, grupo étnico y grupo sanguíneo. Mientras que el grupo de población mapuche incluyó participantes mayores de edad, de cualquier sexo y grupo sanguíneo, y que posean al menos un apellido de origen mapuche.

Por otro lado, los criterios de exclusión para ambos grupos consisten en participantes que no hayan firmado el consentimiento informado (ver Anexo 9.5). Cabe destacar que los voluntarios participantes en el proyecto correspondieron a estudiantes, docentes y funcionarios de la Universidad de Chile, así como también a individuos relacionados a éstos.

#### **4.4 Criterios de inclusión SNPs**

Se identificaron 181 polimorfismos relacionados con capecitabina en la base de datos PharmGKB. Con el fin de incluir los más pertinentes con los objetivos del presente estudio, se les asignó un puntaje basado en criterios como nivel de evidencia clínica, la frecuencia del alelo menor, si existe relación del polimorfismo con el *outcome* (toxicidad de capecitabina), el Sorting Intolerant From Tolerant (SIFT), el cual corresponde a un algoritmo que predice el efecto de las variantes codificantes en la función de la proteína (Sim y cols, 2012) y Polyphen, el cual predice el posible impacto de las sustituciones aminoacídicas en la estabilidad y función de las proteínas utilizando consideraciones estructurales y comparativas (Adzhubei, 2015). La Tabla 7 resume los criterios aplicados.

#### **4.5 Consideraciones éticas**

El presente estudio fue realizado con estricto cumplimiento de los principios éticos de la Declaración de Helsinki y criterios del Informe de Belmont. Las muestras de ADN de los participantes de este estudio provienen de un banco de colección de ADN enmarcado en el protocolo “Configuración de un banco de colección de ADN para estudios farmacogenómicos en población chilena”, el cual se encuentra aprobado por el Comité de Ética de la Investigación (CEI) del Servicio de Salud Metropolitano Norte (SSMN), Carta N° 027/2016 (ver Anexo 9.6). A cada voluntario se le asignó un código numérico con el fin de garantizar su anonimato y confidencialidad.

**Tabla 7.** Criterios de selección de SNPs.

Criterios		Puntaje asignado
<b>Nivel de evidencia clínica</b>	Nivel 1	4
	Nivel 2	3
	Nivel 3	2
	Nivel 4	1
<b>MAF</b>	0,01 – 0,25	1
	0,26 – 0,5	2
	0,51 – 0,75	3
	0,76 – 0,99	4
<b>Relación del SNP con <i>outcome</i></b>	Sí corresponde	2
	No corresponde	1
<b>Efecto del SNP en la proteína</b>	Cambio en secuencia aminoacídica	4
	Cambio en regiones inter-intragénicas, intrónicas o cambio silente	2
<b>Polyphen</b>	Benigno	1
	Maligno	2
<b>SIFT</b>	Variación tolerada	0,5
	Dañina	1

*MAF: Frecuencia del alelo menor; SIFT: Sorting Intolerant From Tolerant; Polyphen: Polymorphism Phenotyping.*

#### 4.6 Toma de muestra y extracción de ADN genómico

A cada participante del estudio se le extrajeron 6 ml de sangre venosa en un tubo Vacutainer® con anticoagulante EDTA (tubo tapa lila). El grupo sanguíneo de los participantes fue determinado mediante técnica en lámina utilizando anti-sueros anti-A, anti-B y anti-A,B Grupo Bios. Posterior a la rotulación del tubo, se procede a centrifugar la muestra y extraer la capa leucocitaria (*buffy coat*). El ADN genómico (ADNg) fue extraído y purificado mediante técnica en fase sólida (columnas) utilizando el kit *E.Z.N.A.® Blood DNA Mini Kit* de Omega Bio-Tek (N° de catálogo: D3392) siguiendo el protocolo del fabricante y bajo campana de flujo laminar, cuyo procedimiento fue realizado en el Laboratorio CQF de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Posteriormente, el ADNg fue cuantificado mediante espectrofotometría utilizando el equipo Denovix (modelo DS-11, FX,

Spectrophotometer Series, USA). Las muestras fueron almacenadas a -20°C hasta su posterior análisis.

#### 4.7 Control de calidad y selección de muestras

A partir de una base de datos digital del Laboratorio CQF se preseleccionaron las muestras que contenían los datos necesarios para el estudio, tales como el grupo sanguíneo, la concentración de ADNg, la relación 260/280 y datos antropométricos de los voluntarios. A muestras que podrían ser potencialmente seleccionadas se les midió la concentración de ADNg y la relación 260/280 mediante espectrofotometría tal como se mencionó en la sección anterior. Finalmente, se consideró la selección de muestras que cumplieran con una relación 260/280 mayor que 1,75 y una concentración de ADNg mayor que 30 ng/μl. Con el objetivo de estandarizar las mediciones, se realizaron alícuotas de las muestras seleccionadas llevándolas a una concentración de 30 ng/μl en un volumen de 20 μl.

**Tabla 8.** Condiciones del termociclador para la reacción de PCR

Etapa	SNP Convencional			DME		
	T°	Duración	Ciclos	T°	Duración	Ciclos
AmpliTaQ Gold®, UP, Activación Enzimática	95°C	10 min.	HOLD	95°C	10 min.	HOLD
Denaturación	95°C	15 seg.	40	95°C	15 seg.	50
<i>Annealing</i> /Extensión	60°C	1 min.		60°C	90 seg.	

#### 4.8 Análisis genotípico

Los genotipos fueron determinados utilizando la técnica de PCR en tiempo real (RT-PCR) asociado a sondas TaqMan® para la identificación de los 7 SNPs mencionados en el objetivo específico n° 1. Se utilizaron kit *SNP TaqMan Genotyping Master Mix*, de Applied Biosystems® (n° de catálogo: 4371353), junto con los ensayos respectivos para el análisis de cada genotipo. Los ensayos TaqMan® para los SNPs rs2244613, rs7187684, rs10916825, rs532545, rs11479 y rs4678145 fueron ensayos de genotipificación de SNP (*TaqMan® SNP Genotyping Assays*). En cambio, para el SNP rs3918290 el tipo de ensayo TaqMan® corresponde a un ensayo de genotipificación de enzima de metabolismo de fármacos (DME) *TaqMan® DME Genotyping Assays*. Para la amplificación se utilizó el equipo BIORAD modelo CFX96 C1000 *Thermal Cycler* compatible con kits *Applied Biosystems®*; sin embargo, se utilizaron protocolos distintos de acuerdo al tipo de ensayo que se estuviera llevando a cabo (ver Tabla 8).

**Tabla 9.** Reacción RT-PCR SNP

Reactivo	Cantidad
ADNg	30 ng
2x Genotyping Master Mix (N° de catálogo: 43771353)	4 µl
40X TaqMan SNP Genotyping Assay (contiene ambas sondas, primer directo y reverso)	0,2 µl
Agua libre de nucleasas de grado de biología molecular	c.s.p, 8 ul

*c.s.p: cantidad suficiente para.*

Para los ensayos de genotipificación de SNP se utilizaron los volúmenes indicados en la Tabla 9. El SNP rs2244613 se determinó utilizando el kit *TaqMan® Genotyping Assay* C\_\_11290377\_10, n° de catálogo 4351379, el cual detecta la sustitución g.55810697G>T; Para el SNP rs7187684 se utilizó el kit C\_\_31071358\_20, n° de catálogo 4351379, el cual detecta la sustitución g.55761039T>C; rs10916825 se determinó con el kit C\_\_31573761\_10, n° de catálogo 4351379, que detecta la sustitución g.20605281A>G; el SNP rs532545 se determinó utilizando el kit C\_\_7477400\_20, n° de catálogo 4351379, que discrimina la sustitución g.20588679C>T; rs11479 se identificó con el kit C\_\_11946264\_20, n° de catálogo 4351379, que discrimina la sustitución g.50964236G>A; y para rs4678145 se utilizó el kit C\_\_27974001\_10, n° de catálogo 4351379, el cual detecta la sustitución g.124731234G>C.

