

Farmacogenética de la Leucemia Linfoblástica Aguda pediátrica en Uruguay: eventos adversos vinculados a fármacos de la fase de inducción

Lic. Gabriela Burgueño Rodríguez

Tesis de Maestría presentada al programa de posgrado PEDECIBA (Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas), para la obtención del título de Magister en Ciencias Biológicas, subárea Genética.

Orientador: Dr. Julio Abayubá da Luz Pereira

Co-orientadora: Dra. Ana María Soler Cantera

Salto, Uruguay

25 de Noviembre, 2022



*A mamá y papá.
Mi par dispar.
Punto fijo en la costa al navegar*

AGRADECIMIENTOS

A Julio y Ana, que desde el día uno me abrieron la puerta a este hogar al que llamamos laboratorio y oficina. Siempre con una risa, anécdotas, música, un dulcecito o un cigarro para amenizar los ratos de discusión. Gracias por haberme enseñado tanto en estos años sobre ciencia, genética, matemáticas, política, recetas, costumbres y demás.

A PEDECIBA, ANII y CSIC por el apoyo académico y económico que me permitió realizar esta tesis.

A la Fundación Pérez Scremini, sus técnicas, médicas y médicos. Siempre dispuestas a colaborar con la investigación que hacemos, evacuar dudas, conseguir y mandar las muestras. También a los niños y niñas, que junto con sus familias accedieron a participar de esta investigación. Sin su colaboración esto no hubiese sido viable. Por ellos es que la llevamos a cabo.

A mamá y a papá, a quienes dedico esta tesis. Gracias por acompañarme y apoyarme en cada viaje. Confiando en mi navegar, siempre como punto de referencia en la costa.

A Lenis y Bruna. Dos ángeles salteños que me acompañan desde el día uno en esta incursión por Salto.

A la tribu de la regional, pilar fundamental del día a día. A las Anas, las Majos, Mati, Dai, Pablo y Guille.

A Gabi. Por compartir la alegría de un día productivo y escucharme en cada catarsis de resultados negativos. Por acompañarme. Por siempre decirme “Te apoyo en lo que sea”.

A mi familia, la familia de Gabi y mis amigas de siempre. Sus abrazos y los “¿cómo estás?, ¿precisas algo?, ¡Llamame!, Te extraño, ¡Venite!” llenan siempre el alma y dan energía para seguir caminando.

Y por último, pero no menos importante, a Puchito y a Malbec. Coautores de esta tesis. Grandes compañeros de escritorio y reuniones.

ÍNDICE

RESUMEN	1
1 MARCO TEÓRICO	3
1.1 Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA)	3
1.2 Tratamiento de LLA y efectos adversos	5
1.3 Fase de inducción: fármacos, efectos adversos y genes	9
1.3.1 Prednisona (PRED):	11
1.3.1.1 ACP1 (Fosfatasa ácida 1)	14
1.3.1.2 ABCB1 (transportador de membrana dependiente de ATP, subfamilia B, miembro 1)	15
1.3.1.3 ABCG2 (transportador de membrana dependientes de ATP, subfamilia G, miembro 2)	18
1.3.2 Vincristina (VCR):	19
1.3.2.1 CYP3A5 (Citocromo P450, familia 3, subfamilia A, miembro 5)	22
1.3.2.2 CEP72 (Proteína centrosomal 72)	23
1.3.3 L-Asparaginasa (L-ASP):	24
1.3.3.1 ASNS (Asparagina sintetasa)	26
1.3.3.2 GRIA1 (Receptor ionotrópico de glutamato de tipo AMPA, subunidad 1)	27
1.3.4 Daunorrubicina (DNR):	29
1.3.5 Metotrexato (MTX)	29
1.4 Ancestralidad	30
2 RELEVANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	33
3 OBJETIVOS	34
3.1 Objetivo general	34
3.2 Objetivos específicos	34
4 MUESTRAS Y METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	36
4.1 Muestra de pacientes	36
4.2 Muestra control	36
4.3 Consideraciones éticas	37
4.4 Determinación de las variantes génicas	37
4.5 Determinación de la ancestralidad genética	38
4.6 Datos clínicos y paraclínicos	39
4.6.1 Relevamiento de información	39
4.6.2 Clasificación y categorización de efectos adversos	40
4.7 Tratamiento de datos	41
5 RESULTADOS	44
5.1 Frecuencias genotípicas y alélicas	44
5.2 Ancestralidad	48
5.3 Respuesta al tratamiento, variantes genéticas y ancestralidad	50
5.3.1 Respuesta a la Prednisona (PRED)	51

5.4 Toxicidades en la fase de inducción, variantes genéticas y ancestralidad	53
5.4.1 Mucositis	53
5.4.2 Síndrome de Cushing	56
5.4.3 Hiperglicemia	59
5.4.4 Toxicidad gastrointestinal	60
5.4.5 Toxicidad hepática	60
5.5 Toxicidades en el tratamiento, variantes genéticas y ancestralidad	60
5.5.1 Hipersensibilidad a la L-Asparaginasa (L-ASP)	60
5.5.2 Toxicidad osteomuscular	62
5.5.3 Toxicidad neurológica	63
6 DISCUSIÓN:	66
6.1 Frecuencias genotípicas y ancestralidad	66
6.2 Ancestralidad	67
6.3 Respuesta al tratamiento al día +33	68
6.4 Toxicidades en la fase de inducción	70
6.5 Toxicidades en el tratamiento de LLA	73
7 CONCLUSIONES:	79
8 PERSPECTIVAS	81
9 BIBLIOGRAFÍA	82
ANEXO	93

LISTA DE ABREVIACIONES

- 6-MP**- 6-Mercaptopurina
- ABCB1** - Transportador de membrana dependiente de ATP, subfamilia B, miembro 1
- ABCG2**- Transportador de membrana dependiente de ATP, subfamilia G, miembro 2
- ACP1**- Fosfatasa ácida 1
- AIM**- Marcadores informativos de ancestralidad
- ALL IC-BFM** - *Acute Lymphoblastic Leukemia Intercontinental*, Berlin-Frankfurt-Münster
- ANII**- Agencia Nacional de Investigación e Innovación
- Asn**- Asparagina
- ASNasa**- Asparaginasa
- ASNS**- Asparagina sintetasa
- Asp**- Ácido aspártico
- BFM**- Berlin-Frankfurt-Münster
- BT**- Bilirrubina total
- CENUR**- Centro Universitario Regional
- CEP72**- Proteína Centrosomal 72
- CEU**- Residentes de Utha con ancestralidad del norte y oeste europeo (1000 Genomas)
- CHAID**- *Chi-squared Automatic Interaction Detector*
- CHB**- Población Han en Beijín, China (1000 Genomas)
- CHS**- Población Han del sur, China (1000 Genomas)
- CLM**- Población colombiana de Medellín (1000 Genomas)
- COR**- *Receiver Operating Characteristic*
- CSIC**- Comisión Sectorial de Investigación Científica
- CTCAE**- *Common Terminology Criteria for Adverse Events*
- CYP3A**- Citocromo P450, familia 3, subfamilia A
- CYP3A5**- Citocromo P450, familia 3, subfamilia A, miembro 5
- DEXA**- Dexametasona
- DNR**- Daunorrubicina
- DOXO**- Doxorrubicina
- EHW**- Equilibrio de Hardy-Weinberg
- EMR**- Enfermedad mínima residual
- GB**- Glóbulos Blancos
- GC**- Glucocorticoides
- GOT/GPT** - Transaminasa glutámico oxalacética/ pirúvica
- GRIA1**- Receptor ionotrópico de glutamato de tipo AMPA, subunidad 1
- GWAS**- Estudio de asociación del genoma
- IBS**- Población ibérica de España (1000 Genomas)
- KW**- Kruskal Wallis
- L-ASP** – L-Asparaginasa

LGMH- Laboratorio de Genética Molecular Humana

LLA- Leucemia Linfoblástica Aguda

LMW-PTP - Proteína tirosin-fosfatasa citosólica de bajo peso molecular

LWK- Población de Luhya en Webuye, Kenia (1000 Genomas)

MDR1- Proteína de resistencia multidroga 1

MO- Médula ósea

MTX- Metotrexato

MW- Mann-Whitney

MXL- Población de Los Ángeles con ancestralidad mejicana (1000 Genomas)

NIH-NCI- National Institutes of Health- National Cancer Institute

NUDT15- Nudix hidrolase 15

ON- Osteonecrosis

OR- *odd ratio*

PCR- Reacción de cadena de la polimerasa

PEL- Población Peruana de Lima (1000 Genomas)

P-gp- Glucoproteína P1

PRED- Prednisona

PUR- Población de Puerto Rico (1000 Genomas)

RA- Riesgo Alto

RC- Remisión Completa

RE- Riesgo Estándar

RFLP- Fragmentos de restricción de longitud polimórfica

RG- Receptores de glucocorticoides

RI- Riesgo Intermedio

SG- Sobrevida Global

SHOP-CHPR - Servicio Hemato-Oncológico Pediátrico del Centro Hospitalario Pereira Rossell

SLEnfermedad- Sobrevida libre de Enfermedad

SLEventos- Sobrevida libre de eventos

SNC- Sistema Nervioso Central

SP- Sangre periférica

TPMT- Tiopurina S-metiltransferasa

TSI- Población toscana de Italia (1000 Genomas)

VCR- Vincristina

YRI- Población de Yoruba en Ibadan, Nigeria (1000 Genomas)

RESUMEN

En Uruguay, al igual que en el resto del mundo, las leucemias son el tipo de cáncer pediátrico más común (30,2%), siendo la Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) la más frecuente. En Uruguay, esta representa un 77,4% del total de leucemias, síndromes mieloproliferativos y mielodisplásicos, con un pico de incidencia entre los 0 y los 4 años de edad. En nuestro país la tasa de cura de LLA es de 82,2%, similar a la de países desarrollados. El tratamiento se lleva a cabo principalmente en el Servicio Hemato-Oncológico Pediátrico del Centro Hospitalario Pereira Rossell, donde se utiliza el protocolo BFM (al presente, en su versión 2009). Según éste, el tratamiento consiste en una poliquimioterapia de dos años de duración y consta de cinco fases: inducción, intensificación, consolidación, reintensificación y mantenimiento. La fase de inducción está destinada a destruir la mayor cantidad de blastos, con el objetivo de conseguir la remisión de la enfermedad. Esta etapa dura 33 días y durante la misma se administran diversos fármacos: Prednisona (PRED), Vincristina (VCR), L-Asparaginasa (L-ASP), Daunorrubicina y Metotrexato. Debido a la acción inespecífica y al estrecho rango farmacológico de los fármacos utilizados, varios pacientes sufren eventos de toxicidad como consecuencia de la quimioterapia. La respuesta diferencial a los fármacos se debe, en parte, a la variabilidad genética. Considerando la importancia de la fase de inducción, la composición tri-híbrida de la población uruguaya y los antecedentes de asociación entre ciertas variantes génicas y las toxicidades en la fase de mantenimiento para nuestro país; esta tesis tiene como objetivo identificar variantes genéticas relacionadas con los fármacos administrados durante la fase de inducción del tratamiento de la LLA pediátrica, y analizar su contribución a los efectos adversos, considerando la ancestralidad genética individual. Para ello se analizaron 13 polimorfismos de genes vinculados a la PRED (*ACP1*, *ABCG2* y *ABCB1*), VCR (*CEP72* y *CYP3A5*) y L-ASP (*ASNS* y *GRIA1*) en una muestra de 200 pacientes, y se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas para cada polimorfismo. Adicionalmente, se determinó la ancestralidad global e individual de los pacientes a partir de 45 marcadores informativos de ancestralidad. A partir de las historias clínicas de los pacientes, se relevaron los datos clínicos, paraclínicos y los efectos adversos. Con los datos obtenidos se analizó la relación entre los genotipos, la respuesta al tratamiento y las toxicidades (gastrointestinal, hepática, neurológica, osteomuscular, mucositis,

RESUMEN

cushing, hiperglicemias y alergia a la L-ASP). Asimismo, se evaluó el efecto de las variantes genéticas junto con la ancestralidad sobre las toxicidades analizadas. En relación a las frecuencias genotípicas, estas difieren, para la mayoría de los polimorfismos, con las de las poblaciones africanas, seguido de las asiáticas y, en menor medida, con las poblaciones europeas y latinoamericanas. La ancestralidad global de la muestra de pacientes presentó un 69,2% de componente europeo, seguido de 20,1% nativo americano y un 10,7% africano, pero con una gran variabilidad interindividual. Del análisis de la ancestralidad y respuesta se desprende que tener mayor proporción del componente ancestral nativoamericano estaría relacionado con una buena respuesta a la PRED. Los pacientes no expresores de *CYP3A5* y los de genotipo 3R/3R (rs2032582, *ASNS*) tienen un mayor riesgo de desarrollar mucositis y presentan un mayor número de eventos que los expresores de *CYP3A5* y los portadores del alelo 2R, respectivamente. A su vez, los pacientes con genotipo TA (rs1049674, *ASNS*) presentan un riesgo mayor de desarrollar cushing y un mayor número de eventos, que los de genotipo TT. Por otro lado, los pacientes con genotipo TC (rs9282564, *ABCB1*) presentan un mayor riesgo de desarrollar neurotoxicidad que los de genotipo TT. Asimismo, aquellos pacientes con un componente nativoamericano <20% presentan un riesgo mayor de desarrollar toxicidades neurológicas. No se encontraron relaciones significativas entre las variantes genéticas y la presencia de toxicidad gastrointestinal, hepática, osteomuscular y alergia a la L-ASP. En conclusión, esta tesis evidencia la importancia de estudiar variantes genéticas asociadas con la resistencia a fármacos, así como a los efectos adversos, ya que son una guía importante para adaptar y optimizar las terapias.

1 MARCO TEÓRICO

1.1 Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA)

En el mundo, el cáncer es una de las principales causas de muerte infantil. En Uruguay, al igual que en el resto del mundo, las leucemias son el tipo de cáncer más común entre los cánceres pediátricos, constituyendo el 30,2% de los mismos (Kato, 2020, Dufort & Álvarez, 2021).

La leucemia es una enfermedad neoplásica derivada de la transformación maligna de una célula progenitora inmadura de la médula ósea (blasto), que tiene la capacidad de expandirse y formar un clon de células incapaces de seguir diferenciándose, con una mayor supervivencia y con una alta tasa de reproducción (Atienza, 2016). La rápida proliferación de estas células inmaduras provoca la disminución del tejido hematopoyético normal en la médula ósea (MO), con posterior invasión a la sangre periférica y al resto de los órganos. Las leucemias pueden considerarse agudas, cuando la expansión se da rápidamente, o crónicas, cuando el crecimiento es más lento. A su vez, dependiendo de cuál sea la estirpe celular pueden clasificarse como mieloides, linfoides o de linaje híbrido o mixto (con características mieloides y linfoides).

La leucemia linfoblástica aguda (LLA), de origen linfoide y características agudas, es la leucemia más común en niños (Maamari et al., 2020). Esta, se clasifica en LLA-B y LLA-T dependiendo del tipo de linfocito donde se originaron las células leucémicas (linfocitos B o T, respectivamente). A su vez, se subdivide según el grado de maduración de las mismas (proB o preB temprana, prepreB, preB, células B maduras, preT y células T maduras). La LLA-B es la forma más común de LLA, representando el 80-85% de las mismas (Noronha et al., 2011; Navarrete-Meneses & Pérez-Vera, 2017).

La tasa de incidencia para la LLA varía según la población de estudio, siendo mayor en hispanos y estadounidenses caucásicos que en estadounidenses afrodescendientes y asiáticos (Fujita et al., 2021). A su vez, la tasa de incidencia en los latinos ha aumentado más rápidamente con el tiempo en comparación con otros grupos étnicos (Quiroz et al., 2019; Mejia-Arangure et al., 2021). En Uruguay, la LLA representa el 77,4% del total de leucemias, síndromes mieloproliferativos y mielodisplásicos. Esta enfermedad presenta una incidencia levemente mayor en

MARCO TEÓRICO

niños que en niñas, con un pico de incidencia entre los 0 y los 4 años de edad (Dufort & Álvarez, 2021).

Si bien hace 60 años la LLA era considerada una enfermedad no tratable, el avance del conocimiento sobre la misma ha llevado a un aumento significativo de la tasa de sobrevida. En los años 60 la sobrevida de LLA era del 10%, y actualmente es cercana al 90% (Al-Mahayri et al., 2017). Este incremento se debe a mejoras constantes y progresivas en la eficacia de los tratamientos con agentes quimioterapéuticos múltiples, más que al desarrollo de nuevas terapias en sí mismo. El hecho de considerar las características clínicas del paciente, las características biológicas de las células leucémicas y la respuesta temprana al tratamiento, ha potenciado el buen resultado de las terapias (Hunger et al., 2015). En Uruguay, la tasa de cura de la LLA pediátrica ha aumentado sustancialmente en los últimos años. En el período 1992-1994 la sobrevida era de 53,4% (Castillo et al., 2001), aumentando a 82,2% en el período de 2008-2012 (Dufort & Álvarez, 2021). Esta cifra es muy similar a la reportada para países desarrollados tales como Estados Unidos de América, países europeos, Japón, Corea del Sur y Australia (Castillo et al., 2012; Dufort & Álvarez, 2021).