**Tabla 10.** Reacción RT-PCR DME

Reactivo	Cantidad
ADNg	30 ng
2x Genotyping Master Mix (N° de catálogo: 43771353)	4 µl
20X TaqMan SNP Genotyping Assay (contiene ambas sondas, primer directo y reverso)	0,4 µl
Agua libre de nucleasas de grado de biología molecular	c.s.p, 8 ul

*c.s.p: cantidad suficiente para.*

Por otro lado, el SNP rs3918290 se determinó con un ensayo de genotipificación DME (ver Tabla 8), utilizando el kit *TaqMan® Genotyping Assay C\_\_30633851\_20*, n° de catálogo 4362691, el cual discrimina la sustitución g.97450058C>T. Los volúmenes de reacción utilizados se indican en la Tabla 10.

#### 4.9 Análisis estadístico

Las frecuencias genotípicas esperadas para los SNPs rs2244613, rs7187684, rs10916825, rs532545, rs11479, rs4678145 y rs3918290 fueron determinadas mediante los valores de sus respectivas frecuencias alélicas. Con el objetivo de determinar si el equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) se cumplía en la distribución de los genotipos estudiados se utilizó la prueba de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) considerando un grado de libertad y  $\alpha = 0,05$ . Si el valor de  $\chi^2$  es superior a 3,84 para la comparación, implica el rechazo de la hipótesis nula y, por lo tanto, las frecuencias observadas difieren significativamente de las esperadas (Cerdeira y cols, 2007). Para el análisis del equilibrio de HW se utilizó la ecuación  $(p + q)^2 = 1$ , donde p corresponde a la frecuencia del alelo silvestre y q, a la frecuencia del alelo mutado.

## 5. Resultados

Los polimorfismos rs2244613, rs7187684, rs10916825, rs532545, rs3918290, rs11479 y rs4678145 fueron detectados en 91 individuos correspondientes a una muestra de población general chilena, y en 51 muestras correspondientes a individuos clasificados en una muestra de población mapuche. Adicionalmente, los polimorfismos se analizaron en una combinación de ambos grupos de muestra, a lo cual se referirá en el estudio como “Población Total Chilena”. El tamaño de la muestra, la clasificación de su grupo sanguíneo ABO y su porcentaje de mezcla aborígen-caucásica ( $M_{A-C}$ ) se pueden apreciar en la Tabla 11. La  $M_{A-C}$  se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%M_{A-C} = ((|F. obtenida O - F. españoles|)/(|F. mapuches - F. españoles|)) \times 100$$

**Tabla 11.** Características de la población de estudio

Grupo sanguíneo ABO	n población general chilena (%)	n población mapuche (%)
<b>A</b>	28 (30,77)	7 (13,73)
<b>B</b>	5 (5,49)	2 (3,92)
<b>AB</b>	6 (6,60)	0 (0)
<b>O</b>	52 (57,14)	42 (82,35)
<b>Total</b>	91 (100)	51 (100)
<b><math>M_{A-C}</math></b>	31%	73,8%

n: número de muestra, %: porcentaje,  $M_{A-C}$ : Mezcla aborígen-caucásica (%)

Los genotipos identificados para cada polimorfismo junto con sus respectivas frecuencias alélicas se encuentran descritos en la Tabla 12, Tabla 13 y Tabla 14 para población general chilena, población mapuche y población total chilena, respectivamente.

### 5.1 Resultados detección rs2244613

Para el polimorfismo rs2244613 del gen *CES1*, en el cual detecta la sustitución G>T, se describen los genotipos identificados: genotipo silvestre (T/T) y genotipos mutados (heterocigoto G/T y homocigoto G/G), cuyas frecuencias alélicas corresponden a 0,70 (alelo T) y 0,30 (alelo G) en

población general chilena, a 0,70 (alelo T) y 0,30 (alelo G) en población mapuche, y a 0,70 (alelo T) y 0,30 (alelo G) en población total chilena. El equilibrio de HW muestra que ambas frecuencias se encuentran en equilibrio en población general chilena, población mapuche y población total chilena ( $\chi^2$  menor a 3,84, con 1 grado de libertad y alpha igual a 0,05), ya que el valor de  $\chi^2$  que se obtuvo equivale a 0,003, 0,78 y 0,23, respectivamente.

### 5.2 Resultados detección rs7187684

En relación al polimorfismo rs7187684 del gen *CES1*, se detecta la sustitución T>C. Se identificó el genotipo silvestre (C/C) y los genotipos mutados (heterocigoto T/C y homocigoto T/T). Las frecuencias alélicas en la muestra de población chilena correspondieron a 0,68 (alelo C) y 0,32 (alelo T); en muestra de población mapuche, a 0,72 (alelo C) y 0,28 (alelo T); y en población total chilena, a 0,69 (alelo C) y 0,31 (alelo T). Las frecuencias se encontraron en equilibrio de HW para los tres grupos analizados ( $\chi^2$  menor a 3,84, con 1 grado de libertad y alpha igual a 0,05), ya que el valor de  $\chi^2$  que se obtuvo en población general chilena fue 0,72, en población mapuche fue 1,67, y en población total chilena correspondió a 2,11.

### 5.3 Resultados detección rs10916825

Para el polimorfismo rs10916825 del gen *CDA*, en el cual detecta la sustitución A>G, se describen el genotipo silvestre (A/A) y genotipos mutados (heterocigoto A/G y homocigoto G/G), cuyas frecuencias alélicas corresponden a 0,76 (alelo A) y 0,24 (alelo G) en población general chilena, a 0,89 (alelo A) y 0,11 (alelo G) en población mapuche, y a 0,81 (alelo A) y 0,19 (alelo G) en población total chilena. Tal como se puede apreciar en la Tabla 13, no se detectaron genotipos homocigotos mutados (G/G) en la muestras de población mapuche.

Ambas frecuencias se encontraron en equilibrio de HW para los tres grupos analizados: población general chilena, población mapuche y población total chilena ( $\chi^2$  menor a 3,84, con 1 grado de libertad y alpha igual a 0,05), ya que el valor de  $\chi^2$  que se obtuvo equivale a 0,39, 0,75 y 0,38, respectivamente.

#### 5.4 Resultados detección rs532545

El polimorfismo rs532545 (gen *CDA*), para el cual se detecta la sustitución C>T, los genotipos descritos fueron los siguientes: genotipo silvestre C/C, genotipo mutado heterocigoto C/T y genotipo mutado homocigoto T/T. Las frecuencias alélicas obtenidas en población general chilena fueron 0,58 (alelo C) y 0,42 (alelo T); en población mapuche las frecuencias alélicas correspondieron a 0,53 (alelo C) y 0,47 (alelo T); por último, en población total chilena, las frecuencias alélicas obtenidas fueron 0,56 (alelo C) y 0,44 (alelo T). Para los 3 grupos de muestra analizados se cumplió el equilibrio HW ( $\chi^2$  menor a 3,84, con 1 grado de libertad y alpha igual a 0,05), ya que el valor de  $\chi^2$  para muestra de población general chilena, población mapuche y población total chilena correspondió a 0,03, 0,92 y 0,56, respectivamente.

#### 5.5 Resultados detección rs11479

Para los grupos de población general chilena, población mapuche y población total chilena se realizó la detección de la sustitución G>A en el polimorfismo rs11479 del gen *TYMP*, en donde se identificó el genotipo silvestre (G/G), el genotipo mutado heterocigoto (A/G) y el genotipo mutado homocigoto (A/A). Las frecuencias alélicas para el grupo de población general chilena, población mapuche y población total chilena correspondieron a 0,85 (alelo G) y 0,15 (alelo A), 0,82 (alelo G) y 0,18 (alelo A), y 0,84 (alelo G) y 0,16 (alelo A), respectivamente. El equilibrio de HW se cumplió para los tres grupos de estudio ( $\chi^2$  menor a 3,84, con 1 grado de libertad y alpha igual a 0,05),

debido a que el valor de  $\chi^2$  en población general chilena fue 0,00; en población mapuche, 1,85; y, en población total chilena, 0,82.

#### **5.6 Resultados detección rs4678145**

Respecto a al polimorfismo rs4678145 del gen *UMPS*, se detectó la sustitución G>C en muestras de población general chilena, población mapuche, y población total chilena. Se identificó el genotipo silvestre (G/G), el genotipo heterocigoto mutado (C/G) y el genotipo homocigoto mutado (C/C). Las frecuencias alélicas correspondientes a población general fueron 0,90 (alelo G) y 0,10 (alelo C); para población mapuche, 0,86 (alelo G) y 0,14 (alelo C); para población total chilena, 0,89 (alelo G) y 0,11 (alelo C). Tal como se observa en la Tabla 13, en muestras de población mapuche no se detectó la presencia del genotipo mutado homocigoto (C/C).

El equilibrio de HW se cumple para los tres grupos de estudio ( $\chi^2$  menor a 3,84, con 1 grado de libertad y alpha igual a 0,05), ya que el valor de  $\chi^2$  para población general chilena fue 1,70; para población mapuche, 1,29; para población total chilena, 0,03.

#### **5.7 Resultados detección rs3918290**

Para el polimorfismo rs3918290 del gen *DPYD*, se detectó la sustitución C>T. El genotipo silvestre identificado (C/C) se detectó en la totalidad de las muestras para los tres grupos en el presente estudio, esto es, tanto el genotipo mutado heterocigoto (C/T) como el genotipo mutado homocigoto (T/T) no se detectaron en población general chilena ni en población mapuche. Por lo tanto, la frecuencia alélica para el alelo C fue de 1 en población general chilena, población mapuche y en población total chilena (ver Tabla 12, Tabla 13 y Tabla 14).

La Tabla 15 muestra la comparación de las frecuencias del alelo menos común (MAF) de los polimorfismos rs2244613, rs7187684, rs10916825, rs532545, rs3918290, rs11479 y rs4678145 entre los datos obtenidos en el presente estudio y los datos obtenidos en población europea, africana, asiática y americana a partir de la base de datos *1000 Genomes*, donde se puede apreciar una gran variabilidad entre poblaciones.

**TABLA 12. Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs2244613, rs7187684, rs10916825, rs7187684, rs10916825, rs532545, rs11479, rs4678145 y rs3918290 en una muestra de población general chilena.**

<b>rs2244613</b>		<b>rs7187684</b>		<b>rs10916825</b>		<b>rs532545</b>	
<b>N</b>	<b>%</b>	<b>C/C</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>G/G</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
T/T	44	49,44	44	48,35	G/G	4	4,4
G/T	37	41,57	36	39,56	A/G	35	38,46
G/G	8	8,99	11	12,09	A/A	52	57,14
Total	89	100	91	100	Total	91	100
fT	0,7	fc	0,68		fG	0,24	fT
fG	0,3	fT	0,32		fA	0,76	fC
<b>rs11479</b>		<b>rs4678145</b>		<b>rs3918290</b>		<b>%</b>	
<b>n</b>	<b>%</b>	<b>G/G</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>%</b>
G/G	66	72,53	75	82,42	T/T	0	0
A/G	23	25,27	14	15,38	C/T	0	0
A/A	2	2,2	2	2,2	C/C	91	100
Total	91	100	91	100	Total	91	100
fG	0,85	fG	0,9		fT	0	
fA	0,15	fC	0,1		fC	1	

*n*: número de muestras, %: porcentaje, *f*: frecuencia alélica

**TABLA 13. Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs2244613, rs7187684, rs10916825, rs532545, rs11479, rs4678145 y rs3918290 en una muestra de población mapuche.**

<b>rs2244613</b>		<b>rs7187684</b>		<b>rs10916825</b>		<b>rs532545</b>					
<b>N</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>				
T/T	23	46,94	C/C	28	54,9	G/G	0	0	T/T	13	25,49
G/T	23	46,94	T/C	17	33,34	A/G	11	21,57	C/T	22	43,14
G/G	3	6,12	T/T	6	11,76	A/A	40	78,43	C/C	16	31,37
Total	49	100	Total	51	100	Total	51	100	Total	51	100
fT	0,7		fC	0,72		fG	0,11		fT	0,47	
fG	0,3		fT	0,28		fA	0,89		fC	0,53	
<b>rs11479</b>		<b>rs4678145</b>		<b>rs3918290</b>		<b>%</b>					
<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>				
G/G	36	70,59	G/G	37	72,55	T/T	0	0			
A/G	12	23,53	C/G	14	27,45	C/T	0	0			
A/A	3	5,88	C/C	0	0	C/C	51	100			
Total	51	100	Total	51	100	Total	51	100			
fG	0,82		fG	0,86		fT	0				
fA	0,18		fC	0,14		fC	1				

n: número de muestras, %: porcentaje, f: frecuencia alélica

**TABLA 14. Frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs2244613, rs7187684, rs10916825, rs11479, rs4678145 y rs3918290 en una muestra de población total chilena (población general chilena más población mapuche).**

<b>rs2244613</b>		<b>rs7187684</b>		<b>rs10916825</b>		<b>rs11479</b>		<b>rs4678145</b>		<b>rs3918290</b>		<b>rs532545</b>		
<i>N</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
T/T	67	48,55	C/C	72	50,70	G/G	4	2,82	T/T	29	20,57	T/T	29	20,57
G/T	60	43,48	T/C	53	37,33	A/G	46	32,39	C/T	65	46,10	C/T	65	46,10
G/G	11	7,97	T/T	17	11,97	A/A	92	64,79	C/C	47	33,33	C/C	47	33,33
Total	138	100	Total	142	100	Total	142	100	Total	141	100	Total	141	100
<i>fT</i>	0,7		<i>fC</i>	0,69		<i>fG</i>	0,19		<i>fT</i>	0,44		<i>fT</i>	0,44	
<i>fG</i>	0,3		<i>fT</i>	0,31		<i>fA</i>	0,81		<i>fC</i>	0,56		<i>fC</i>	0,56	
<b>rs11479</b>		<b>rs4678145</b>		<b>rs3918290</b>		<b>rs3918290</b>		<b>rs3918290</b>		<b>rs3918290</b>		<b>rs3918290</b>		
<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
G/G	102	71,83	G/G	112	78,87	T/T	0	0	T/T	0	0	T/T	0	0
A/G	35	24,25	C/G	28	19,72	C/T	0	0	C/T	0	0	C/T	0	0
A/A	5	3,52	C/C	2	1,41	C/C	142	100	C/C	142	100	C/C	142	100
Total	142	100	Total	142	100	Total	142	100	Total	142	100	Total	142	100
<i>fG</i>	0,84		<i>fG</i>	0,89		<i>fT</i>	0		<i>fT</i>	0		<i>fT</i>	0	
<i>fA</i>	0,16		<i>fC</i>	0,11		<i>fC</i>	1		<i>fC</i>	1		<i>fC</i>	1	