Si bien las características clínicas, patológicas e inmunofenotípicas de la enfermedad son conocidas, su etiología no se ha caracterizado por completo. Aunque la secuencia de acontecimientos que derivan en la transformación maligna de una célula suele ser multifactorial, se ha visto que los factores genéticos desempeñan un papel importante en el desarrollo y pronóstico de la LLA pediátrica. Aproximadamente el 75% de los casos de LLA pediátrica presentan alguna alteración cromosómica numérica o estructural. La hiperdiploidía alta (más de 50 cromosomas) está presente en hasta el 30% de los casos y se asocia a un mejor pronóstico de la enfermedad (Layton-Tovar, 2015). Por otro lado, la hipodiploidía baja (31-39 cromosomas) está presente en aproximadamente el 1% de los casos (Inaba & Mullighan, 2020) y está relacionada con un mal pronóstico (Harrison, 2013). La LLA-B se caracteriza por presentar hiperdiploidía con más de 50 cromosomas, hipodiploidía con menos de 44 cromosomas y ciertos reordenamientos cromosómicos. Por otro lado, trastornos genéticos como el síndrome de Down, el síndrome de Bloom, el síndrome de Louis-Bar y la anemia de Fanconi, han sido

MARCO TEÓRICO

asociados con un mayor riesgo de LLA. Estas alteraciones genéticas representan menos del 5% de los casos (Pui et al., 2008; Pei et al., 2015).

Además de los factores genéticos, ciertos factores ambientales como la exposición a radiaciones ionizantes o el uso de alcohol y tabaco por parte de los padres, son considerados posibles factores de riesgo para el desarrollo de LLA infantil (Pei et al., 2015). A su vez, algunos investigadores han demostrado que los cambios epigenéticos tienen un rol relevante en el desarrollo y evolución de esta enfermedad (Navarrete-Meneses & Pérez-Vera, 2017).

Hasta el momento no se conocen causas concretas subyacentes de las variaciones en incidencia y desarrollo de la LLA, respuesta al tratamiento y toxicidades durante el mismo. Mutaciones genéticas, factores medioambientales, disparidades socioeconómicas o una combinación de estos podrían explicar dichas diferencias.

1.2 Tratamiento de LLA y efectos adversos

En la actualidad existen, a nivel mundial, diversos esquemas terapéuticos para tratar la LLA pediátrica. En nuestro país, el tratamiento se lleva a cabo fundamentalmente en el Servicio Hemato-Oncológico Pediátrico del Centro Hospitalario Pereira Rossell (SHOP-CHPR), centro de referencia para esta enfermedad en nuestro país. El protocolo utilizado es el del grupo alemán BFM (Berlin-Frankfurt-Münster), al presente en su versión 2009 (ALL IC-BFM 2009), a excepción de los pacientes menores de 1 año que son tratados según el protocolo Interfant 06. El tratamiento según el protocolo ALL IC-BFM 2009 consiste en una poliquimioterapia de dos años de duración y consta de cinco fases: 1) Inducción a la remisión, 2) Intensificación 3) Consolidación 4) Reintensificación y 5) Mantenimiento. Al momento del diagnóstico los pacientes se clasifican en tres grupos de riesgo (estándar, intermedio y alto – RE, RI y RA –) según criterios establecidos: edad, cantidad de glóbulos blancos y la presencia de ciertas aberraciones cromosómicas (Figura 1).

MARCO TEÓRICO

A su vez, de acuerdo al número de blastos en sangre periférica (SP) al día +8 y al porcentaje de blastos en MO (medidos por técnicas ópticas y de citometría de flujo -EMR-) al día +15 y +33, su clasificación puede cambiar a un riesgo mayor. El grupo de riesgo de un determinado paciente queda establecido de forma definitiva el día +33. Si bien el tratamiento tiene un esquema general, éste presenta ciertas variaciones según el grupo de riesgo al que pertenece el paciente y al tipo de LLA diagnosticada (Figura 2).

CLASIFICACIÓN ALL IC-BFM 2009

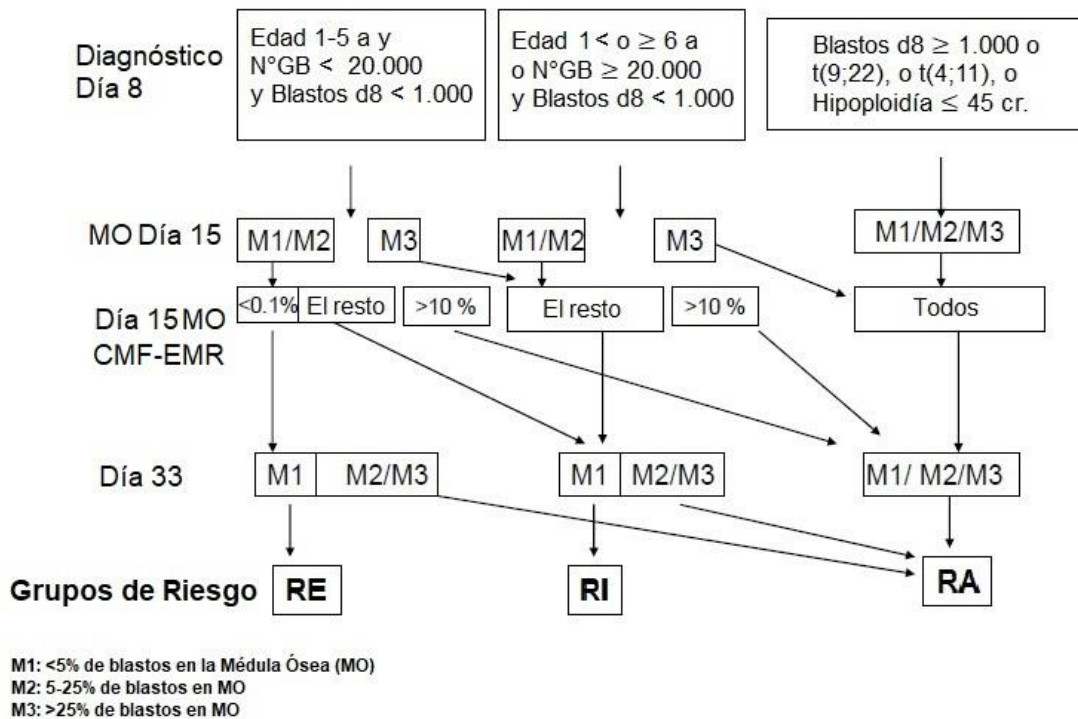


Figura 1. Clasificación grupos de riesgo LLA. Se muestran los criterios para la clasificación de los pacientes en los distintos grupos de riesgo. GB: Glóbulos blancos. MO: Médula ósea. CMF: Citometría de flujo. EMR: Enfermedad Mínima Residual. RE: Riesgo estándar. RI: Riesgo intermedio. RA: Riesgo alto. (Imagen adaptada del International BFM Study Group, 2010).

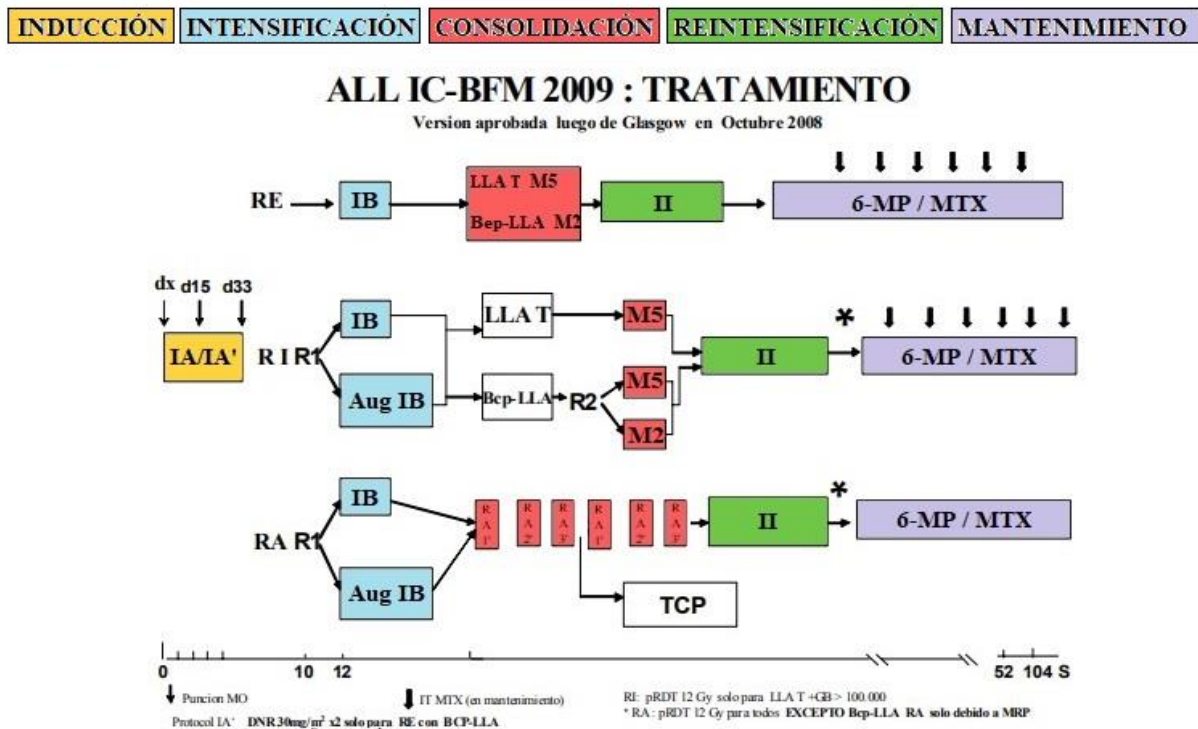


Figura 2. Esquema del Protocolo ALL IC-BFM 2009. Se muestran las fases del tratamiento y duración de cada una según el grupo de riesgo del paciente. En **amarillo** la fase de inducción, **celeste** la fase de intensificación, **rojo** la fase de consolidación, en **verde** la fase de reintensificación y en **lila** la fase de mantenimiento. RE: Riesgo estándar, RI: Riesgo intermedio y RA: Riesgo alto. R1/R2: Randomización. Gy: Radioterapia (Indicada solo para pacientes con LLA-T o con infiltración del SNC). TCP: Transplante de células madre (Imagen adaptada del International BFM Study Group, 2010).

La primera fase del tratamiento es la Inducción (Figura 2, recuadro amarillo). Ésta dura 33 días y su objetivo es conseguir la remisión de la enfermedad, restaurando un estado hematopoyético normal. Un paciente con LLA logra la remisión completa (RC) cuando no existe evidencia de leucemia a nivel de sangre periférica, ni medular (menos del 5% de blastos). Tampoco debe existir afectación del Sistema Nervioso Central (SNC) u otra afectación extramedular. Entre el 96 y 99% de los pacientes alcanzan la RC, un indicador importante del éxito del tratamiento (Atienza, 2016). Este se define en términos de Supervivencia Libre de Eventos (SLEventos), Supervivencia Libre de Enfermedad (SLEnfermedad) y Sobrevida Global (SG). La SLEventos es el tiempo que transcurre desde el diagnóstico hasta la ocurrencia de un evento (muerte, resistencia, recaída o una segunda malignidad). Por otro lado, la SLEnfermedad es el tiempo entre que se alcanza la RC y ocurre un evento. Por

MARCO TEÓRICO

último, la SG se define como el tiempo desde el diagnóstico hasta el último seguimiento o la muerte del paciente, sin importar la causa (International BFM Study Group, 2010). Los pacientes que no consiguen un estado de RC presentan una mayor tasa de recaída de la enfermedad y una SLEnfermedad muy reducida (Atienza, 2016).

La fase de inducción consiste en la administración de Prednisona (PRED), Vincristina (VCR), L-Asparaginasa (L-ASP), Daunorrubicina (DNR) y Metotrexato (MTX). Las subsiguientes fases del tratamiento son la intensificación, la consolidación, la reintensificación y el mantenimiento (Figura 2, recuadros celeste, rojo, verde y lila, respectivamente). El objetivo de estas es destruir los blastos remanentes que han resistido al tratamiento de inducción y prevenir un nuevo crecimiento leucémico. En la intensificación, consolidación y reintensificación se administran los siguientes fármacos: Ciclofosfamida, Citarabina, 6-Mercaptopurina (6-MP), MTX, Dexametasona (DEXA), Doxorubicina (DOXO), 6-Tioguanina, VCR y L-ASP, y en alta/medianas dosis. Según el grupo de riesgo del paciente, las fases de intensificación y consolidación varían en duración y esquema terapéutico. La fase de mantenimiento es la más larga (63 o 74 semanas) y consiste en la administración oral diaria de 6-MP y semanal de MTX. El tratamiento finaliza una vez que se completa la fase de mantenimiento y el paciente alcanza lo que se denomina estado de "OFF". De todos modos, si bien los pacientes se encuentran de alta en sus domicilios, acuden periódicamente al SHOP-CHPR en donde les realizan reevaluaciones frecuentes para la detección de posibles recaídas.

Si bien los fármacos administrados han demostrado una gran eficiencia en combatir la enfermedad, la acción inespecífica de los mismos y las elevadas dosis administradas los vuelven potencialmente tóxicos y fuente de una amplia variedad de efectos adversos (Gervasini et al., 2012). De hecho, 1-2% de los pacientes con LLA pediátrica no mueren por causas de la enfermedad *per se*, sino como consecuencia de los efectos adversos sufridos durante el tratamiento (Hunger et al., 2015). Algunas reacciones adversas, tales como las toxicidades hematológicas (mielosupresión, neutropenia, trombocitopenia, anemia, leucopenias) podrían considerarse extensiones de los efectos farmacológicos deseados de los fármacos, como por ejemplo la 6-MP (Soler et al., 2018; Burgueño-Rodríguez et al., 2020). La

MARCO TEÓRICO

hepatotoxicidad es una de las complicaciones más frecuentes del tratamiento de esta enfermedad. Según estudios, el 66,5% de los pacientes presentan toxicidad hepática grado II o superior en algún momento de la terapia (Franca et al., 2017). De hecho, la toxicidad gastrointestinal y la hepatotoxicidad se encuentran entre las principales razones de los fracasos quimioterapéuticos (Tao et al., 2020). Otros efectos adversos observados en el tratamiento de LLA son la osteonecrosis, el síndrome de Cushing, la diabetes o hiperglicemia inducida por medicamentos, las neuropatías o neurotoxicidades, la mucositis, las miocardiopatías, la alergia o hipersesibilidad a la L-ASP, entre otros (Moriyama et al., 2016).

La variabilidad interindividual en la respuesta al tratamiento puede ser explicada por factores no genéticos como la edad, sexo, enfermedades concomitantes, alimentación, ambiente en el que vive, funcionalidad renal y hepática. Sin embargo, la variación genética explica gran parte de las diferencias interindividuales de la respuesta a los fármacos y el riesgo de reacciones adversas (Arribas & Pérez, 2010). Esto, sumado a que la RC es un indicador del éxito del tratamiento, expone la importancia de identificar las causas genéticas de las toxicidades observadas durante la fase de inducción, como un primer paso para lograr una disminución de éstas y, por ende, una optimización del tratamiento.

1.3 Fase de inducción: fármacos, efectos adversos y genes

Como se mencionó anteriormente, el tratamiento de la LLA según el protocolo ALL IC-BFM 2009 cuenta con una primera fase de inducción (33 días), que puede regirse por el protocolo IA o el IA' (Figura 3). En ambos protocolos se administran los mismos cinco fármacos: PRED, VCR, DNR, L-ASP y MTX-IT, con la única diferencia de dos o cuatro pulsos de DNR. A excepción de los pacientes que tienen LLA-B y son de RE, a quienes se los trata según el protocolo IA', el resto de los pacientes son tratados con el protocolo IA.

Protocolo Inducción (IA y IA')

IA- LLA-T RE, RI, RA / IA'- LLA-Bcp RE

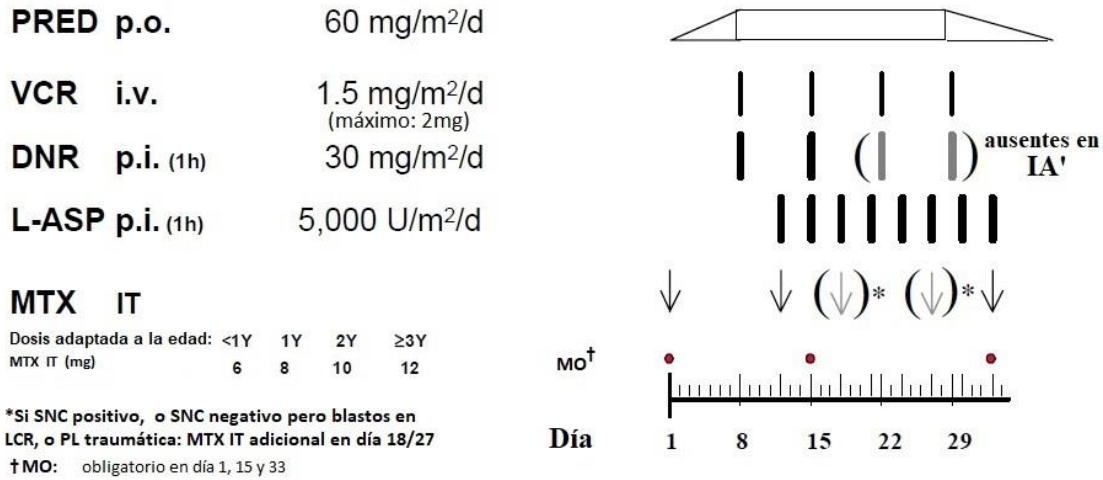


Figura 3. Protocolo IA y IA' de la fase de inducción. Se detalla la dosis, vía de administración y posología de los fármacos. LLA-T: Leucemia Linfoblástica Aguda de tipo T. RE: Riesgo Estándar. RI: Riesgo Intermedio. RA: Riesgo Alto. LLA-Bcp: Leucemia Linfoblástica Aguda de tipo B. PRED: Prednisona. VCR: Vincristina. DNR: Daunrubicina. L-ASP: L-Asparaginasa. MTX IT: Metotrexato intratecal. p.o: Administración oral. i.v.: intravenoso. p.i: infusión. SNC: Sistema Nervioso Central. LCR: Líquido cefalorraquídeo. PL: Punción lumbar. MO: Médula ósea. (Imagen adaptada del International BFM Study Group, 2010).

La PRED se administra diariamente durante toda la fase y de manera oral. Durante los ocho primeros días, se administra de forma ascendente hasta llegar a una dosis de 60 mg/m²/d. Esta dosis se mantiene hasta el día +29 y luego desciende progresivamente hasta que se deja de administrar. Por otro lado, la VCR se administra por vía intravenosa en cuatro pulsos de 1,5 mg/m²: a los días +8, +15, +22 y +29. La DNR se administra en forma de pulsos por infusión (durante una hora), con una dosis de 30 mg/m², aunque la cantidad de pulsos varía según el protocolo. En el protocolo IA se administran cuatro pulsos (día +8, +15, +22 y +29), mientras que en el protocolo IA', solo se administran dos pulsos (día +8 y +15). La L-ASP es administrada en ocho pulsos (día +12, +15, +18, +21, +24, +27, +30 y +33) mediante infusión de 5000 U/m² durante una hora. Por último, dependiendo del compromiso del SNC se administran dos o cuatro pulsos de MTX por vía intratecal (MTX-IT). La dosis administrada de MTX-IT varía entre 6-12 mg según la edad del paciente.

1.3.1 Prednisona (PRED):

Los glucocorticoides (GC) tales como la PRED, prednisolona, metilprednisolona, DEXA, betametasona y triamcinolona, son los fármacos antiinflamatorios e inmunosupresores por excelencia dentro de los tratamientos clínicos. Éstos fueron aplicados por primera vez en el tratamiento de un paciente con artritis reumatoidea en 1948 por Philip Hench (Hench et al., 1950). La acción de los GC en la respuesta antiinflamatoria es inhibir la permeabilidad vascular que ocurre después de la inflamación y así disminuir el reclutamiento de leucocitos (Perretti & Ahluwalia, 2000). Hoy en día, los GC sintéticos se utilizan como tratamiento de una amplia gama de enfermedades, tales como el asma, el lupus eritematoso sistémico, la enfermedad inflamatoria intestinal, el síndrome nefrótico, la LLA y ciertas enfermedades autoinmunes. También son ampliamente utilizados como adyuvantes durante la quimioterapia o radioterapia para reducir los efectos secundarios en muchos tipos de cáncer. Específicamente, la PRED y la DEXA son administrados en la terapia de la LLA y juegan un rol importante en el aumento de las tasas de cura de dicha enfermedad (Kawedia et al., 2011). Los efectos citotóxicos derivados del tratamiento con PRED son mediados por la unión de la misma a los receptores de GC (RG) (Inaba & Pui, 2010). La PRED, que se administra oralmente, es absorbida por el intestino y, una vez en el hígado, se convierte en prednisolona. Como otros GC, la prednisolona es una molécula lipofílica que puede difundir fácilmente a través de la membrana celular. En el citoplasma, se une a los RG, y forma un complejo RG+GC que puede dimerizarse o permanecer como monómero, y que tiene la capacidad de translocarse hacia el núcleo. Una vez en el núcleo, los dímeros activan y los monómeros reprimen la transcripción de distintos genes. Ambos procesos inhiben la producción de citoquinas, alteran la expresión de varios oncogenes e inducen la detención del ciclo celular y la apoptosis (Inaba & Pui, 2010; Schijvens et al., 2019) (Figura 4). Por otro lado, el complejo RG+GC ejerce sus efectos antiinflamatorios e inmunosupresores favoreciendo la expresión de genes antiinflamatorios y la disminución de la expresión de genes proinflamatorios (Schijvens et al., 2019). Por último, la PRED se excreta principalmente por la orina como conjugados de sulfato y glucurónido (FDA *Aproved Drug Products: Rayos*, 2013).

MARCO TEÓRICO

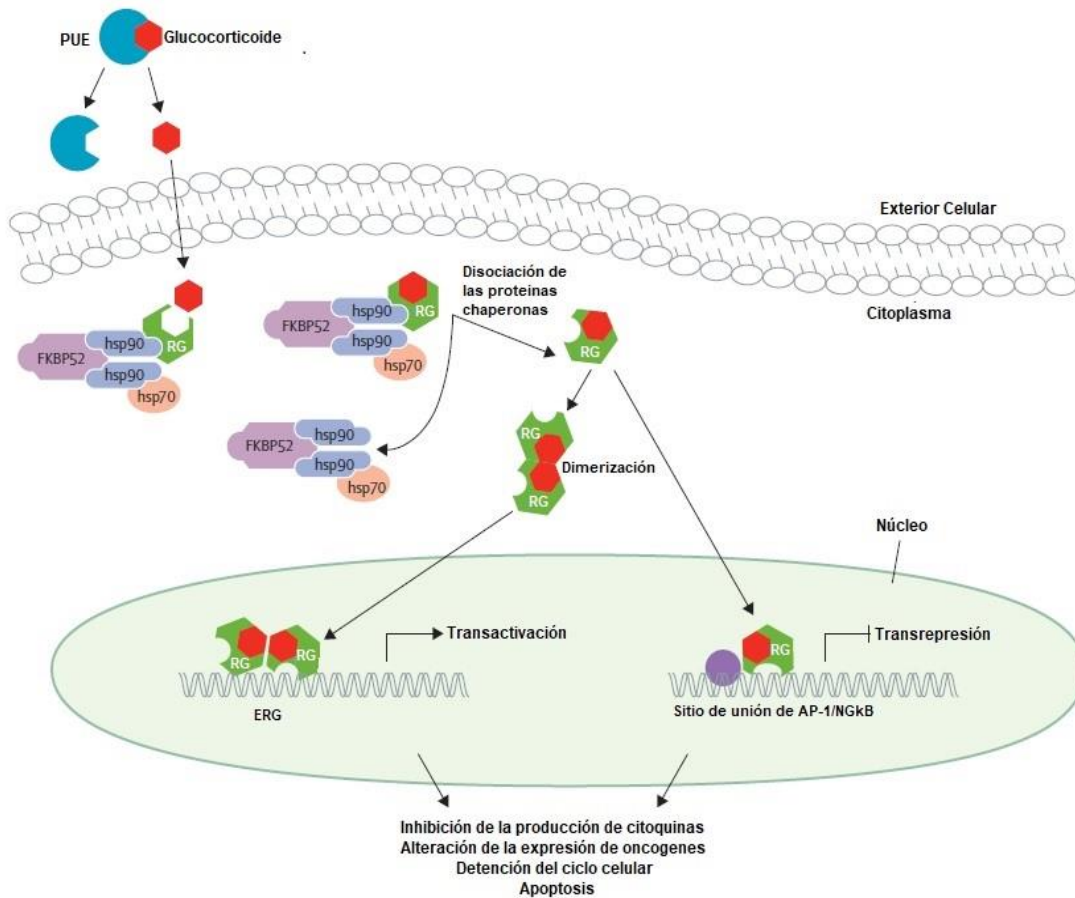


Figura 4. Mecanismo molecular de acción de los glucocorticoides. Se muestran las distintas vías de acción de los glucocorticoides. PUE: proteína de unión a esteroides. RG: receptor de glucocorticoides. hsp90 y hsp70: chaperonas. FKBP52: co-chaperona. ERG: Elementos de respuesta a glucocorticoides. AP-1: Proteína activadora-1. NGkB: factor nuclear- κ B. (Imagen adaptada de Inaba & Pui, 2010).

La potente eficacia clínica de los GC es una consecuencia de sus múltiples acciones, que afectan prácticamente a todas las células del sistema inmune. De hecho, aproximadamente 1% del genoma humano puede verse afectado por los GC, ya sea reprimiendo o induciendo la síntesis de varias proteínas (Perretti & Ahluwalia, 2000). Esta característica genera que se asocie la administración de GC con efectos adversos no deseados. Se han reportado una gran variedad de efectos colaterales derivados de la administración prolongada de GC en altas dosis. Entre ellas se encuentran la fragilidad de la piel, el aumento de peso, un mayor riesgo de sufrir infecciones, un impacto metabólico y cardiovascular, hipertensión, hiperglicemia, cushing, dislipidemia y la toxicidad ósea (Schijvens et al., 2019).

MARCO TEÓRICO

En particular, los efectos negativos sobre el sistema óseo están asociados al suministro de GC. Por un lado, inducen la apoptosis de osteoblastos y osteocitos, provocando una disminución de la formación de hueso y, por otro lado, prolongan la vida útil de osteoclastos, lo que conlleva a un aumento de la resorción ósea (Mitra, 2011). Los GC pueden también causar un aumento del tamaño de los lipocitos intraóseos, provocando un aumento de la presión de la MO, trastornos circulatorios intraóseos, reducción del flujo sanguíneo intramedular y la isquemia de la médula. Todo esto conlleva a la apoptosis seguida de necrosis (Sala et al., 2007; Kawedia et al., 2011). Si bien los principales fármacos asociados con la osteonecrosis (ON) son los GC, la administración concomitante de ciertos fármacos como el MTX y la L-ASP podrían contribuir al desarrollo de la misma (Sala et al., 2007; Bhatia, 2011). La ON asociada a la exposición de GC suele ser multiarticular, comúnmente bilateral y suele ocurrir dentro de los primeros tres años de iniciada la terapia de LLA (Sala et al., 2007). El riesgo de sufrir ON en el contexto del cáncer ha sido asociado con la edad (mayor riesgo en adolescentes que en niños), la ancestralidad (más predominante en niños caucásicos que en niños con ascendencia africana), la dosis acumulada de GC recibida durante el tratamiento, también, aunque con resultados contradictorios, con ciertos factores genéticos (Mattano et al., 2000; Sala et al., 2007; Kawedia et al., 2011). Por otro lado, el síndrome de Cushing (consecuencia de un trastorno hormonal) es también una toxicidad relacionada con la administración de GC. De hecho, todas las formas disponibles de esteroides con actividad glucocorticoide son capaces de producir síndrome de Cushing (Hopkins & Leinung, 2005) y su desarrollo está, generalmente, relacionado con la dosis y la duración del tratamiento (Hopkins & Leinung, 2005; Sharma & Nieman, 2011).

Otro de los efectos adversos más conocidos de la terapia con GC es su efecto deletéreo sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, potenciando la hiperglicemia en aquellos pacientes con diabetes previa o provocando una diabetes esteroidea en aquellos sin diabetes previa (Ullastre & Pérez, 2011). La diabetes inducida por medicamentos se observa frecuentemente en pacientes pediátricos con LLA, principalmente durante la fase de inducción, debido al uso combinado de GC y L-ASP (Burke & Zalewska-Szewczyk, 2022).

Como se mencionó anteriormente, uno de los efectos adversos de la administración de GC son los problemas óseos como la ON. El gen *ACP1* codifica para una

MARCO TEÓRICO

proteína necesaria para la diferenciación ósea, y variantes en este gen han sido asociadas con la ON (Kawedia et al., 2011; Gagné et al., 2019). Por otro lado, si bien la PRED puede atravesar la membrana celular de manera pasiva, también puede ser transportada activamente fuera de la célula por la familia de transportadores ABC. Por tanto, el nivel de expresión y la acción de los transportadores ABCs regula las concentraciones intracelulares de la PRED, y cualquier variación en el nivel de estas proteínas excretoras podría resultar en resistencia a la misma. (Fletcher et al., 2010; Song et al., 2017; Mohammad et al., 2018). En consecuencia, se detallarán a continuación los genes *ACP1*, *ABCB1* y *ABCG2*.

1.3.1.1 *ACP1* (Fosfatasa ácida 1)

El gen *ACP1*, de localización 2p25.3 y compuesto por seis exones, codifica para la proteína tirosina fosfatasa citosólica de bajo peso molecular (LMW-PTP) perteneciente a la familia de proteínas fosfotirosina fosfatasas. Como consecuencia del *splicing* alternativo del ARNm, se producen dos isoenzimas (denominadas rápidas o lentas según su movilidad electroforética) que se expresan en una variedad de tejidos de los mamíferos. Éstas juegan un rol importante en la regulación de los factores de crecimiento y en procesos celulares como la adhesión y la diferenciación celular (de Souza et al., 2009; Gagné et al., 2019).

La expresión de la proteína LMW-PTPs varía según el estado de diferenciación de los osteoblastos. A su vez, la actividad de LMW-PTPs es un requisito para comenzar el proceso de mineralización, evento fundamental en la formación del hueso (Zambuzzi et al., 2008; de Souza et al., 2009;).

En 2010, un estudio de asociación del genoma (GWAS) en niños con LLA reportó una asociación entre la variante intrónica rs12714403 (A>G) del gen *ACP1* y la ON (Kawedia et al., 2011). Concretamente, la presencia del alelo A se encontró asociada a un mayor riesgo de desarrollar ON sintomática, así como también de tener niveles bajos de albumina y niveles altos de colesterol, dos fenotipos intermedios relacionados con el riesgo a desarrollar ON (Kawedia et al., 2011). Por el contrario, esta asociación no fue detectada por Gagné et al. (2019). Sin embargo, estos autores, reportaron una asociación entre el riesgo de desarrollar ON y la variante exónica rs11553746 (C>T) de este mismo gen. Dependiendo de la isoforma del ARNm, esta variante puede generar, a nivel proteico, un cambio sinónimo

MARCO TEÓRICO

(Asp43Asp) o un cambio no sinónimo (Thr95Ile). La presencia del genotipo TT en esta variante aumenta el riesgo de padecer ON sintomática en aquellos pacientes de alto riesgo (Gagné et al., 2019).

Según la base de datos “1000 genomas”, la frecuencia del alelo G del polimorfismo rs12714403 en poblaciones europeas, asiáticas, africanas y latinoamericanas es similar, variando entre 88 y 98%. En el caso de la variante rs11553746, la frecuencia del alelo T en poblaciones europeas ronda el 33%, mientras que en poblaciones asiáticas y latinoamericanas se encuentra en menor frecuencia (25% y 23%, respectivamente) y en poblaciones africanas es solamente del 13% (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

Debido a la implicancia de *ACP1* en la formación ósea, y que la administración de GC está relacionada con posibles toxicidades óseas, es de particular interés analizar si variantes en este gen puedan estar vinculadas con los efectos adversos a nivel óseos derivados del tratamiento de LLA.

1.3.1.2 ABCB1 (transportador de membrana dependiente de ATP, subfamilia B, miembro 1)

El gen *ABCB1*, de localización 7q21.12 codifica para el transportador homónimo (transportador de membrana dependiente de ATP, subfamilia B, miembro 1), también conocido como la glucoproteína P1 (P-gp) o proteína de resistencia multidroga (MDR1). Este transportador (codificado por 28 exones) se expresa en el intestino, hígado y riñones, así como también en los capilares de células endoteliales del cerebro, placenta, testículos y células de la sangre periférica (Safran et al., 2022).

La variante rs2032582 (A>C/T), localizada en el exón 21 de este gen, provoca el cambio aminoacídico de serina por alanina (A>C) o por treonina (A>T) en la posición 893. La presencia de esta variante y su asociación con la respuesta a los GC en distintos tratamientos ha sido ampliamente discutida. Ensayos *in vitro* muestran que esta variante no modifica la expresión de la proteína, pero sí su función. Las células transfectadas con la variante Ser893 presentaron un flujo de salida mayor que las células en las que se expresó la variante Ala893 (Kim et al., 2001). Por otro lado, un estudio realizado en una cohorte de niños hindúes con síndrome nefrótico reporta que, aquellos pacientes con genotipo homocigota AA o TT (codificantes para los

MARCO TEÓRICO

aminoácidos polares serina o treonina) respondieron de manera menos eficaz al tratamiento con GC que aquellos que presentaron el aminoácido alanina (no polar). El aminoácido serina o treonina en la posición 893, podría afectar la estructura secundaria del mismo. Esto determinaría una mayor eficiencia en la expulsión de los GC al exterior celular, resultando en una posible resistencia a los mismos (Jafar et al., 2011). En línea con este estudio, la dosis de tacrolimus (sustrato de ABCB1) requerida por pacientes con trasplante renal de genotipo TT o AA fue 40% más alto que para aquellos de genotipo CC (Anglicheau et al., 2003). Por el contrario, Cuppen et al. (2017) reportan que ser portador del alelo A para esta variante provoca una disminución en la funcionalidad de la proteína en células de tipo B. Según estos autores, los pacientes con genotipo CC, a los que se les administró metilprednisolona de manera intravenosa, respondieron de forma menos eficaz al tratamiento en comparación con aquellos portadores del alelo A. Sin embargo, los autores no encontraron esta asociación cuando el GC administrado se trataba de PRED o prednisolona administrada de forma oral (Cuppen et al., 2017). A su vez, en un estudio realizado en pacientes con inmunotrombocitopenia, se observó que los pacientes homocigotas AA y TT, así como también los heterocigotas AT respondían mejor a la terapia con GC orales en comparación con los pacientes portadores del alelo C, presentando la menor respuesta aquellos pacientes de genotipo CC (Xuan et al., 2014).