*n*: número de muestras, %: porcentaje, *f*: frecuencia alélica

**Tabla 15.** Frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados.

SNP	Gen	Alelos	MAF* p. europea	MAF* p. africana	MAF* p. asiática	MAF* p. mestiza americana	MAF** p. general chilena	MAF** p. mapuche	MAF** p. total chilena
rs2244613	CES1	G > T	0,16 (G)	0,25 (G)	0,40 (T)	0,27 (G)	0,30 (G)	0,30 (G)	0,30 (G)
rs7187684	CES1	T > C	0,16 (T)	0,46 (T)	0,46 (T)	0,29 (T)	0,32 (T)	0,28 (T)	0,31 (T)
rs10916825	CDA	A > G	0,39 (G)	0,23 (G)	0,36 (G)	0,30 (G)	0,24 (G)	0,11 (G)	0,19 (G)
rs532545	CDA	C > T	0,30 (T)	0,06 (T)	0,12 (T)	0,31 (T)	0,42 (T)	0,47 (T)	0,44 (T)
rs3918290	DPYD	C > T	0,00 (T)	0,00 (T)	0,00 (T)	0,00 (T)	0,00 (T)	0,00 (T)	0,00 (T)
rs11479	TYMP	G > A	0,07 (A)	0,03 (A)	0,29 (A)	0,17 (A)	0,15 (A)	0,18 (A)	0,16 (A)
rs4678145	UMPS	G > C	0,13 (C)	0,05 (C)	0,05 (C)	0,10 (C)	0,10 (C)	0,14 (C)	0,11 (C)

\*MAF: frecuencia del alelo menos común, según datos obtenidos desde 1000 Genomes.

\*\* MAF: frecuencia del alelo menos común, según datos obtenidos en el presente estudio.

## 6. Discusión

En el presente estudio, se estudiaron las frecuencias alélicas de los polimorfismos rs2244613, rs7187684, rs10916825, rs532545, rs3918290, rs11479 y rs4678145 en una muestra de 91 individuos de población general chilena y 51 individuos de población mapuche. El equilibrio de Hardy-Weinberg se cumplió en el análisis de todos los polimorfismos estudiados, esto implica que la población de estudio no está sometida a factores que pudiesen afectar las frecuencias alélicas presentadas anteriormente, tales como el no cumplimiento de panmixia, migraciones o mutaciones (Berrios, 2014).

Las frecuencias del alelo G del gen CES1 en el polimorfismo rs2244613 para población general chilena (0,3) son similares a las observadas en población mestiza americana (0,27), de acuerdo con el proyecto *1000 Genomes*, la cual está compuesta por individuos peruanos, puertorriqueños, colombianos y de ancestría mexicana; en cambio, la prevalencia del alelo G es mayor en población mapuche (0,3) en comparación con las demás poblaciones incluidas en el proyecto *1000 Genomes*, lo cual podría explicarse por un alto porcentaje de mezcla aborigen caucásico de la muestra de población mapuche (73,8%) en comparación con la muestra de población general chilena (31%). A partir de los datos mencionados con anterioridad, es posible apreciar que la prevalencia del alelo G es altamente heterogénea en las poblaciones observadas en *1000 Genomes*, ya que, en población europea corresponde a 0,16, mientras que en población asiática, 0,6, por ejemplo. En comparación con población total chilena, el alelo G se encuentra en una frecuencia de 0,3, lo cual corresponde a casi el doble de lo observado en población europea. Lo anterior es de gran importancia dado que el alelo G se encuentra asociado a mayor riesgo de toxicidad, en comparación con el alelo T, en pacientes bajo tratamiento con capecitabina (Hamzic y cols, 2017).

Respecto al polimorfismo rs7187684, la frecuencia del alelo T varía en gran medida en poblaciones analizadas en *1000 Genomes*. Las frecuencias de este alelo en las muestras analizadas de población

general chilena (0,32) y población mapuche (0,28) son similares a las observadas en población mestiza americana (0,29); sin embargo, difieren en gran medida a las de población europea (0,16) y a las de población asiática y africana (0,46). Pese a que el porcentaje de mezcla aborigen caucásica es menor en población general chilena que en población mapuche, la primera difiere aún más que la segunda respecto a la frecuencia del alelo T en población europea, lo cual es relevante al notar que el alelo T está relacionado a mayor toxicidad en pacientes bajo tratamiento con capecitabina en comparación con el alelo C.

El alelo G del gen *CDA* en el polimorfismo rs10916825 se observa en frecuencia similar en población europea, 0,39, y asiática, 0,36, y difieren en gran medida de la observada en población africana, 0,23 (*1000 Genomes*); sin embargo, a su vez esta última es altamente semejante a la obtenida en población general chilena en este estudio (0,24). La frecuencia del alelo G obtenida en población mapuche correspondió a 0,11, muy por debajo de las frecuencias mencionadas anteriormente, lo cual podría explicarse debido al alto porcentaje de mezcla aborigen caucásica de este grupo. Lo anterior podría indicar algún grado de susceptibilidad frente a efectos adversos como la diarrea en tratamiento con capecitabina, ya que se ha descrito un mayor riesgo de exhibir dicho cuadro en individuos que presenten el alelo A en comparación al alelo G (Hamzic y cols, 2017).

En el SNP rs532545, el alelo T se encuentra asociado a un mayor riesgo de presentar eritrodisestesia palmoplantar, en comparación con el alelo C, en pacientes bajo tratamiento con capecitabina, según describe Caronia y cols (2011). Por lo cual es importante destacar que las frecuencias obtenidas para el alelo T, tanto en población general chilena (0,42) como en población mapuche (0,47), son altamente superiores a las observadas en población europea (0,3), población asiática (0,12), población africana (0,06) y población mestiza americana (0,31), según datos extraídos desde *1000 Genomes*. Dado lo anterior, se podría proponer que es más probable que individuos que pertenecen a población chilena, y en particular a la etnia mapuche, presenten mayor riesgo de

presentar eritrodisestesia palmoplantar en su tratamiento con capecitabina, en comparación con individuos pertenecientes a otras poblaciones.

El SNP rs11479 da cuenta de la sustitución G > A en el exón 10, lo que provoca un cambio de serina por leucina en la posición 471, dando como resultado una mutación *missense* que conduce a la expresión de una enzima TYMP sin actividad (Meulendijks y cols, 2016). De acuerdo a los datos observados en *1000 Genomes* y a las frecuencias obtenidas en el presente estudio, es posible notar que la prevalencia del alelo A es altamente heterogénea entre poblaciones, ya que poblaciones como la europea (0,07) y la africana (0,03) presentan frecuencias bastante disminuidas en comparación a la obtenida en población asiática (0,29). Respecto a población general chilena (0,15) y población mapuche (0,18), la frecuencia del alelo A es similar a la observada en población mestiza americana (0,17), lo cual es de gran importancia al notar que el alelo A se encuentra asociado a mayor riesgo de toxicidad frente a capecitabina en comparación con el alelo G.