Algunos estudios han determinado la relación entre esta variante y la respuesta al tratamiento de LLA. En un estudio realizado en una cohorte de niños malayos, chinos e hindúes, se vio que el genotipo AA estaba asociado con una menor SLEventos y con un mayor riesgo de sufrir una recaída (Lu et al., 2014). Por otro lado, un estudio en niños procedentes de China con LLA reporta que, aquellos individuos con genotipo CC, CT y TT tienen un mayor riesgo de presentar algún tipo de evento (recaída o fallecimiento), en comparación con los de genotipo CA, AA o AT. Sin embargo, no se encontró ninguna relación entre esta variante y el número de glóbulos blancos al debut, el número de blastos en sangre periférica al día +8 (Zhai et al., 2012; Gasic et al., 2018) y el porcentaje de blastos en MO al día +15 y +33 (Zhai et al., 2012). Hasta el momento, esta variante no ha sido asociada con las toxicidades relacionadas al tratamiento de inducción de la LLA.

MARCO TEÓRICO

Según la base de datos “1000 genomas”, en poblaciones europeas y latinoamericanas la frecuencia del alelo A ronda el 40% y la del alelo T 2% y 4%, respectivamente. En poblaciones asiáticas, si bien la frecuencia del alelo A también es 40%, la del alelo T es 13%. Por último, en poblaciones africanas el alelo T no se ha sido reportado y la frecuencia del alelo A es tan baja, que el alelo C está prácticamente fijado (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

Otra variante en el gen *ABCB1* es el polimorfismo rs9282564 (T>C), ubicado en el exón 2. Éste resulta en un cambio aminoacídico de asparagina por ácido aspártico (Asn21Asp). El impacto de esta variante en la proteína es poco conocido. En un estudio realizado en pacientes trasplantados de corazón, se estableció una asociación entre esta variante y la función renal, donde los portadores del alelo C, presentaron funciones renales más pobres que aquellos pacientes de genotipo TT durante el tratamiento post trasplante (Sánchez-Lázaro et al., 2015). A su vez, en pacientes adultos tratados por melanoma múltiple, esta variante se encontró asociada con la progresión libre de enfermedad (Van Ness et al., 2008). Hasta el momento no existen estudios en donde se evidencie el rol de esta variante en las toxicidades observadas durante el tratamiento de LLA pediátrica.

Según la base de datos “1000 genomas”, la frecuencia del alelo C de esta variante es prácticamente nula en poblaciones africanas y asiáticas, mientras que en poblaciones latinoamericanas es apenas del 3% y en poblaciones europeas del 8% (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

Detectar variantes del gen *ABCB1*, que puedan alterar la expresión y/o función de la proteína transportadora, es de particular interés en el tratamiento de la LLA, ya que la PRED, la VCR, las antraciclinas y el MTX son posibles sustratos de este transportador (Gregers et al., 2015; Song et al., 2017). Sumado a esto, la literatura presenta resultados contradictorios y las frecuencias en las variantes rs2032582 y rs9282564 varían entre poblaciones.

1.3.1.3 ABCG2 (transportador de membrana dependientes de ATP, subfamilia G, miembro 2)

El gen *ABCG2*, ubicado en la posición 4q22.1 y compuesto por 16 exones, codifica para una proteína de transporte de membrana de 72kDa denominada de manera homónima. La misma es también conocida como proteína de resistencia al cáncer de mama (BCRP), proteína asociada a la resistencia a mitoxantrona (MXR) y transportador de casete de unión a ATP específico de placenta (ABCP). Se expresa en tejidos del cerebro, riñón, seno, pulmón, hígado, barrera hemato-encefálica y placenta (Kondo et al., 2004; Olarte Carrillo et al., 2017). Su función es expulsar hacia el exterior celular una amplia variedad de compuestos químicos, incluyendo fármacos tales como MTX, DOXO, DNR y esteroides sulfatados (Suzuki et al., 2003; Cascorbi et al., 2006; Mo & Zhang, 2012), característica que lo convierte en otro de los actores principales de la resistencia a múltiples fármacos.

Ubicada en el exón 2 de *ABCG2* se encuentra la variante rs2231137 (C>T; Val12Met). El residuo Valina 12 se encuentra en la porción intracelular del transportador, cerca del extremo N terminal. Variantes en esta zona podrían influenciar la inserción del transportador en la membrana celular (Heyes & Kerr, 2018). A su vez, un estudio *in vivo* sobre tejidos hepáticos encontró que la expresión del ARNm de *ABCG2* era más baja en hispanos, posiblemente debido a la presencia de la variante rs2231137 (Poonkuzhali et al., 2008).

En un estudio realizado en pacientes de origen Han (China) con linfoma de células B, cuyo tratamiento incluye PRED, DOXO y VCR, los pacientes de genotipo CC presentaron menor SLEventos que los portadores del alelo T (Liu et al., 2017). Por otra parte, en pacientes caucásicos con leucemia mieloide crónica, el genotipo CC se asoció con una menor probabilidad de conseguir la remisión citogenética de la enfermedad (Loscocco et al., 2021). Hasta la fecha no se han publicado investigaciones sobre esta variante génica y la respuesta al tratamiento de LLA pediátrica.

En relación con los efectos adversos, un estudio llevado a cabo en pacientes adultos con leucemia mieloide aguda, se observó un aumento significativo del riesgo de sufrir distintas toxicidades de alto grado en aquellos pacientes portadores del alelo T (Hampras et al., 2010). Con respecto a la toxicidad renal, el transportador *ABCG2*

MARCO TEÓRICO

participa en la excreción renal de ácido úrico, y variantes en el gen se han asociado como la hiperuricemia. Si bien existen trabajos que no encuentran diferencias en cuanto al nivel de expresión, a la actividad transportadora y a la ubicación del transportador en presencia de la variante V12M (Kondo et al., 2004), o no identifican un efecto de esta en el transporte de ácido úrico (Heyes & Kerr, 2018); un meta análisis basado en frecuencias de la variante rs2231137, determinó que ésta tiene un efecto protector ante la enfermedad de la gota (trastorno causado principalmente por hiperuricemia) (Stiburkova et al., 2017).

Al igual que para la mayoría de los polimorfismos, las frecuencias alélicas varían según la población de estudio. Según la base de datos “1000 genomas”, la frecuencia del alelo T en poblaciones asiáticas es del 33%, mientras que en poblaciones europeas y africanas es mucho menor (6%). Por otra parte, en las poblaciones latinoamericanas es muy variable desde 15% (CLM y PUR), 23% (MEX), hasta 46% (PEL) (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

1.3.2 Vincristina (VCR):

La VCR es un alcaloide vegetal utilizado en el tratamiento de diversos tipos de cánceres, incluyendo las leucemias (Diouf et al., 2015). Este fármaco se administra por vía parenteral intravenosa, se distribuye ampliamente en los tejidos corporales y se fija rápidamente a los eritrocitos y plaquetas. Aproximadamente, el 50% de la dosis es metabolizada en el hígado, siendo mayormente excretada en la bilis y las heces (tanto como fármaco nativo, como en forma de metabolitos). La VCR ejerce sus efectos citotóxicos al interferir con la formación de microtúbulos y el huso mitótico. Por un lado, se une con alta afinidad a los extremos de los microtúbulos provocando su desestructuración y, además, con baja afinidad a lo largo de los mismos causando la disrupción de la arquitectura microtubular. La inhibición del ensamblaje de microtúbulos conlleva a la detención del ciclo celular y dispersión de los cromosomas al citoplasma, generando la apoptosis celular (Jordan & Wilson, 2004; Echebarria, 2016; Al-Mahayri et al., 2017) (Figura 5). A nivel del sistema nervioso, la VCR altera los microtúbulos axonales causando inflamación axonal tanto en las fibras mielinizadas como en las amielínicas. En consecuencia, tanto las funciones sensoriales como las motoras se ven afectadas, influyendo así en la

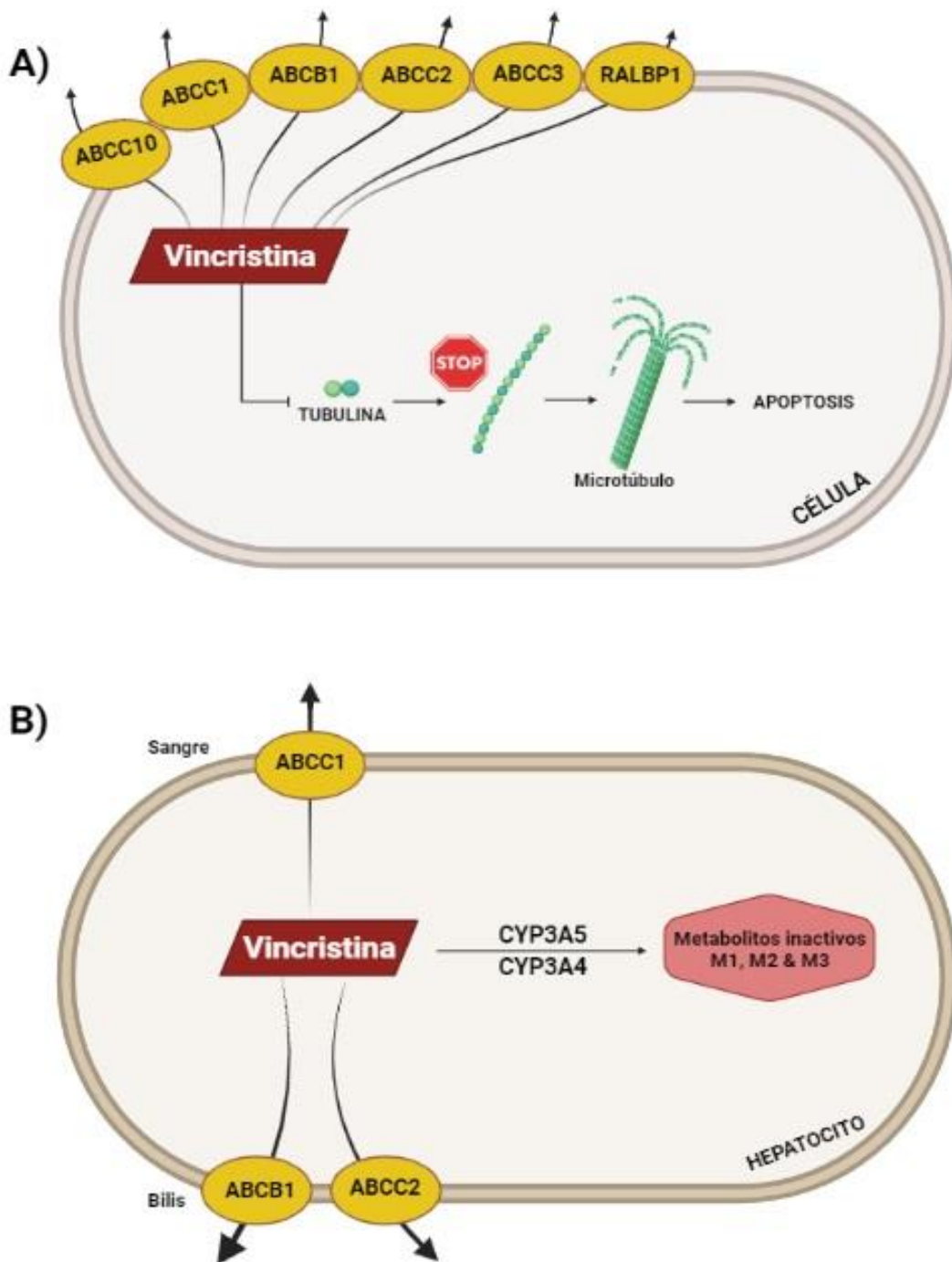


Figura 5: Vía farmacocinética de la vincristina. Se muestra el modo de acción de la vincristina, sus enzimas metabolizadoras y los transportadores al exterior celular. **A)** Célula diana **B)** Célula hepática.

calidad de vida de los pacientes durante o, incluso, después del tratamiento (Carozzi et al., 2015; Martin-Guerrero et al., 2019). Al no existir ningún tratamiento curativo o paliativo para manejar la neurotoxicidad, muchas veces se opta por reducir la dosis

MARCO TEÓRICO

de VCR o discontinuar el tratamiento, provocando importantes consecuencias en la supervivencia del paciente (Martin-Guerrero et al., 2019). Diversas variables pueden influir en la incidencia de neurotoxicidad inducida por VCR: dosis, dosis acumulada, frecuencia de administración, interacción con otros fármacos, ancestralidad genética, variantes en genes que codifican enzimas metabolizadoras o de transporte del fármaco y hasta los métodos usados para determinar la neurotoxicidad (Sims, 2016; Stock et al., 2017; McClain et al., 2018; Laushke & Ingelman-Sundberg, 2019). Por otro lado, la administración de VCR también se acompaña de efectos secundarios leves como el estreñimiento (comunicación personal con Dra. Schelotto, médica tratante de la Fundación Pérez Scremini).

El ingreso de la VCR a la célula se da por difusión simple (Rahmani-Jourdheuil et al., 1994). En el hígado, la VCR es metabolizada por la enzimas CYP3A4 y CYP3A5 (principalmente por la CYP3A5), generando tres metabolitos inactivos principales: M1, M2 y M3, cuya formación es fundamental para el aclaramiento de la VCR tanto en el hígado como en el intestino (Dennison et al., 2006; Lamba et al., 2012). El transportador ABCB1 transporta la VCR a la sangre y a la bilis (López-López et al., 2016; Triarico et al., 2021). Por otro lado, variaciones en el gen *CEP72*, involucrado en la formación de microtúbulos, también puede ser relevante para la acción citotóxica de la VCR debido a que los microtúbulos son blanco de este fármaco (Diouf et al., 2015) (Figura 5). El transportador ABCB1 fue previamente descrito (Sección 1.3.1.2). Por este motivo, a continuación, se detallan únicamente los genes *CYP3A5* y *CEP72*.

1.3.2.1 CYP3A5 (Citocromo P450, familia 3, subfamilia A, miembro 5)

Los genes que codifican para las enzimas de la subfamilia CYP3A se encuentran localizados en un *cluster* de 231kb en la región 7q21-q22.1. Estos genes son altamente polimórficos.

El gen *CYP3A5* es altamente polimórfico, existiendo al momento 26 polimorfismos que conforman 9 alelos (*1-*9) (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP3A5>). Esta variabilidad genética ha sido asociada con la neurotoxicidad producida por la VCR tanto *in vitro* como *in vivo* (Egbelakin et al., 2011; Lamba et al., 2012; Ceppi et al., 2014).

El alelo *CYP3A5*1* codifica para una proteína funcional y se expresa tanto en el hígado como en el intestino (King et al., 2003). El alelo *CYP3A5*3* es producto de la variante rs776746 (T>C) localizada en el intrón 3. Ésta genera un sitio de *splicing* alternativo y provoca la incorporación de un intrón a la secuencia del ARNm maduro. Como resultado, se traduce una proteína trunca no funcional (Kuehl et al., 2001). El alelo *CYP3A5*6* (rs10264272; C>T) es también un alelo no funcional, debido a una transición en el exón 7, que genera un sitio de *splicing* alternativo provocando la exclusión de este exón del ARNm. Esto resulta en la formación de una proteína trunca (Kuehl et al., 2001). Por último, el alelo *CYP3A5*7* (rs41303343), una inserción de un único nucleótido (A) en el exón 11, genera un corrimiento en el marco de lectura y la aparición prematura de un codón STOP. Como consecuencia, se traduce una enzima trunca, no funcional (Lamba et al., 2012).

Las personas homocigotas para cualquiera de estos tres alelos no expresan la proteína CYP3A5, que es fundamental para la metabolización de la VCR. Las personas que si expresan esta enzima experimentan menos eventos de neuropatía inducida por VCR, en comparación con aquellos que no la expresan (Egbelakin et al., 2010). Sin embargo, existen trabajos en donde no se encuentra asociación alguna entre el genotipo de *CYP3A5* y la neurotoxicidad (Ceppi et al., 2014).

La frecuencia de los tres alelos no funcionales descritos previamente es de particular interés según la población de estudio, ya que éstas podrían explicar, en parte, las diferencias observadas en la respuesta de la VCR (Renbarger et al., 2008). *CYP3A5*3* es el alelo más frecuente en la mayoría de las poblaciones, sugiriendo

MARCO TEÓRICO

que es una variante ancestral (Xie et al., 2004). De acuerdo con la base de datos “1000 genomas”, la frecuencia del alelo *CYP3A5*3* en poblaciones africanas es del 18% mientras que en poblaciones asiáticas, latinoamericanas y europeas es significativamente mayor (71%, 80% y 94%, respectivamente). Por otro lado, la frecuencia del alelo *CYP3A5*6* en poblaciones africanas es del 15%, mientras que en poblaciones latinoamericanas es apenas del 2% y en poblaciones europeas y asiáticas es prácticamente nula. Por último, mientras que en poblaciones africanas el alelo *CYP3A5*7* alcanza el 12%, en poblaciones europeas y asiáticas no ha sido reportado, y en poblaciones latinoamericanas su frecuencia es menor al 1% (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

1.3.2.2 CEP72 (Proteína centrosomal 72)

El gen *CEP72*, de localización 5p15.33 y compuesto por 20 exones, codifica para una proteína centrosomal. Ésta es esencial para la formación de microtúbulos, proceso inhibido por la acción farmacológica de la VCR.

La variante rs924607 (C>T) se sitúa en el promotor de este gen y genera un sitio de unión para un represor transcripcional. En un estudio con pacientes pediátricos con LLA se reporta que los individuos de genotipo TT expresan menos ARNm y que, a su vez, presentan un riesgo mayor de sufrir neuropatías inducidas por VCR que aquellos de genotipo CT y CC (Diouf et al., 2015). Asimismo, en una investigación llevada a cabo por Stock et al. (2017) en pacientes adultos con LLA, se encontró un porcentaje mayor de pacientes de genotipo TT dentro de los que sufren neuropatía periférica inducida por VCR. Sin embargo, en un estudio posterior, no se observó asociación entre esta variante y la ocurrencia de neurotoxicidad en la fase de inducción del tratamiento de pacientes pediátricos con LLA (Gutiérrez-Camino et al., 2016).

Según la base de datos “1000 genomas”, la frecuencia del alelo T en poblaciones europeas es de 41%, mientras que en poblaciones asiáticas y latinoamericanas ronda el 30%. En cambio, en poblaciones africanas esta frecuencia es mucho menor (8%) (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

1.3.3 L-Asparaginasa (L-ASP):

La asparagina (Asn) es un aminoácido fundamental para la sobrevivencia de todas las células. Éste es producido por la enzima sintetizadora de asparagina (ASNS) a partir de ácido aspártico (Asp) con dependencia de ATP (Akagi et al., 2009), aunque también puede ser absorbido por el cuerpo a través de la dieta.

Las células normales producen suficiente Asn mediante su propio metabolismo. Sin embargo, las células tumorales, más específicamente los linfoblastos, sintetizan muy poca enzima ASNS y dependen del consumo extracelular de Asn para su supervivencia (Shrivastava et al., 2016). Debido al crecimiento rápido, típico de una célula tumoral, la Asn de la dieta así como la sintetizada por ellos mismos (que es limitada), apenas es suficiente para satisfacer su gran demanda.

La L-ASP es una ASNasa de origen bacterial, que ha sido encontrada en bacterias como *Escherichia coli*, *mycobacteria*, *bacillus*, y *Erwinia chrysanthemi*. Este fármaco es administrado en el tratamiento de enfermedades como la LLA, linfomas no Hodgking y la leucemia mieloblástica aguda (Guilleme et al., 2013; Ballón Cossio, 2014). Su mecanismo de acción consiste en catalizar la hidrólisis de L-asparagina en L-aspártico y amoníaco (Figura 6), resultando en la muerte de las células tumorales (Verma et al., 2007; Shrivastava et al., 2016; Burke & Zalewska-Szewczyk, 2022). Es decir, la presencia de una ASNasa priva a las células tumorales de un importante factor de crecimiento y no logran sobrevivir (Verma et al., 2007; Burke & Zalewska-Szewczyk, 2022). Esta modalidad de tratamiento antitumoral selectivo, en donde las células sanas son menos perjudicadas, ha provocado que todos los tratamientos para la LLA pediátrica contengan, en menor o mayor medida, dosis de L-ASP (Pieters et al., 2011; Guilleme et al., 2013).

Si bien la administración de L-ASP ha sido una de las mayores contribuciones al tratamiento de la LLA pediátrica en los últimos 50 años, también se ha visto asociada a distintos efectos adversos, entre los que se destaca la hipersensibilidad al fármaco (Chen et al., 2010; Pieters et al., 2011; Ben Tanfous et al., 2015; Kutzegi et al., 2015; Rajic et al., 2015).

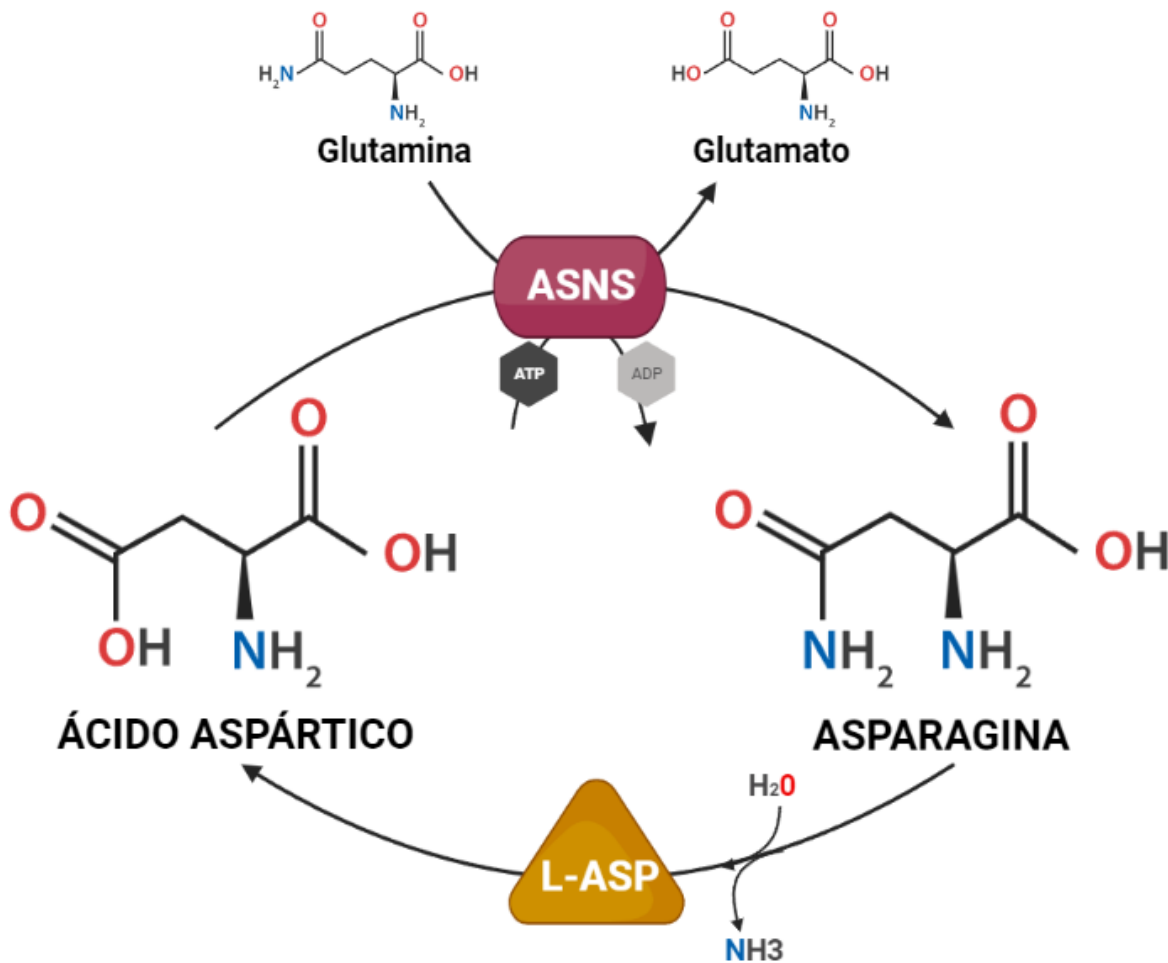


Figura 6. Síntesis y depleción de asparagina. Se muestra la síntesis de asparagina a partir de glutamina y ácido aspártico por parte de la enzima ASNS y la conversión de la asparagina en ácido aspártico por parte de la L-ASP. ASNS: asparagina sintetasa, ATP: Adenosín trifosfato, ADP: Adenosín difosfato, L-ASP: L-Asparaginasa.

Todas las formulaciones utilizadas comercialmente tienen el potencial de provocar una respuesta inmune, caracterizada por el desarrollo de anticuerpos anti-asparaginasa. La presencia de éstos se asocia, principalmente, con una hipersensibilidad clínica, que es el efecto adverso descrito con mayor frecuencia. A su vez, la presencia de anticuerpos anti-asparaginasa puede generar una inactivación del fármaco (o hipersensibilidad silenciosa). Esto ocurre cuando los anticuerpos circulantes no generan manifestaciones clínicas pero si desencadenan la inactivación rápida de L-ASP, generando una depleción subóptima de Asn (López-Santillan et al., 2017). La tasa de incidencia de hipersensibilidad a la L-ASP varía entre diferentes estudios, ya que está influenciada por la frecuencia y vía de

MARCO TEÓRICO

administración, la formulación, el uso concomitante de otros fármacos y la presencia de variantes en distintos genes. Mientras que en pacientes pediátricos con LLA tratados con L-ASP de *E. coli* nativa esta tasa es de 20-35,5%, en pacientes que recibieron L-ASP de *E. coli*-PEG oscila entre el 2 y 9,1%. A su vez, en pacientes tratados con la formulación proveniente de *Erwinia* esta tasa es de 10,9% a 33% (Pieters et al., 2011).

Algunos estudios han relacionado la ocurrencia de alergia a L-ASP con el grupo de riesgo al cual pertenece el paciente. Rajic et al. (2015), al igual que Kutszegi et al. (2015), encontraron una mayor incidencia de hipersensibilidad a L-ASP (derivada de *E. coli*) en el grupo de pacientes de RA. Sin embargo, estos resultados se contradicen con los reportados por Chen et al. (2010), quienes encuentran un mayor riesgo a desarrollar alergia en pacientes de RE. Por otro lado, existen resultados contradictorios en relación a la hipersensibilidad a la L-ASP y su rol en la sobrevida del paciente (Silverman et al., 2001, Panosyan et al., 2004; Wacker et al., 2007; Zalewska-Szewczyk et al., 2007; Rajic et al., 2015).

El gen *ASNS* codifica para la enzima homónima que, como se mencionó anteriormente, es la encargada de la síntesis de Asn. En consecuencia, una elevada expresión del mismo podría contrarrestar el efecto ASNasa de la L-ASP. A su vez, variantes en este gen han sido relacionadas con toxicidades tales como la hipersensibilidad o pancreatitis (Ben Tanfous et al., 2015). Por otro lado, teniendo en cuenta que las reacciones de hipersensibilidad a la L-ASP son dependientes de la activación de los linfocitos T (Chen et al., 2010; Kutszegui et al., 2015), y que el glutamato puede activar funciones claves de las células T humanas (Ganor et al., 2003; Ganor & Levite, 2014), los receptores de glutamato como *GRIA 1* (receptor de glutamato AMPA) podrían influir en la incidencia de alergia a L-ASP. Por lo antes expuesto, se detallan a continuación los genes *ASNS* y *GRIA1*.

1.3.3.1 ASNS (Asparagina sintetasa)

La enzima *ASNS* esta codificada por el gen homónimo de localización 7q21.3, compuesto por 14 exones. Akagi et al. (2009) describieron por primera vez una región de repetidos en tándem (cada uno de 14pb) en el primer intrón de este gen. Hasta el momento, se han descrito tres alelos (rs3832526), según sean dos, tres o

MARCO TEÓRICO

cuatro repetidos (2R, 3R y 4R, respectivamente). Mediante ensayos de actividad *in vitro*, se observó que plásmidos que expresaban los alelos 3R y 4R presentaban una actividad luciferasa dos veces mayor que aquellos con el alelo 2R. Esto sugiere que dichos repetidos podrían actuar como potenciadores transcripcionales del gen (Akagi et al., 2009). Además, otro estudio *in vitro* con células leucémicas reportó una asociación entre la actividad de la ASNS y la resistencia a la L-ASP (Pastorczyk et al., 2014). Teniendo en cuenta esto y que, se reportan altos niveles de expresión de ARNm de ASNS en células resistentes a L-ASP (Richards & Kilberg, 2006), es de esperar que los alelos 3R y 4R disminuyan el efecto de la L-ASP, permitiendo a los linfoblastos sintetizar mayores cantidades de Asn. Por otro lado, Ben Tanfous et al., (2015) encontraron, en una cohorte de testeo, que los pacientes homocigotas para el alelo 3R presentan un mayor riesgo a desarrollar alergia a la L-ASP y pancreatitis que los portadores del alelo 2R. Sin embargo, estos mismos autores no encuentran estos resultados en una cohorte de validación (Ben Tanfous et al., 2015).

Según la base de datos “1000 genomas”, la frecuencia de alelo 3R en poblaciones asiáticas y latinoamericanas es del 29% (a excepción de CLM que es 20% y PEL que alcanza el 39%), mientras que en poblaciones africanas ronda el 21% y en poblaciones europeas el 12%. El alelo 4R no ha sido reportado para ninguna población de esta base de datos (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

A su vez, en el exón 5 de este gen se encuentra una variante (rs1049674; A>T) de cambio de sentido que resulta en el cambio de una valina por un ácido glutámico (Val127Glu). Al momento, existe una única investigación que relaciona esta variante con la sobrevida en pacientes con LLA pediátrico (Youssef et al., 2021). Según la base de datos “1000 genomas”, el alelo T en poblaciones africanas es muy frecuente (98%), mientras que en poblaciones asiáticas y latinoamericanas es levemente menor (91% y 83%, respectivamente). En poblaciones europeas alcanza el 72% (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

1.3.3.2 GRIA1 (Receptor ionotrópico de glutamato de tipo AMPA, subunidad 1)

El gen *GRIA1*, de localización 5q33.2 y compuesto por 21 exones, codifica para la subunidad GluR1 del receptor ionotrópico de glutamato de tipo AMPA. Este tipo de receptores forman canales iónicos permeables al Ca^{2+} y median una respuesta excitatoria rápida de glutamato. El glutamato juega un rol como inmunomodulador,

MARCO TEÓRICO

ya que activa funciones de los linfocitos T (Chen et al., 2010), tales como la adhesión, la migración, la proliferación, los flujos de Ca^{2+} intracelulares y las corrientes de K^+ hacia el exterior celular. El glutamato también protege a las células T activas de la muerte celular apoptótica inducida por antígeno (Ganor et al., 2003; Ganor & Levite, 2014). A su vez, el locus en donde se localiza *GRIA1* ha sido considerado como un locus de susceptibilidad para varias patologías inflamatorias o autoinmunes como el asma (Chen et al., 2010; López-Santillan et al., 2017).

En el 2010, Chen et al. identificaron por primera vez variaciones en el gen *GRIA1* asociadas con la hipersensibilidad a la L-ASP (rs4958351, rs10070447, rs6890057, rs4958676 y rs6889909), todas ellas en regiones intrónicas del gen. Sin embargo, el rol de la variante rs4958351 (G>A) en las reacciones de hipersensibilidad a la L-ASP es controversial. Según Chen et al. (2010), los pacientes con LLA portadores del alelo A tiene un mayor riesgo acumulado en el tiempo de tener una reacción alérgica a la L-ASP que los de genotipo GG. En concordancia, Rajic et al. (2015) encuentran un riesgo de ocurrencia de alergia a L-ASP mayor para los portadores del alelo A. Por el contrario, Kutszegi et al. (2015) reportaron que esta variante reduce significativamente el riesgo de presentar hipersensibilidad a L-ASP únicamente en pacientes de RA con LLA-T. Sin embargo, estos autores no encontraron ninguna asociación significativa al analizar LLA-B y T en conjunto.

Según la base de datos “1000 genomas”, la frecuencia del alelo A en poblaciones europeas alcanza el 36%, en tanto que en poblaciones africanas ronda el 25%. En poblaciones latinoamericanas esta frecuencia es del 21% (con excepción de PEL que es aproximadamente del 7%), mientras que en poblaciones asiáticas alcanza apenas el 3% (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

Por otra parte, este gen presenta otra variante (rs11951398; C>T), que se ubica en la región 3'UTR del mismo. Hasta el momento, este polimorfismo no ha sido vinculado ni con la alergia a la L-ASP ni con otros efectos adversos. Sin embargo debido a su ubicación génica, podría tener consecuencias a nivel traduccional y, en consecuencia, relación con la hipersensibilidad a la L-ASP. Según la base de datos “1000 genomas”, la frecuencia del alelo T en poblaciones africanas es del 13%, mientras que en poblaciones europeas y latinoamericanas es menor (6% y 4%,

MARCO TEÓRICO

respectivamente). Hasta el momento, en poblaciones asiáticas, este alelo no ha sido reportado (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

1.3.4 Daunorrubicina (DNR):

La daunorrubicina (DNR) es una antraciclina. Las antraciclinas, descubiertas en 1960, son antibióticos citotóxicos ampliamente usados en la terapia de distintos cánceres sólidos y neoplasias hematológicas (Geiger et al., 2010). Éstas actúan intercalándose en el ADN con la consiguiente inhibición de la biosíntesis de macromoléculas. El mecanismo de acción de éstas incluye estrés oxidativo mediante la formación de radicales libres y la posterior inducción de daño en el ADN, así como también la alteración del metabolismo energético (Gewirtz, 1999; Geiger et al., 2010). Pueden causar mielosupresión, mucositis, alopecia, lesiones graves de tejidos por extravasación y cardiotoxicidad. No obstante, los principales efectos adversos de este fármaco son a nivel cardiovascular, ya que provocan la perturbación de la señalización del calcio en el miocardio. Según el sexo, la edad, la dosis acumulada y los criterios de valoración medidos, entre el 9 y el 27% de los pacientes experimentan cardiotoxicidad, que se manifiesta en cambios estructurales y disfunción del ventrículo izquierdo. A su vez, un 5% de los pacientes padece insuficiencia cardíaca congestiva (Geiger et al., 2010; Laushke & Ingelman-Sundberg, 2019).

1.3.5 Metotrexato (MTX)

El MTX es un antimetabolito de la familia de los folatos. Es un análogo de la aminopterina (producto que deriva del ácido fólico) que, una vez dentro de la célula, inhibe la síntesis proteica y de los ácidos nucleicos (López-López et al., 2014). A pesar de su eficacia clínica, las altas dosis de MTX están asociadas con efectos adversos, incluyendo hepatotoxicidad, toxicidad hematológica y neurotoxicidad, que pueden conducir a la interrupción del tratamiento (Kaluzna et al., 2015). A pesar de ser un tema ampliamente debatido, los mecanismos fisiopatológicos exactos de la neurotoxicidad inducida por MTX aún no se comprenden en su totalidad. Una posible explicación es la alteración de la homeostasis del folato en el SNC. El deterioro neurológico asociado con la deficiencia de folato se caracteriza por síntomas como insomnio, olvido, convulsiones, irritabilidad, depresión y psicosis esquizoide.