En relación al SNP rs4678145, el alelo C se encuentra en proporción similar en población europea (0,13) y población mapuche (0,14). La frecuencia de este alelo en población general chilena y población mestiza americana fue equivalente (0,1), al igual que entre la población asiática y africana (0,05). Si bien se hubiese esperado que la frecuencia del alelo C en población europea presentase valores más cercanos a la de población general chilena que a la población mapuche, puede ser indicio de una limitante de este estudio al contar con un tamaño de muestra demasiado acotado para población general chilena. Pellicer y cols (2017) indican que, en comparación al alelo G, el alelo C está asociado a una mayor probabilidad de presentar astenia en pacientes bajo tratamiento con capecitabina, lo cual podría sugerir que, pertenecer tanto a población europea como mapuche, es un factor predisponente a este efecto adverso.

El SNP rs3918290 analizado en el presente estudio, da cuenta del cambio C > T en el intrón 14 provocando la omisión del exón 14, cuya consecuencia funcional es una enzima DYPD con actividad

reducida (Lam y cols, 2016). Debido a que dicha enzima es la principal responsable de la vía catalítica de la capecitabina, el SNP estudiado está asociado a mayor riesgo de toxicidad, en particular el alelo T. Pese a que el proyecto *1000 Genomes* indica que la frecuencia alélica del alelo T es muy baja, se incorporó al estudio debido a su gran relevancia clínica y a la vasta literatura existente al respecto. En el presente estudio no se detectó el alelo T en muestras de población general chilena ni en población general mapuche, lo cual se encuentra dentro de lo esperado dados los datos de la población europea, asiática, mestiza americana y africana (*1000 Genomes*). Si bien el alelo T es escasamente detectado en otras poblaciones (0,5% en población europea y 0,82% en población asiática, de acuerdo a *1000 Genomes*), para determinar la frecuencia con mayor representación de la población chilena es necesario ampliar el tamaño de la muestra que se analizó en este estudio.

La divergencia entre algunos datos obtenidos de frecuencia alélica entre población europea, asiática, africana, y población chilena, pueden ser explicados dado que esta última cuenta con una gran riqueza étnica y racial debido a su vasta historia de colonización e inmigración. El proceso de mestizaje en Chile se produjo desde la llegada de Diego de Almagro en el año 1536 durante la conquista, este proceso fue llevado a cabo principalmente entre hombres españoles y mujeres indias, debido a que la mujer española llegó al territorio más tardíamente y en escasa cantidad. A inicios del siglo XVII se llevó a cabo la introducción de esclavos africanos en Chile, los cuales se integraron en la participación del mestizaje. Por lo cual, se conformaron generaciones mezcladas entre españoles, africanos e indígenas con mulatos, zambos y mestizos (Montecino, 1993). Por otra parte, de acuerdo a datos obtenidos del Censo realizado en Chile el año 2012, el 10,3% de la población censada (1.842.607) se declaró perteneciente a algún pueblo originario de Chile, y de éstos, un 88% se declaró mapuche (1.508.722). Sin embargo, se debe destacar que pueblos

originarios como los Aymara y Diaguita se encuentran representados también en una proporción considerable, 6,7% y 2,6%, respectivamente.

Una de las limitantes de este estudio corresponde al tamaño de la muestra, tanto para población general chilena (n = 91) como para población mapuche (n = 51), que en estudios posteriores será necesario aumentar con el fin de otorgar más robustez estadística y corroborar los resultados expuestos en el presente estudio. Por otra parte, de acuerdo a la base de datos de SNP de *National Center of Biotechnology Information* (NCBI), algunos de los polimorfismos incluidos en este estudio presentan características trialélicas (rs2244613, rs11479 y rs3918290) y dialélicas (rs532545, rs10916825 y rs4678145), por lo que la detección del cambio nucleotídico correspondió al señalado por el proveedor en el catálogo de cada sonda, tal como se puede apreciar en la sección de Materiales y Métodos. Debido a lo anterior, no es posible precisar con seguridad la presencia de los alelos para los cuales la sonda de la reacción de PCR no discriminaba. No obstante, se consideran los resultados obtenidos y presentados en este estudio como relevantes, y como primera instancia de investigación hacia el estudio de prevalencia de los polimorfismos de importancia clínica para el tratamiento personalizado con capecitabina frente al cáncer colorrectal, el cual ocupa el segundo lugar entre los cánceres con mayor incidencia en Chile (GLOBOCAN, 2020).

## 7. Conclusiones

La frecuencia del alelo G en el polimorfismo rs2244613, tanto para la muestra de población general chilena como para la muestra de población mapuche, es mayor a la observada en población caucásica y en población asiática. En cambio, es similar a la frecuencia encontrada en población africana y en población mestiza americana.

En relación al polimorfismo rs7187684, el alelo T se encuentra con mayor frecuencia en población general chilena y población general mapuche, respecto a la observada en población caucásica; sin embargo, el alelo T en población total chilena se encuentra en frecuencia menor en comparación a población africana y población asiática.

La frecuencia del alelo G del rs10916825 se encuentra en población general chilena en menor proporción a la observada tanto en población caucásica como en población asiática, y en proporción similar a la correspondiente en población africana. Por otro lado, la frecuencia alélica encontrada en población mapuche es considerablemente menor que las observadas en todas las poblaciones del estudio. Esto podría explicar la baja frecuencia de este SNP en población general chilena.

Referente al polimorfismo rs532545, tanto en población general chilena como en población mapuche el alelo T se encuentra en frecuencias mayores respecto a lo observado en población caucásica, población africana, población asiática y población mestiza americana.

La frecuencia del alelo T en el polimorfismo rs3918290 encontrada en población general chilena y en población mapuche, es idéntica a las observadas en población caucásica, africana, asiática y mestiza americana, ya que para todas las anteriores la frecuencia correspondió a cero.

Respecto al polimorfismo rs11479, en población general chilena y en población mapuche el alelo A se encontró en frecuencia mayor a la observada en población caucásica y población africana. En

cambio, la frecuencia es similar a la observada en población mestiza americana y notablemente menor a la frecuencia alélica en población asiática.

En relación al polimorfismo rs4678145, el alelo C se encontró en frecuencia similar en población general chilena, población mapuche, población caucásica y población mestiza americana. En contraste, la frecuencia alélica observada, tanto en población africana como en población asiática, es menor que en las poblaciones mencionadas anteriormente.