MARCO TEÓRICO

Adicionalmente, el MTX puede causar un daño neuronal directo, manifestarse como necrosis coagulativa de la sustancia blanca, hinchazón axonal, desmielinización y astrocitosis (Vezmar et al., 2003; Bhojwani et al., 2014).

A modo de síntesis, la Tabla 1 muestra las distintas toxicidades descritas para cada fármaco administrado en la fase de inducción del tratamiento de LLA pediátrica.

Tabla 1. Fármacos y toxicidades. Con un tick (✓) se muestran las distintas toxicidades o efectos adversos asociados a los fármacos administrados en la fase de inducción

Toxicidad / Efectos adversos	Fármaco				
	GC	VCR	L-ASP	DNR	MTX
Mucositis		✓	✓	✓	✓
Cushing	✓				
Hiperglicemia	✓		✓		
Gastrointestinal			✓		
Hepática			✓		✓
Cardíaca	✓			✓	
Óseo	✓				
Pancreatitis			✓		
Hipersensibilidad			✓		
Neurológica		✓			✓

GC: Glucocorticoides. VCR: Vincristina. L-ASP: L-Asparaginasa. DNR: Daunrrubicina. MTX: Metotrexato

1.4 Ancestralidad

Las poblaciones latinoamericanas tienen las tasas de incidencia de LLA pediátrica más elevadas (Howlader et al., 2014; Quiroz et al., 2019). Respecto a la sobrevida, los niños afrodescendientes tienen la menor sobrevida seguido de los hispanos, los caucásicos y, por último, los asiáticos (Bhatia, 2011; Quiroz et al., 2019). A su vez, variantes genéticas frecuentes en poblaciones nativo americanas fueron asociadas con el riesgo de recaída de LLA (Yang et al., 2012). Lo que subyace a la menor tasa de sobrevida de las poblaciones hispanas son causas multifactoriales. La diferencia en la frecuencia de LLA de alto riesgo, las frecuencias de variantes relevantes para la farmacogenética, el acceso limitado a los servicios de salud, el tiempo hasta el diagnóstico de la enfermedad y la falta de adherencia al tratamiento podrían ser algunas de ellas (Bhatia, 2011).

MARCO TEÓRICO

A su vez, existen numerosos estudios que relacionan el componente ancestral genético y las toxicidades ocurridas durante el tratamiento de la LLA. Por ejemplo, en un estudio comparativo entre niños caucásicos y afroamericanos con LLA-preB, Renbarger et al. (2008) encontraron una mayor ocurrencia de neuropatías periféricas inducidas por VCR, así como también neuropatías de mayor severidad, en niños caucásicos. Estos autores plantean que la neurotoxicidad asociada a la VCR estaría relacionada con la sensibilidad a la misma que, a su vez, estaría influenciada con la ancestralidad del individuo. Asimismo, según Kahn et al. (2018), los niños hispanos presentan tasas más bajas de toxicidades óseas en comparación con aquellos no hispanos. En el mismo sentido, Yao et al. (2021) concluyen que los pacientes hispanos con LLA presentan un menor riesgo de sufrir fracturas y ON que los no hispanos, pero que son los niños de ancestralidad africana los que tienen el menor riesgo de sufrir estas toxicidades. Se sugiere, por tanto, que el componente ancestral africano presente en los niños hispanos debido a la mezcla genética de las poblaciones latinoamericanas, podría ser un factor de protección frente a las toxicidades óseas (Yao et al., 2021).

Por otro lado, el rol de la ancestralidad genética en la hipersensibilidad a L-ASP también ha sido investigado. Wacker et al. (2007) reportan una mayor frecuencia de reacciones alérgicas a la L-ASP en niños caucásicos con LLA en comparación con los hispanos o afrodescendientes. En concordancia, Chen et al. (2010), reportan que la ancestralidad nativoamericana está asociada con un menor riesgo a desarrollar hipersensibilidad a L-ASP. Sin embargo, Kahn et al. (2018) no encuentran diferencias significativas en la incidencia global de toxicidades asociadas a la L-ASP entre niños hispanos y no hispanos.

Otro ejemplo de cómo la ancestralidad genética influye en la respuesta a los fármacos es el caso de los genes *NUDT15* y *TPMT*. Variantes en estos explican gran parte de la variabilidad individual en la respuesta a 6-MP (Soler, 2021). La frecuencia de variantes en *NUDT15* y *TPMT* difiere notoriamente entre distintas poblaciones. Mientras que las variantes en *TPMT* son frecuentes en poblaciones de origen europeo (Sahasranaman et al., 2008), las variantes en *NUDT15* son más frecuentes en poblaciones asiáticas y raras en poblaciones europeas (Moriyama et al., 2016). En pacientes con LLA de Uruguay, Soler et al. (2018) encuentran que el

MARCO TEÓRICO

22% de los pacientes presentan variantes en los genes *TPMT* y/o *NUDT15*, y que el 40% de la toxicidad hematológica debido a 6-MP en fase de mantenimiento puede ser explicada por variantes en estos genes. A su vez, Burgueño-Rodríguez et al. (2020) encuentran una correlación negativa entre el componente genético ancestral nativoamericano y el número de leucopenias en la fase de mantenimiento dentro del grupo de pacientes que no presentaban variantes para estos genes

Según la historia, el territorio uruguayo previo a la conquista europea, lo ocupaban los grupos nativoamericanos Charrúas, Minuanes, Arachanes, Chanás y Guaraníes (Cabrera, 1992). La colonización de Uruguay se dio principalmente por portugueses, españoles (provenientes de Asturias, Islas Canarias y Galicia) y luso-brasileños (Pi & Vidart 1969; Sans et al., 1992; 1994). Uruguay recibió también, por causa del tráfico de esclavos, poblaciones africanas de diversos orígenes. Según Isola (1975), el 56% de los esclavos provenientes de África que ingresaron al Río de la Plata entre los años 1742 y 1806 eran Bantúes.

Desde el punto de vista genético, la población uruguaya es considerada una población trihíbrida (Sans, 1997; Bonilla et al. 2004; Hidalgo et al., 2005; Bonilla et al., 2015), con un aporte mayoritariamente europeo de entre 70-80% y, en menor proporción, nativoamericano (10-14%) y africano (6-9,5%) (Sans et al., 2021).

Esta estructura genética ancestral, que refleja la historia de la población uruguaya, convierte a nuestra población en un gran atractivo para realizar estudios farmacogenéticos. La mayor parte de las guías farmacogenéticas se basan en estudios provenientes de los Estados Unidos o Europa, en los que no se incluyen a las poblaciones latinoamericanas o, cuando lo hacen, son consideradas como un único gran grupo. América Latina es una región extensa, con una gran diversidad genética, con frecuencias o polimorfismos que no se encuentran en otras regiones, lo que no permite la fácil implementación de investigaciones realizadas en otras poblaciones.

2 RELEVANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Debido a que la tasa de cura de LLA pediátrica ha mejorado notoriamente en las últimas décadas, actualmente los esfuerzos para mantener la buena tasa de sobrevida se centran principalmente en intentar reducir las toxicidades ocurridas durante y luego del tratamiento. En los últimos años se ha descrito el potencial de los análisis farmacogenéticos/farmacogenómicos para mejorar el índice terapéutico en el tratamiento oncológico. Comprender la base genética de la respuesta a los fármacos y el riesgo de sufrir efectos adversos derivados del tratamiento, es uno de los principales objetivos de la farmacogenómica. Estos análisis permiten identificar aquellos pacientes que se beneficiarían de los cambios en los estándares del tratamiento, reduciendo así la incidencia de reacciones adversas y/o mejorando la respuesta al mismo. A su vez, esta estrategia podría ser económicamente beneficiosa para los centros de salud y ayudar a reducir los costos emocionales, sociales y económicos del paciente y sus familiares.

Esta tesis se enfocará en los fármacos PRED, VCR y L-ASP. Debido a que los principales efectos adversos de la administración de DNR son a nivel cardiovascular y que, normalmente, se manifiestan a largo plazo; no se analizarán posibles variantes genéticas asociadas con la DNR. A su vez, teniendo en cuenta que durante la fase de inducción el MTX es administrado en bajas dosis, por vía intratecal y únicamente en pacientes con SNC comprometido, en esta tesis tampoco se analizarán genes vinculados al MTX.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

El objetivo de esta tesis es identificar variantes genéticas relacionadas con los fármacos administrados durante la fase de inducción del tratamiento de la leucemia linfoblástica aguda pediátrica, y analizar su contribución a la respuesta y efectos adversos, considerando la ancestralidad genética individual.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de 13 polimorfismos en los genes *ACP1*, *ABCB1*, *ABCG2*, *CYP3A5*, *CEP72*, *ASNS* y *GRIA1* vinculados con la administración de Prednisona, Vincristina y L-Asparaginasa, en una muestra de pacientes con LLA.
- Determinar las frecuencias genotípicas y alélicas de tres polimorfismos en los genes *ABCB1*, *CYP3A5* y *ASNS* en una muestra control.
- Comparar las frecuencias genotípicas de la muestra de pacientes con las de la muestra control y las reportadas para otras poblaciones.
- Analizar el componente genético ancestral individual de la muestra de pacientes y la muestra control.
- Relevar, a partir de las historias clínicas de los pacientes, los datos clínicos, paraclínicos y los eventos adversos en la fase de inducción del tratamiento.
- Relevar, a partir de las historias clínicas de los pacientes, los datos de toxicidades neurológicas, osteomusculares y alergia a la L-Asparaginasa en todo el tratamiento.
- Analizar la relación entre las variantes genéticas de los 13 polimorfismos y la respuesta al tratamiento al día +8, +15 y +33.
- Determinar la relación entre las variantes genéticas de los 13 polimorfismos y los eventos de mucositis, cushing, hiperglicemias, toxicidad gastrointestinal y hepática ocurridos en la fase de inducción.

3 OBJETIVOS

- Determinar la relación entre los genotipos y: la alergia a la L-Asparaginasa, la toxicidad neurológica y la toxicidad osteomuscular, observadas durante todo el tratamiento.
- Determinar la relación entre el componente genético ancestral y las toxicidades.
- Evaluar el efecto de las variantes genéticas de los 13 polimorfismos junto con la ancestralidad sobre las toxicidades analizadas.

4 MUESTRAS Y METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

4.1 Muestra de pacientes

Esta investigación es un estudio de epidemiología molecular retrospectivo. La muestra se compone de 200 pacientes pediátricos (de entre 6 meses y 19 años de edad) diagnosticados con LLA, atendidos en el SHOP-CHPR y reclutados entre los años 2010 y 2020. A partir de una muestra de sangre periférica, se realizó la extracción del ADN mediante técnicas estándares de extracción salina y precipitación con alcohol (Miller et al., 1988). Las características generales de la muestra se exponen la Tabla 2. Debido a que el SHOP-CHPR es el servicio de referencia para esta enfermedad en nuestro país, los pacientes provienen de todo el territorio nacional.

Tabla 2. Características de la muestra de pacientes

<u>Sexo</u>	%	<u>Grupo de Riesgo</u>	%
Femenino	43,5	Estandar	17,5
Masculino	56,5	Intermedio	65,6
		Alto	16,9
<u>Edad al diagnóstico</u>	%	<u>SNC</u>	%
Hasta 1	3,7	1	86,1
1 a 5 años	53,9	2	7,5
de 6 a 15 años	40,3	3	6,4
más de 15 años	2,1		
<u>Immunofenotipo</u>	%	<u>Recaída (< 5 años)</u>	%
Estirpe B	92,2	Si	31,5
Estirpe T	7,3	No	68,5
Estirpe Mixta	0,5		

SNC: Sistema Nervioso Central

4.2 Muestra control

Esta consiste en ADN de 200 pacientes pediátricos que, en 2006, concurren al CHPR de manera ambulatoria para realizarse exámenes de rutina. Estas muestras fueron obtenidas del banco de ADN del LGMH.

4.3 Consideraciones éticas

Las muestras de sangre utilizadas en esta investigación se obtuvieron en el SHOP-CHPR (Fundación Pérez Scremini), al momento en que los pacientes concurren a realizarse sus análisis de seguimiento de su patología. La participación fue voluntaria y previo a la firma de un consentimiento informado por sus responsables adultos y un asentamiento en los casos que correspondiese (concepto de autonomía progresiva). La obtención y uso de estas muestras fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina, (UdelaR) para el proyecto de Iniciación a la Investigación 2011 (CSIC) (Exp. N°071140-001267-11), y por el comité de ética del CENUR Litoral Norte para el proyecto CSIC-VUSP (Exp. N° 311170-000332-17), ANII-FMV (Exp. 311170-001762-18), y para el proyecto Iniciación a la Investigación (CSIC) (Exp. 311170-001142-19).

4.4 Determinación de las variantes génicas

Se genotiparon un total de 13 polimorfismos en los genes *ACP1*, *ABCB1*, *ABCG2*, *CYP3A5*, *CEP72*, *ASNS* y *GRIA1* mediante las técnicas de PCR, PCR-RFLP, PCR-HRM y Sondas Taqman (Tabla 3).

El polimorfismo rs2032582 (G>T/A) requirió 2 aproximaciones complementarias según el alelo a identificar. El alelo G se identificó por la acción de la enzima BseYI y el alelo A fue determinado mediante la digestión con la enzima de restricción RsaI (Tabla 3). La validación de los genotipos se realizó mediante secuenciación de Sanger (Macrogen, Inc). Para las variantes poco frecuentes se secuenciaron todos los pacientes portadores de alelos variantes, así como también un número similar de pacientes no portadores. En el caso de las variantes frecuentes, se seleccionó un 10% de la muestra, considerando la proporción de genotipos encontrados.

MUESTRAS Y METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

Tabla 3. Genes y polimorfismos analizados

Fármaco asociado	Gen	Polimorfismo	Metodología	
PRED	<i>ACP1</i>	rs11553746	Sondas Taqman	
		rs12714403	PCR-RFLP (XmnI)	
	<i>ABCG2</i>	rs2231137	PCR-RFLP (Bmrl)	
VCR	<i>ABCB1</i>	rs2032582	PCR-RFLP (RsaI)	
			PCR-RFLP (BseYI)	
		rs9282564	Sondas Taqman	
	<i>CEP72</i>	rs924607	PCR-RFLP (Hpy188III)	
	<i>CYP3A5</i>		rs776746	Secuenciación Sanger
			rs10264272	PCR-HRM ^{*1}
		rs41303343	PCR-HRM ^{*1}	
L-ASP	<i>ASNS</i>	rs3832526	PCR ^{*2}	
			rs1049674	Sondas Taqman
	<i>GRIA1</i>		rs4958351	PCR-HRM
			rs11951398	PCR-RFLP (BsaAI)

PRED: Prednisona. VCR: Vincristina. L-ASP: L-Asparaginasa. En el caso de la técnica PCR-RFLP se indica entre paréntesis la enzima de restricción utilizada. *1 Chambliss et al., 2017; *2 Akagi et al., 2009.

Para corroborar que las frecuencias genotípicas en la muestra de pacientes no se encontraban sesgadas, se genotiparon tres de los 13 polimorfismos (rs2032582, rs776746 y rs3832526) en 96 individuos de la muestra control.

En el caso de las variantes en el gen *CYP3A5* (alelos *3, *6 y *7), los pacientes fueron clasificados como "expresores" y "no expresores". Dentro del grupo expresores se encuentran aquellos pacientes que presentan al menos un alelo funcional (*1). Los pacientes considerados como "no expresores" son homocigotas o heterocigotas compuestos para los alelos variantes.

4.5 Determinación de la ancestralidad genética

El componente genético ancestral individual y global para la muestra de pacientes y la muestra control fue determinado mediante el genotipado de 45 AIMs (marcadores informativos de ancestralidad) autosómicos (ANEXO, Tabla 2). La selección de los marcadores (a partir de la lista publicada por Yaeger et al. (2008)) y el genotipado de

MUESTRAS Y METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

153 pacientes y los 200 controles fue realizado para la tesis de doctorado de la Dra. Ana María Soler (Soler Cantera, 2021). Las restantes muestras fueron genotipadas para esta tesis, mediante la técnica de *MassArray SNP genotyping* por la empresa CD Genomics (45-1 Ramsey Road, Shirley, NY 11967).

4.6 Datos clínicos y paraclínicos

4.6.1 Relevamiento de información

A partir de las historias clínicas de los pacientes se obtuvieron los datos de:

- Recuento de leucocitos (GB) y blastos al día +1, +8, +15 y +33
- Enfermedad mínima residual al día +15 y +33
- Presencia de recaídas y/o fallecimientos
- Para cada uno de los 33 días de la fase de inducción:
 - Administración de PRED, VCR, L-ASP, DAUNO, MTX.
 - Administración concomitante de otros fármacos.
 - Clínica: fiebre, adeno-hepato-esplenomegalias, sangrados (hemorragias, petequias, equimosis), infección, mucositis, eritemas, trastornos gastrointestinales, alergias, cushing, dolores musculares y óseos, hiperglicemias y eventos neurológicos.
 - Datos de hemograma: hematocrito, niveles de hemoglobina, recuento de GB, recuento de neutrófilos, porcentaje de linfocitos, monocitos y eosinofilos, cantidad de blastos y recuento de plaquetas.
 - Datos del funcional renal: urea, creatinina, ácido úrico, sodio y calcio iónico en orina.
 - Datos de funcional hepático: Transaminasas (GPT y GOT), bilirrubina total (BT) y directa (Bd), fosfatasa alcalina (FA), albumina (ALB), y lactato deshidrogenasa (LDH).
- Eventos osteomusculares y neurológicos en fases post-inducción
- Formulaciones de L-ASP administrada y presencia de alergia a la L-ASP durante todo el tratamiento.

4.6.2 Clasificación y categorización de efectos adversos

Las toxicidades mucositis, cushing, hiperglicemias esteroideas, hipoalbuminemia, gastrointestinal, hepática, osteomuscular y neurológica se analizaron según la presencia o ausencia. Adicionalmente, se calculó el número de eventos en que el paciente tuvo mucositis, cushing, toxicidad gastrointestinal y hepática.

El cushing y la mucositis se clasificaron en grados de severidad según los criterios del *Common Terminology Criteria for Adverse Events* (CTCAE), del NIH-NCI (grados 1, 2 y 3).

Como eventos gastrointestinales se incluyeron los síntomas de náuseas, vómitos, diarrea, estreñimiento, distensión abdominal y epigastralgia. Los valores de BT, GPT, GOT también fueron clasificados en grados de severidad según CTCAE. A partir de éstas, se definió como evento de toxicidad hepática, los funcionales hepáticos con valores de BT, GPT y/o GOT de grado 3 y 4.

Los valores de albumina fueron analizados para determinar la presencia de hipoalbuminemia (valores de albúmina <3,5g/dL), y si la misma era considerada ligera (3,0-3,4 g/dL), moderada (2,4-2,9 g/dL), o severa (<de 2,4 g/dL) (Maciques Rodríguez et al., 2013). La hipoalbuminemia moderada y severa fueron clasificadas como toxicidad grado 2 y 3, respectivamente.

Como eventos osteomusculares fueron considerados: la atrofia muscular, paresia, pérdida de fuerza en miembros, osteonecrosis, impotencia funcional de algún miembro, dificultad en la marcha y dolores de miembros o articulaciones.

Por otro lado, la toxicidad neurológica fue definida siguiendo los criterios de la Sociedad Española de Oncología Médica, según la presencia de alguno de los siguientes síntomas: confusión progresiva, alucinaciones, afasia, alteración en el habla, letargia, somnolencia, convulsiones, ataxia, dismetría, disartria, nistagmo, parálisis facial, movimientos oculares rápidos, pérdida de sensibilidad en extremidades y parestesias.

Por último, teniendo en cuenta las recaídas y los fallecimientos como eventos, se determinó la SLEventos a cinco y tres años.

4.7 Tratamiento de datos

Los análisis estadísticos y de variabilidad intra e interpoblacional se llevaron a cabo utilizando el *software* IBM SPSS Statistics 22 y Arlequin 3.5 (Excoffier & Lisher, 2010), con un intervalo de confianza del 95%. Los gráficos fueron realizados mediante el programa RStudio versión 4.0.0.

Para cada uno de los polimorfismos, se calcularon las frecuencias genotípicas y alélicas por el método de conteo manual y se determinó si se encontraban en equilibrio de Hardy Weinberg (EHW), mediante el test de Chi-cuadrado.

Las frecuencias genotípicas para la muestra de LLA fueron comparadas mediante el test de diferenciación poblacional con las de la muestra control y las de otras poblaciones mundiales (1000 Genomes Project Consortium, 2015), relacionadas con la composición genética uruguaya. Como europeas se eligió la población ibérica (IBS), la población toscana (TSI) y los residentes de Utah (CEU), mientras que como poblaciones africanas se consideró la población Yoruba de Nigeria (YRI) y la población Luhya de Kenia (LWK). Debido a que no existen datos de poblaciones nativas de América Latina en la base de datos “1000 genomas”, se eligieron las poblaciones asiáticas de la etnia Han, provenientes de Beijin (CHB) y del sur de china (CHS). Por último, como poblaciones latinoamericanas se eligieron la población colombiana de Medellín (CLM), la mejicana de Los Ángeles (MXL), la peruana de Lima (PER) y la puertorriqueña de Puerto Rico (PUR) (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

La normalidad y homogeneidad de varianzas de las variables fueron analizadas mediante los test de Kolmogorov-Smirnov y test de Levene, respectivamente.

La ancestralidad genética individual de los pacientes y los 200 controles, así como el componente genético ancestral global de ambas muestras fueron calculadas mediante el programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Se utilizaron 100.000 iteraciones de *burn-in period* y 1.000.000 de iteraciones adicionales. Se consideraron tres poblaciones parentales compuestas por 42 europeos (Panel norteamericano de Coriell), 37 africanos occidentales (africanos que viven en Londres y Carolina del Sur) y 30 nativo americanos (15 Mayas y 15 nahuas), que fueron genotipados mediante GeneChip Human Mapping 100K (Affymetrix). Estos

MUESTRAS Y METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

datos fueron amablemente proporcionados por el Dr. Bertoni (Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo) y la Dra. Fejerman (Universidad de California, San Francisco) al LGMH. Los datos de ancestralidad individual obtenidos para cada muestra, fueron utilizados para obtener los estadísticos descriptivos (media, desvío estándar, máximo y mínimo) de cada componente ancestral (europeo, nativo americano y africano). A su vez, se comprobó si los datos tenían una distribución normal mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y se probó la homocedasticidad mediante el análisis de homogeneidad de varianzas (Test de Levene). Se calculó el EHW para los 45 AIMS y se determinaron las proporciones globales de los tres componentes ancestrales para la muestra LLA y la muestra control, según los 45 AIMS. Finalmente, para comparar si ambas muestras presentaban la misma ancestralidad se aplicó el test de Mann-Whitney. Para categorizar la ancestralidad se determinaron valores de corte para cada componente ancestral, basados en cada una de sus medias.

La relación entre los indicadores de la respuesta al tratamiento y cada una de las variantes genéticas se analizó mediante el test de Mann-Whitney (2 genotipos) ó Kruskal Wallis (más de 2 genotipos).

Para estudiar la respuesta a la PRED se establecieron tres valores de corte para el número de blastos al día +8: 1000 (protocolo ALL IC-BFM 2009), 100 y cero (Gasic et al., 2018). Se realizó un análisis de riesgo entre cada uno de los puntos de corte y las dos variantes del gen *ABCB1* (rs2032582 y rs9282564), aplicando un test de *odd ratio* (OR). En aquellos casos donde se encontró una asociación entre la variante y el número de blastos al día +8, y no se ajustaba a ninguno de los valores de corte propuestos, se realizó una curva COR (*Receiver Operating Characteristic*) para determinar el mejor punto de corte.

La relación entre la ancestralidad y la respuesta a la PRED se analizó mediante el test de Mann Whitney (MW), entre cada componente genético ancestral y el número de blastos en SP al día +8, según los valores de corte de cero, 100 y 1000 blastos.

El análisis entre las toxicidades y las variantes genéticas se realizó mediante el test de Chi cuadrado. En la Tabla 4 se muestran los genes analizados para cada una de las toxicidades.

MUESTRAS Y METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

Tabla 4. Genes y toxicidades. Con un cruz (X) se indican los genes analizados para cada toxicidad.

Genes	Toxicidades							
	Mucositis	Síndrome de cushing	Hiperglicemia	Gastro	Hepática	Alergia a L-ASP	Osteo-muscular	Neuro
ACP1							X	
ABCB1	X	X	X	X	X		X	X
ABCG2	X	X		X	X		X	
CEP72								X
CYP3A5	X	X		X	X			X
ASNS	X	X	X	X	X	X		
GRIA1						X	X	

Gasto: Gastrointestinal. L-ASP: L-Asparaginasa. Neuro: Neurotoxicidad

Para aquellos casos en los que el test de Chi cuadrado mostró diferencias significativas, se realizaron análisis de riesgo (OR) entre cada una de las variantes y: 1) la presencia/ausencia de la toxicidad y 2) la severidad de la toxicidad (Gdo. 1 vs Gdos. 2 y 3). A su vez, se estableció la relación entre las variantes y el número de eventos de dicha toxicidad (Test de MW).

Aplicando el test de OR, se analizó la relación entre presentar alergia a la L-ASP y la clasificación en grupos de riesgo. Asimismo, se analizó el riesgo de recaer habiendo desarrollado alergia a la L-ASP o neurotoxicidad.

A su vez, se analizó la posible asociación entre las toxicidades y los tres componentes ancestrales (test de MW). Para aquellas asociaciones estadísticamente significativas, se realizó un OR utilizando los valores de corte del componente ancestral.

Por último, para realizar un análisis global de la toxicidad, que incluyese las variantes genéticas y la ancestralidad, se realizaron árboles de clasificación y regresión según el algoritmo CHAID (Chi-squared Automatic Interaction Detector). Para este análisis se utilizaron las toxicidades como variables dependientes y como variables independientes, las variantes genéticas y la ancestralidad nativo americana categorizada. Para el análisis de la alergia a la L-ASP también se incluyó el grupo de riesgo.

5 RESULTADOS

5.1 Frecuencias genotípicas y alélicas

Las frecuencias genotípicas y alélicas para las 13 variantes analizadas en la muestra de pacientes se detallan en la Tabla 5. Con excepción de la variante rs1049674 del gen *ASNS*, todas las demás se encontraron en EHW.

Los tres polimorfismos analizados en la muestra control se ajustan a lo esperado por el modelo de EHW. A su vez, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias genotípicas de la muestra de pacientes y la muestra control (Tabla 6).

En la Tabla 7 se muestran las frecuencias del alelo menos común de las 13 variantes para la muestra de pacientes y de las poblaciones IBS, TSI, CEU, YRI, LWK, CHB, CHS, CLM, MXL, PEL y PUR (1000 Genomes Project Consortium, 2015). Resaltado en “negrita” se observan aquellos valores que, según el test de diferenciación poblacional, presentan diferencias estadísticamente significativas con la muestra de pacientes. (ANEXO, Tabla 1). Para la mayoría de los polimorfismos, la muestra de pacientes difiere de las poblaciones africanas, seguido de las asiáticas y de PEL y, en menor medida, con las poblaciones europeas y el resto de las poblaciones latinoamericanas (Tabla 7).

RESULTADOS

Tabla 5. Frecuencias genotípicas y alélicas de la muestra de pacientes

Gen	Variante	Genotipo	N	Frecuencia	Alelo	Frecuencia	EHW <i>p</i> -valor
ACP1	rs12714403	GG	131	0,804	G	0,899	1,000
		AG	31	0,190	A	0,101	
		AA	1	0,006			
	rs11553746	CC	83	0,522	C	0,726	0,842
		CT	65	0,409	T	0,274	
		TT	11	0,069			
ABCB1	rs2032582	CC	56	0,354	C	0,611	0,683
		CA	77	0,487	A	0,370	
		CT	4	0,025	T	0,019	
		AA	19	0,120			
		AT	2	0,013			
		TT	0	0,000			
	rs9282564	TT	155	0,886	T	0,943	0,725
		TC	20	0,114	C	0,057	
		CC	0	0,000			
ABCG2	rs2231137	CC	110	0,696	C	0,839	0,768
		CT	45	0,285	T	0,161	
		TT	3	0,019			
CYP3A5	rs776746	TT	3	0,019	T	0,113	0,424
		TC	30	0,189	C	0,887	
		CC	126	0,792			
	rs10264272	CC	159	0,994	C	0,997	1,000
		CT	1	0,006	T	0,003	
		TT	0	0,000			
	rs41303343	A/A	158	0,994	A	0,997	1,000
		A-/AA	1	0,006	AA	0,003	
		AA/AA	0	0			
CEP72	rs924607	CC	61	0,377	C	0,593	0,193
		CT	70	0,432	T	0,407	
		TT	31	0,191			
ASNS	rs3832526	2R2R	101	0,605	2R	0,766	0,200
		2R3R	54	0,323	3R	0,234	
		3R3R	12	0,072			
	rs1049674	TT	99	0,623	T	0,811	0,001
		TA	60	0,377	A	0,189	
		AA	0	0,000			
GRIA1	rs4958351	GG	80	0,516	G	0,710	0,439
		GA	60	0,387	A	0,290	
		AA	15	0,097			
	rs11951398	CC	142	0,899	C	0,949	1,000
		CT	16	0,101	T	0,051	
		TT	0	0,000			

N: Número de de pacientes. EHW: Equilibrio de Hardy-Weinberg

RESULTADOS

Tabla 6. Comparación entre las frecuencias genotípicas de pacientes y controles

Genotipo	Muestra de pacientes			Muestra control			<i>p</i> -valor *
	N	Frecuencia	EHW	N	Frecuencia	EHW	
rs2032582, ABCB1							
CC	56	0,354		32	0,333		
CA	77	0,487		45	0,469		
CT	4	0,025	0,683	4	0,042	0,949	0,875
AA	19	0,120		13	0,135		
AT	2	0,013		2	0,021		
rs776746, CYP3A5							
TT	3	0,019		2	0,022		
TC	30	0,189	0,424	23	0,247	1,000	0,481
CC	126	0,792		68	0,731		
rs3832526, ASNS							
2R/2R	101	0,605		66	0,688		
2R/3R	54	0,323	0,200	24	0,250	0,092	0,255
3R/3R	12	0,072		6	0,063		

N: número de individuos. EHW: Equilibrio de Hardy-Weinberg. *: *p*-valor para el Test de diferenciación poblacional

RESULTADOS

Tabla 7. Frecuencia del alelo menos común para la muestra de pacientes (Uruguay) y otras poblaciones mundiales.

Gen	Variante	Alelo menos común	Frecuencia del alelo menos común											
			Uruguay	IBS*	TSI*	CEU*	YRI*	LWK*	CHB*	CHS*	CLM*	MXL*	PEL*	PUR*
ACPI	rs12714403	A	0,101	0,117	0,070	0,141	0,019	0,010	0,112	0,119	0,090	0,102	0,129	0,091
	rs11553746	T	0,274	0,304	0,285	0,359	0,107	0,076	0,359	0,243	0,234	0,211	0,235	0,240
ABCB1	rs2032582	A	0,370	0,365	0,402	0,429	0,000	0,015	0,408	0,343	0,415	0,406	0,294	0,365
	rs9282564	C	0,057	0,047	0,061	0,059	0,000	0,005	0,000	0,000	0,053	0,039	0,012	0,024
ABCG2	rs2231137	T	0,161	0,051	0,084	0,035	0,056	0,116	0,306	0,338	0,144	0,227	0,459	0,149
CYP3A5	rs776746	T	0,113	0,075	0,051	0,040	0,833	0,879	0,311	0,271	0,186	0,234	0,124	0,264
	rs10264272	T	0,003	0,009	0,005	0,000	0,167	0,242	0,000	0,000	0,011	0,023	0,012	0,043
	rs41303343	insA	0,006	0,000	0,000	0,000	0,120	0,116	0,000	0,000	0,000	0,000	0,006	0,005
CEP72	rs924607	T	0,407	0,397	0,458	0,384	0,088	0,061	0,408	0,314	0,325	0,297	0,294	0,341
ASNS	rs3832526	3R	0,234	0,154	0,140	0,106	0,185	0,202	0,267	0,300	0,207	0,328	0,388	0,245
	rs1049674	A	0,189	0,262	0,234	0,263	0,000	0,005	0,112	0,091	0,202	0,188	0,135	0,168
GRIA1	rs4958351	A	0,290	0,294	0,411	0,354	0,232	0,172	0,029	0,024	0,271	0,219	0,071	0,264
	rs11951398	T	0,051	0,051	0,098	0,030	0,148	0,116	0,000	0,000	0,090	0,008	0,006	0,039

En caso de haber mas de un alelo posible para el polimorfismo, se tomó la frecuencia del segundo alelo menos frecuente. En sombreado y negrita se muestran las poblaciones que difieren significativamente con la muestra de Uruguay (test de diferenciación poblacional). IBS: Ibéricos de España. TSI: Toscanos de Italia. CEU: Residentes de Utha con ancestralidad del norte y oeste europeo. YRI: Yorubas en Ibadan, Nigeria. LWK: Luhya en Webuye, Kenia. CHB: Han en Beijín, China. CHS: Han del sur, China. CLM: Colombianos de Medellín. MXL: Población de Los Ángeles con ancestralidad mejicana. PEL: Peruanos de Lima. PUR: Puertorriqueños (* 1000 Genomes Project Consortium, 2015).

RESULTADOS

5.2 Ancestralidad

Las frecuencias genotípicas y alélicas de cada uno de los 45 AIMs utilizados tanto para la muestra de pacientes como para la muestra de controles se presentan en la Tabla 2 del ANEXO.

El análisis del EHW realizado para la muestra de pacientes mostró que seis de los 45 AIMs analizados no se encontraban en EHW (rs1898280, rs4013967, rs10508349, rs249847, rs4762106 y rs1451928), mientras que en la muestra control fueron cinco los AIMs que no estaban en EHW (rs1934393, rs6684063, rs10501474, rs4762106 y rs10491097). Por este motivo, los análisis de la ancestralidad individual y global para cada muestra fueron realizados tanto incluyendo como excluyendo estos AIMs.

Ambas muestras presentaron un componente ancestral mayoritario de origen europeo, seguido del componente nativoamericano y por último del africano (Tabla 8). El componente que presentó mayor variabilidad para ambas muestras fue el africano y el de menor variabilidad el componente europeo. Al excluir del análisis aquellos AIMs que no estaban en EHW, las proporciones de los componentes ancestrales no difieren de manera significativa (datos no mostrados). Por esta razón, los análisis de ancestralidad fueron realizados con la información de los 45 AIMs.

Tabla 8. Ancestralidad global de la muestra de pacientes y controles.