## 8. Referencias bibliográficas

- (1) Acuña, M., Llop, E., Rothhammer, F. 2000. Genetic Composition of rural Chilean communities inhabiting Elqui, Limari and Choapa valleys. *Revista Médica de Chile*, vol. 128, n°6.
- (2) Amstutz, U., Henriks, L., Offer, S., Barbarino, J., Schellens, J., Swen, J., Klein, T., McLeod, H., Claudle, K., Dibasio, R., Schwab, M. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Dihydropyrimidine Dehydrogenase Genotype and Fluoropyrimidine Dosing: 2017 Update. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, vol. 0.
- (3) André, T., de Gramont, A., Vernerey, D., Chibaudel, B., Bonnetain, F., Tijeras-Raballand, A., Scriver, A. 2015. Adjuvant Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin in Stage II to III Colon Cancer: Updated 10-Year Survival and Outcomes According to BRAF Mutation and Mismatch Repair Status of the MOSAIC Study. *Journal of Clinical Oncology*, vol. 33(35), 4176-4187.
- (4) Berríos, S. 2014. Los Genes en las Poblaciones. *Genética Humana*, 1° ed., pp. 195 – 208. Editorial Mediterráneo.
- (5) Bertholee, D., Maring, J., van Kuilenburg, A. 2017. Genotypes Affecting the Pharmacokinetics of Anticancer Drugs. *Clinical Pharmacokinetics*, vol. 56(4), 317–337.
- (6) Binefa, G., Rodríguez-Moranta, F., Teule, Á., Medina-Hayasa, M. 2014. Colorectal cancer: From prevention to personalized medicine. *World Journal of Gastroenterology*, vol. 20(22), 6786–6808.
- (7) Braun, C., Anderson, C. Proliferación y diferenciación celulares alteradas. En Braun, C., Anderson, C. *Fisiopatología: Un enfoque clínico*. 2da edición. España: Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 159-186.
- (8) Casciato, D. *Manual de Oncología Clínica*. 7ma edición. España: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

- (9) Caronia, D., Martin, M., Sastre, J., de la Torre, J., García-Sáenz, J., Alonso, M., Moreno, L., Pita, G., Díaz-Rubio, E., Benítez, J., González-Neira, A. 2011. A polymorphism in the cytidine deaminase promoter predicts severe capecitabine-induced hand-foot syndrome. *Clinical Cancer Research*, vol. 17(7), 2006-2013.
- (10) Cerda, J., Villarroel, L. 2007. Interpretación del test de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) en investigación pediátrica. *Revista Chilena de Pediatría*, vol. 78 (4), 414 – 417.
- (11) Ciliberto, D., Prati, U., Roveda, L., Barbieri, V., Staropoli, N., Abbruzzese, A., Caraglia, M., Di Maio, M., Flotta, D., Tassone, P., Tagliaferri, P. 2012. Role of systemic chemotherapy in the management of resected or resectable colorectal liver metastases: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Oncology reports*, vol. 27, 1849-1856.
- (12) Clark, M., Smith, R. 2014. Liver-directed therapies in metastatic colorectal cancer. *Journal of Gastrointestinal Oncology*, vol. 5, 374–387.
- (13) Desmoulin, F., Gilard, V., Malet-Martino, M., Martino, R. 2002. Metabolism of capecitabine, an oral fluorouracil prodrug: ( $^{19}$ F) NMR studies in animal models and human urine. *Drug Metabolism and Disposition*, vol. 30(11), 1221-1229.
- (14) Falvella, F., Caporale, M., Cheli, S., Martinetti, A., Berenato, R., Maggi, C., Niger, M., Ricchini, F., Bossi, I., Di Bartolomeo, M., Sottonetti, E., Bernardi, F., de Braud, F., Clementi, E., Pietrantonio, F. 2015. Undetected Toxicity Risk in Pharmacogenetic Testing for Dihydropyrimidine Dehydrogenase. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 16(4), 8884–8895.
- (15) Fuchs, C., Giovannucci, E., Colditz, G., Hunter, D., Speizer, F., Willett, W. 1994. A Prospective Study of Family History and the Risk of Colorectal Cancer. *The New England Journal of Medicine*, vol. 331, 1669-1674.

- (16) Gersch, C., Heimgartner, N., Rebar, C., Willis, L. Colección Lippincott Enfermería, un enfoque práctico y conciso: Farmacología. 4ta edición. España: Lippincott Williams & Wilkins; 2017.
- (17) Global Cancer Observatory [Internet]. Francia, 2020 [consultado 20 Oct 2021]. Disponible en: <https://gco.iarc.fr/>
- (18) Golan, D. Principios de Farmacología: Bases Fisiopatológicas del Tratamiento Farmacológico. 3era edición. España: Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
- (19) Govindan, R., Morgensztern, D. Manual Washington® de Oncología. 3era edición. España: Lippincott Williams & Wilkins; 2016.
- (20) Haller, D., Taberero, J., Maroun, J., de Braud, F., Price, T. 2011. Capecitabine Plus Oxaliplatin Compared With Fluorouracil and Folinic Acid As Adjuvant Therapy for Stage III Colon Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 29, vol 11, 1465-1471.
- (21) Hamzic, S., Kummer, D., Milesi, S., Mueller, D., Joerger, M., Aebi, S., Amstutz, U., Largiadere, CR. 2017. Novel Genetic Variants in Carboxylesterase 1 Predict Severe Early-Onset Capecitabine-Related Toxicity. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, vol. 102, 796-804.
- (22) Jennings, B., Loke, Y., Skinner, J., Keane, M., Chu, G., Turner, R., Epurescu, D., Barrett, A., Willis, G. 2013. Evaluating predictive pharmacogenetic signatures of adverse events in colorectal cancer patients treated with fluoropyrimidines. *Plos One*, vol. 8(10), e78053.
- (23) Johnson, C., Wei, C., Ensor, J., Smolenski, D., Amos, C., Levin, B., Berry, D. 2013. Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control*, vol. 6, 1207-1222.
- (24) Lam, S., W., van der Noort, V., van der Straaten, T., Honkoop, A., H., Peters, G., J., Guchelaar, H., J., Boven, E. 2018. Single-nucleotide polymorphisms in the genes of *CES2*, *CDA* and enzymatic activity of CDA for prediction of the efficacy of capecitabine-containing chemotherapy in patients with metastatic breast cancer. *Pharmacological Research*, vol. 128, 122-129.

- (25) Lam, S., Guchelaar, H., Boven, E. 2016. The role of pharmacogenetics in capecitabine efficacy and toxicity. *Cancer Treatment Reviews*, vol. 50, 9-22.
- (26) Madi, A., Fisher, D., Maughan, T., Harris, R., Kaplan, R. 2018. Pharmacogenetic analyses of 2183 patients with advanced colorectal cancer; potential role for common dihydropyrimidine dehydrogenase variants in toxicity to chemotherapy. *European Journal of Cancer*, vol. 102, 31-39.
- (27) Matsumoto, N., Kubota, Y., Ishida, H., Sekido, M., Ohkuma, R., Ishiguro, T., Hirasawa, Y., Ariizumi, H., Tsunoda, T., Ikusue, T., Kobayashi, K., Hisamatsu, A., Toshima, H., Shimada, K., Fujita, K. 2020. Variants of *carboxylesterase 1* have no impact on capecitabine pharmacokinetics and toxicity in capecitabine plus oxaliplatin treated-colorectal cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol*, vol 85, 1119 – 1128.
- (28) Matus-Santos, J., Aguilar-Ponce, J., Lara-Medina, F., Herrera-Gómez, Á., Meneces-García, A., López-Gamboa, M. 2016. Revisión del monitoreo farmacogenético del 5-fluorouracilo como herramienta para incrementar eficacia y seguridad. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, vol. 54(3), 354-362.
- (29) Meulendijks, D., Rozeman, E., Cats, A., Sikorska, K., Joerger, M., Deenen, M., Beijnen, J., Schellens, J. 2016. Pharmacogenetic variants associated with outcome in patients with advanced gastric cancer treated with fluoropyrimidine and platinum-based triplet combinations: a pooled analysis of three prospective studies. *The Pharmacogenomics Journal*, 00, 1 – 11.
- (30) Moertel, C., Fleming, T., McDonald, J., Haller, D., Laurie, J., Goodman, P., Ungerleider, J., Emerson, W., Tormey, D., Glick, J., Veeder, M., Mailliard, J. 1990. Levamisole and Fluorouracil for Adjuvant Therapy of Resected Colon Carcinoma. *The New England Journal of Medicine*, vol. 322, 352-358.
- (31) Montecino, S. 1993. *Sangres Cruzadas: Mujeres Chilenas y Mestizaje*. SERNAM.

- (32) Pasetto, L., Monfardini, S. 2006. The role of capecitabine in the treatment of colorectal cancer in the elderly. *Anticancer Research*, vol. 26(3B), 2381-2386.
- (33) Pellicer, M., García-González, X., García, M., Robles, L., Grávalos, C., García-Alfonso, P., Pachón, V., Longo, F., Martínez, V., Blanco, C., Iglesias, I., Sanjurjo, M., López-Fernández, L. 2017. Identification of new SNPs associated with severe toxicity to capecitabine. *Pharmacological Research*, vol. 120, 133-137.
- (34) Quintero, E., Carrillo, M., Leoz, M., Cubiella, J., Gargallo, C., Lanás, A., Bujanda, L., Gimeno-García, A., Hernández-Guerra, M., Nicolás-Pérez, D., Alonso-Abreu, I., Morillas, J., Balaguer, F., Muriel, A. 2016. Risk of Advanced Neoplasia in First-Degree Relatives with Colorectal Cancer: A Pellicer Large Multicenter Cross-Sectional Study. *Plos Medicine*, vol. 5, e1002008.
- (35) Rang, H.P. Fármacos utilizados en el tratamiento de las infecciones, el cáncer, y los trastornos inmunológicos: Antineoplásicos. En: Rang, H.P., Dale, M., Ritter, J.M., Flower, J. *Farmacología*. 7ma edición. España: Elsevier; 2012. p. 673 – 688.
- (36) Ríos, J., Barake, M.F., Arce, M.J., López-Köstner, F., Labbe, T., Villena, J., Becerra, S. 2020. Situación actual del cáncer de colon en Chile: una mirada traslacional. *Rev. Méd. Chile*, vol. 148, n° 6.
- (37) Rocco, P., Morales, C., Moraga, M., Miquel, J., Nervi, F., Llop, E., Carvallo, P., Rothhammer, F. 2002. Composición Genética de la Población Chilena. Distribución de polimorfismos de DNA mitocondrial en grupos originarios y en la población mixta de Santiago. *Revista Médica de Chile*, v130, n2.
- (38) Saif, M., Choma, A., Salamone, S., Chu, E. 2009. Pharmacokinetically guided dose adjustment of 5-fluorouracil: a rational approach to improving therapeutic outcomes. *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 101(22), 1543-1552.

- (39) Sim, N., Kumar, P., Hu, J., Henikoff, S., Schneider, G. 2012. SIFT web server: predicting effects of amino acid substitutions on proteins. *Nucleic Acid Res*, 40, W452 – W457.
- (40) Thorn, C., Marsh, S., Carrillo, M., McLeod, H., Klein, T., Altman, R. 2011. PharmGKB summary: fluoropyrimidine pathways. *Pharmacogenetics and Genomics*, vol. 21(4), 237-242.
- (41) Twelves, C., Wong, A., Nowacki, M., Abt, M., Burris, H., Carrato, A., Cassidy, J., Cervantes, A. 2005. Capecitabine as Adjuvant Treatment for Stage III Colon Cancer. *The New England Journal of Medicine*, vol. 352, 2696-2704.
- (42) Valenzuela, C. 2011. Human Sociogenetics. *Biol. Res.*, 44, 393 – 404.
- (43) Van Kuilenburg, A. 2004. Dihydropyrimidine dehydrogenase and the efficacy and toxicity of 5-fluorouracil. *European Journal of Cancer*, vol. 40(7), 939-50.
- (44) Vasan, N., Carlo, M. *Oncología de bolsillo*. 2da edición. España: Wolters Kluwer; 2019.
- (45) Vidal Group. *Vademécum Guía Farmacológica*. Edición 2021: Chile; 2021.
- (46) Wolmark, N., Rockette, H., Fisher, B., Wickerman, D., Redmond, C., Fisher, E., Jones, J., Mamounas, E., Ore, L., Petrelli, N. 2016. The benefit of leucovorin-modulated fluorouracil as postoperative adjuvant therapy for primary colon cancer: results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project protocol C-03. *Journal of Clinical Oncology*, vol. 11(10), 1879-1887.
- (47) Wright, S. 1980. Genic and Organismic Selection. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 35(5), 825 – 843.
- (48) Zhang, X., Diasio, R. 2007. Regulation of human dihydropyrimidine dehydrogenase: implications in the pharmacogenetics of 5-FU-based chemotherapy. *Pharmacogenomics*, vol. 8(3), 257-265.

## 9. Anexos

### 9.1. Tabla 1

**Tabla 1.** Sistema de estadificación TNM para cáncer colorrectal (AJCC, 2006; Machado y cols, 2011)

<b>Categoría T: tumor primario</b>	
<b>T0</b>	No hay evidencia de tumor primario
<b>Tis</b>	Carcinoma <i>in situ</i>
<b>T1</b>	Ocupa la submucosa
<b>T2</b>	Ocupa la muscular propia
<b>T3</b>	Ocupa la subserosa o el tejido perirrectal o pericólico no peritonizado.
<b>T4</b>	Ocupa los órganos, las estructuras vecinas o ha perforado el peritoneo visceral.
<b>Categoría N: describe si el cáncer ha llegado o no a los ganglios linfáticos regionales</b>	
<b>N0</b>	No hay presencia de metástasis en ganglios linfáticos.
<b>N1</b>	Presencia de metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos regionales.
<b>N2</b>	Presencia de metástasis en 4 o más ganglios linfáticos regionales.
<b>Categoría M: indica si hay metástasis a distancia</b>	
<b>M0</b>	No existe metástasis a distancia.
<b>M1</b>	Existe metástasis a distancia

9.2. **Tabla 3**

**Tabla 3.** Cálculo de dosis estándar y reducida según la superficie corporal para una dosis inicial de capecitabina de 1250 mg/m<sup>2</sup> (modificado de Vidal Vademécum Chile, 2021).

Nivel de dosis de 1250 mg/m <sup>2</sup> (dos veces al día)						
	Dosis completa 1250 mg/m <sup>2</sup>	Número de comprimidos de 150 mg, comprimidos de 300 mg y/o comprimidos de 500 mg por administración (cada toma ha de ser administrada por la mañana y por la noche)			Dosis reducida (75%) 950 mg/m <sup>2</sup>	Dosis reducida (50%) 625 mg/m <sup>2</sup>
<b>Superficie corporal (m<sup>2</sup>)</b>	Dosis por administración (mg)	150 mg	300 mg	500 mg	Dosis por administración (mg)	Dosis por administración (mg)
<b>≤ 1,26</b>	1500	-	-	3	1150	800
<b>1,27 – 1,38</b>	1650	1	-	3	1300	800
<b>1,39 – 1,52</b>	1800	-	1	3	1450	950
<b>1,53 – 1,66</b>	2000	-	-	4	1500	1000
<b>1,67 – 1,78</b>	2150	1	-	4	1650	1000
<b>1,79 – 1,92</b>	2300	-	1	4	1800	1150
<b>1,93 – 2,06</b>	2500	-	-	5	1950	1300
<b>2,07 – 2,18</b>	2650	1	-	5	2000	1300
<b>≥ 2,19</b>	2800	-	1	5	2150	1450

### 9.3 Consentimiento informado

#### CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### PROYECTO: CONFIGURACIÓN DE UN BANCO DE COLECCIÓN DE ADN PARA ESTUDIOS FARMACOGENÓMICOS EN POBLACIÓN GENERAL CHILENA

PATROCINANTE: Laboratorio de Carcinogénesis Química y Farmacogenética  
Nombre del Investigador principal: Luis Quiñones S. / Matías Martínez O.  
Institución: Facultad de medicina, Universidad de Chile  
Teléfonos: 29770741-29770744.

**Invitación a participar:** Le estamos invitando a participar en el proyecto de investigación "Configuración de un banco de colección de ADN para estudios farmacogenómicos en población general chilena", debido a la alta tasa de variabilidad de respuesta a los tratamientos farmacológico y la falta de conocimiento de los factores de relevancia clínica involucrados en esta respuesta.

**Objetivos:** Este proyecto tiene por objetivo generar una colección física de material genético, anónima para el análisis de variantes genéticas (polimorfismos) y no genéticas de factores asociados a la respuesta a medicamentos, en la población general chilena. Con ello se podrá contar con una base de datos y un sistema informático para estudios farmacológicos en Chile, lo que será relevante para mejorar la terapia en numerosas enfermedades.

**Procedimientos:** Si Ud. acepta participar será sometido, solamente una vez a:

- Extracción de una muestra de sangre de 10 mL aproximadamente, la cual será realizada con un sistema estéril y por personal calificado, de tal manera de evitar cualquier riesgo. Si usted presenta problemas con la extracción de sangre, podemos brindarle la posibilidad de que su donación sea a través de un sistema de extracción de mucosa oral.
- Llenado de una ficha clínica que incluye datos de identificación personal e historia médica. Tanto la información de la ficha, como los resultados obtenidos en este estudio son absolutamente confidenciales y pueden ser dados a conocer solamente a usted, una vez se encuentren disponibles.
- La muestra obtenida y toda documentación asociada a ella tendrá un plazo máximo de almacenamiento de 15 años, luego de lo cual será eliminado del biobanco, a menos que en dicha fecha usted vuelva a consentir su uso y/o la extracción de una nueva muestra.

**Riesgos:** La única molestia eventual que se prevé derivado de su participación la constituye la eventual aparición de hematoma en la zona de toma de muestra. El equipo de investigación tomará las medidas necesarias para minimizar la aparición de cualquier problema.

CEI-SSM.NORTE  
Organismo Asesor de la Dirección  
Servicio de Salud  
Metropolitano Norte

  
20 MAY 2016

Página 1 de 3 versión 3.0

Cualquier otro efecto que Ud. considera que puede derivarse de la toma de la muestra deberá comunicarlo a Dr. Luis A. Quiñones en el teléfono 29770741 o 90158341.

**Costos:** El procedimiento se realizará sin costo alguno para Ud. durante el desarrollo de este proyecto. El proyecto no contempla la toma de exámenes para alguna patología en particular.

**Beneficios:** Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento y el mejor tratamiento de futuros pacientes, su participación en este estudio no contempla otros beneficios directos que el de aumentar la información con respecto a su posible respuesta a ciertos tratamientos con medicamentos.

**Compensación:** Ud. no recibirá ninguna compensación económica por su participación en el estudio.

**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. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima. Las muestras serán analizadas utilizando solo un código y el listado que relaciona nombres con códigos se mantendrá guardada con acceso solo al investigador principal.

**Usos potenciales de los resultados de la investigación:** los resultados de esta investigación podrán ser utilizados para en un futuro modificar las pautas terapéuticas de diversas enfermedades.

**Información adicional:** Ud. o su médico tratante para cualquier tratamiento farmacológico que a futuro pudiese tener, podrán ser informados si lo requieren, con objeto de disponer de nuevos conocimientos o cautelar potenciales complicaciones que puedan afectar sus tratamientos con medicamentos.

**Voluntariedad:** Se reitera que su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y puede solicitar de manera escrita que se retire su muestra y datos personales de la base de datos generada. Ello no significará ningún perjuicio a su persona.

**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 puede comunicarse con:

Investigador: Luis Quiñones S. Teléfono: 29770741 o 90158341, mail: [lquinone@med.uchile.cl](mailto:lquinone@med.uchile.cl)

**CEI-SSM.NORTE**  
Organismo Asesor de la Dirección  
Servicio de Salud  
Metropolitano Norte



Página 2 de 3 versión 3.0

20 MAY 2016

**Otros Derechos del participante**

En caso de duda sobre sus derechos debe comunicarse con el Comité de Ética del Servicio Metropolitano de Salud Norte al Teléfono: 25758506, Email: [lorena.carrasco@redsalud.gov.cl](mailto:lorena.carrasco@redsalud.gov.cl), cuya oficina se encuentra ubicada al interior del Hospital San José, Comuna de Independencia.

**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 **"Configuración de un banco de colección de ADN para estudios farmacogenómicos en población general chilena"**.

Nombre del participante: \_\_\_\_\_

RUT \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Nombre del Investigador designado \_\_\_\_\_

RUT \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Nombre del Delegado del Director o Ministro de Fe \_\_\_\_\_

RUT \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_



20 MAY 2016

## 9.4 Aprobación Comité de Ética de la Investigación (CEI)



Dirección  
Comité de Ética de la Investigación  
Carta N° 027/2016  
Dr. CNC/lcc

Santiago, mayo 20 de 2016

De: CEI SSMN

A: Prof. Dr. Luis Quiñones  
Investigador Principal  
Facultad de Medicina  
Universidad de Chile

Ref.: Protocolo: "Configuración de un Banco de colección de ADN para estudios Farmacogenómicos en población general Chilena".

---

Estimado Dr. Quiñones:

Acuso recibo de su carta de fecha 06 de mayo de 2016 por la cual comunica la realización de las modificaciones al protocolo indicadas por este Comité.

Habiéndose cumplido con lo indicado se procede a entregar Aprobación al proyecto de la referencia.

Sírvase recibir adjunto documento de Consentimiento Informado timbrado, fechado y firmado por el suscrito.

A continuación se listan los integrantes presentes en sesión de fecha 14 de abril de 2016:

Dr. Carlos Navarro Cox  
Dr. Juan Jorge Silva Solís  
Dr. Carlos Casar Collazo  
Dr. Rafael Céspedes Pino  
Dra. María de los Ángeles Avaria Benaprés  
E.U. Marla Solari Verdugo  
A.S. Luis García Hurtado, Representante de la Comunidad

Lo saluda atentamente,

**CEI-SSM.NORTE**  
Organismo Asesor de la Dirección  
Servicio de Salud  
Metropolitano Norte

  
DR. CARLOS NAVARRO COX  
PRESIDENTE - CEI-SSMN

Calle San José 1053  
Independencia, Santiago, Chile  
Fono (56-2) 2678 8006  
lorrea.carrasco@redsalud.gov.cl  
www.ssmn.cl