Componente ancestral	Pacientes	Control	MW <i>p</i> -valor
	Media ± D.E. (%)	Media ± D.E. (%)	
Europeo	69,2 ± 14,0	70,4 ± 11,8	0,614
Nativoamericano	20,1 ± 12,3	17,1 ± 9,9	0,029
Africano	10,7 ± 7,4	12,5 ± 8,4	0,030

D.E.: Desvío Estándar. MW: Test de Mann Whitney

A nivel individual, la distribución de los tres componentes ancestrales presenta una gran heterogeneidad (Figura 7). La proporción de cada componente ancestral para cada uno de los pacientes y controles se detalla en la Tabla 3 y 4 del ANEXO, respectivamente.

RESULTADOS

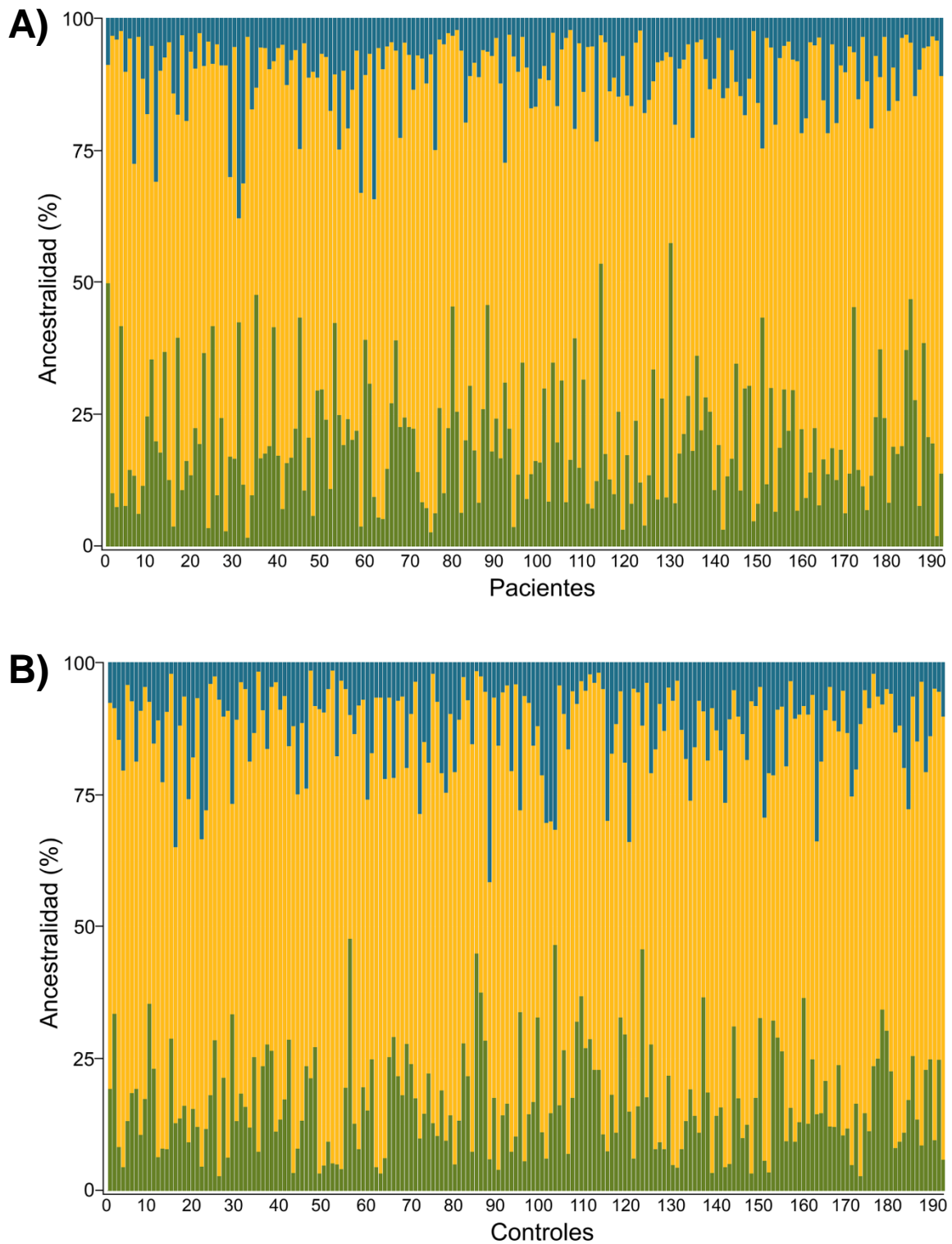


Figura 7. Ancestralidad individual de pacientes y controles. Cada barra representa un individuo. Para cada uno se muestra el porcentaje de cada componente ancestral: africano (azul), europeo (amarillo) y nativoamericano (verde). **A)** Pacientes. **B)** Controles.

RESULTADOS

5.3 Respuesta al tratamiento, variantes genéticas y ancestralidad

Respecto al análisis entre las variantes y los indicadores de respuesta al tratamiento se determinó que, a excepción de la variante rs9282564 (*ABCB1*), las restantes 12 no se encontraron asociadas con ninguno de los tres indicadores. La variante rs9282564 se encontró asociada únicamente con el número de blastos en SP al día +8 (Tabla 9). La media del número de blastos para el grupo de pacientes con genotipo TT para esta variante fue de 210,6, mientras que para aquellos de genotipo TC fue de 408,9.

Tabla 9. Asociación entre las variantes genéticas y los indicadores de respuesta al tratamiento

Gen	Variante	p -valor *		
		N° BL día 8	EMR día 15	EMR día 33
ACP1	rs12714403	0,370	0,745	0,062
	rs11553746	0,939	0,876	0,988
ABCB1	rs2032582	0,711	0,829	0,631
	rs9282564	0,022	0,073	0,819
ABCG2	rs2231137	0,276	0,419	0,873
CYP3A5	rs776746	0,154	0,449	0,289
	rs10264272	0,655	0,513	0,285
	rs41303343	0,393	0,687	0,292
CEP72	rs924607	0,885	0,189	0,722
ASNS	rs3832526	0,853	0,775	0,964
	rs1049674	0,633	0,272	0,143
GRIA1	rs4958351	0,977	0,344	0,487
	rs11951398	0,661	0,713	0,157

N°BL: número de blastos en sangre periférica. EMR: Enfermedad mínima residual. *: p-valor para el Test de Kruskal Wallis o Mann Whitney

RESULTADOS

5.3.1 Respuesta a la Prednisona (PRED)

En relación a la respuesta a la PRED, el 45% (N=75) de los pacientes tuvieron un conteo de blastos positivo al día +8. A su vez, el 33% (N=56) presentaron valores mayores a 100 blastos, mientras que el 5,9% (N=10) tenían más de 1000 blastos en SP al día +8. Según el protocolo ALL IC-BFM 2009, estos últimos serían los pacientes que no responden adecuadamente a la PRED.

Respecto a la relación entre las dos variantes en el gen *ABCB1* y el número de blastos en SP al día +8, los resultados obtenidos no muestran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de pacientes con y sin variantes para los tres valores de corte analizados (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis de las variantes en el gen *ABCB1* y el número de blastos al día +8

	N°BL		OR	N°BL		OR	N°BL		OR
	= 0	≠ 0	[95%IC]	≤100	>100	[95%IC]	≤1000	>1000	[95%IC]
	N	N	p-valor	N	N	p-valor	N	N	p-valor
rs2032582									
CC	24	26	0,67	57	26	0,74	78	5	0,74
CA/CT/AA/AT	48	35	[0,33-1,36]	31	19	[0,36-1,55]	46	4	[0,19-2,88]
(N=133)			0,271			0,431			0,661
rs9282564									
TT	72	55	2,24	86	41	2,331	119	8	1,75
TC	7	12	[0,83-6,08]	9	10	[0,88-6,17]	17	2	[0,34-8,94]
(N=146)			0,112			0,089			0,501

N°BL: número de blastos en sangre periférica. N: número de pacientes. OR: *odd ratio*. IC: Intervalo de Confianza.

El análisis de curvas COR para encontrar un nuevo valor de corte del número de blastos en SP al día +8 según la presencia de la variante rs9282564 estableció que 344 blastos es el valor que mejor clasifica a los pacientes (AUC = 0,649 y p-valor = 0,036). En aquellos pacientes con más de 344 blastos se observó un riesgo mayor

RESULTADOS

de no culminar el tratamiento, recaer y no presentar una SLEventos > 3 y 5 años (datos no mostrados).

En relación con la ancestralidad, se encontraron diferencias estadísticamente significativas únicamente entre el componente nativoamericano y el número de blastos al día +8, según el valor de corte de 1000. Específicamente, tener mayor proporción de este se encontró asociado a valores menores de 1000 blastos al día +8 (Figura 8). De hecho, no fue posible realizar un análisis de riesgo con un valor de corte de 20% para el componente nativo americano ya que todos los pacientes con más del 20% tenían menos de 1000 blastos. El análisis de ancestralidad para el valor de corte 344 no fue significativo (datos no mostrados).

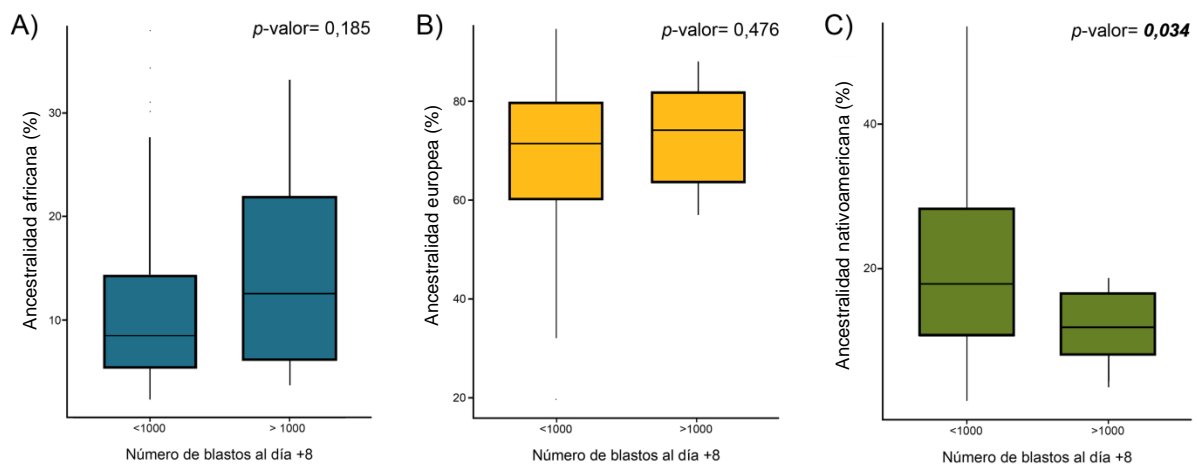


Figura 8. Relación entre el componente ancestral y el número de blastos al día +8. En cada gráfico se muestra la relación entre un componente genético ancestral y el número de blastos al día +8, según el valor de corte de 1000. En el borde superior derecho de cada gráfico se indica el p -valor para el test de MW. **A)** Africano. **B)** Europeo. **C)** Nativoamericano.

RESULTADOS

5.4 Toxicidades en la fase de inducción, variantes genéticas y ancestralidad

Del total de pacientes incluidos en la muestra LLA (N=200), se tuvo acceso a 184 historias clínicas.

5.4.1 Mucositis

El 24% (N=44) de los pacientes sufrieron mucositis oral durante la fase de inducción, presentando el 32% de ellos mucositis de grado dos y tres.

Al analizar la relación entre las variantes génicas y la presencia de mucositis, se encontraron diferencias significativas de desarrollar mucositis entre los grupos expresores y no expresores de *CYP3A5*, y entre los genotipos de la variante rs3832526 del gen *ASNS*. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas con las variantes de *ABCB1*, *ABCG2* y el rs1049674 de *ASNS* (Tabla 11).

Los pacientes no expresores de *CYP3A5*, al igual que los de genotipo 3R/3R del gen *ASNS* presentan un riesgo significativamente mayor de desarrollar mucositis que aquellos pacientes expresores y los portadores del alelo 2R, respectivamente (Tabla 12).

A su vez, el grupo de pacientes no expresores de *CYP3A5*, al igual que los pacientes de genotipo 3R/3R de la variante rs3832526 (*ASNS*) presentan un número significativamente mayor de eventos de mucositis (p - valor = 0,034 y 0,001, respectivamente). Sin embargo, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre ninguna de las variantes estudiadas y la presencia de mucositis severa (datos no mostrados).

RESULTADOS

Tabla 11. Relación entre las variantes genéticas y la mucositis

Genes, variantes y genotipos		Mucositis (N)		χ^2 p-valor
		Ausencia	Presencia	
ABCB1				
rs2032582	CC	41	12	0,757
	CA	51	18	
	CT	3	0	
	AA	0	4	
	AT	1	1	
rs9282564	TT	108	33	0,436
	TC	13	6	
ABCG2				
rs2231137	CC	77	23	0,417
	CT	28	12	
	TT	3	0	
CYP3A5	Expresores	25	2	0,033
	No expresores	86	31	
ASNS				
rs3832526	2R2R	73	17	0,004
	2R3R	37	11	
	3R3R	4	7	
rs1049674	TT	68	24	0,352
	TA	42	10	

N: número de pacientes. χ^2 : Test de Chi cuadrado

Tabla 12. Análisis del riesgo de desarrollar mucositis en función de los genotipos de CYP3A5 y ASNS

Genes, variantes y genotipos		Mucositis (N)		OR [95%IC] p-valor
		Ausencia	Presencia	
CYP3A5	expresores	25	2	4,55 [1,01-20,15] 0,049
	no expresores	86	31	
ASNS				
rs3832526	2R2R / 2R3R	110	28	6,88 [1,88-25,14] 0,004
	3R3R	4	7	

N: número de pacientes. OR: *odd ratio*. IC: Intervalo de confianza.

RESULTADOS

En relación a la ancestralidad y la mucositis, no se encontraron diferencias significativas entre la presencia/ausencia de esta toxicidad y ninguno de los componentes ancestrales (datos no mostrados).

El análisis de clasificación y regresión de la mucositis considera a la variante rs3832526 (ASNS) como la variable de mayor peso. A su vez, los pacientes portadores del alelo 2R fueron clasificados según si son expresores o no expresores de *CYP3A5*. Según los resultados obtenidos de este análisis, el componente ancestral no estaría relacionado con la presencia de mucositis (Figura 9).

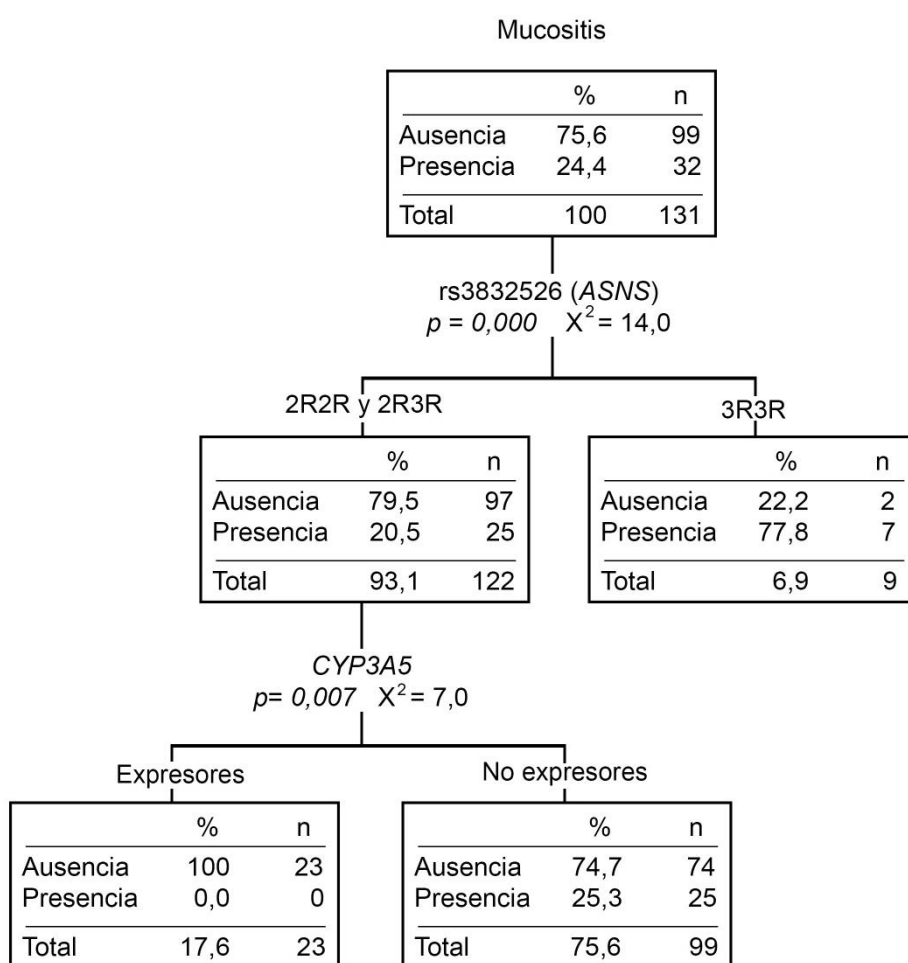


Figura 9. Árbol de clasificación para la mucositis. Se consideró como variable dependiente la presencia/ausencia de mucositis y como variables independientes las variantes en los genes *ABCB1*, *ABCG2*, *CYP3A5* y *ASNS* y la ancestralidad nativoamericana (mayor o menor a 20%). n: número de pacientes. p = p -valor. X^2 = coeficiente de Chi cuadrado

5.4.2 Síndrome de Cushing

De los 184 pacientes estudiados, el 28% (N=51) presentó al menos un evento de cushing en la fase de Inducción. Según el análisis realizado entre las variantes genéticas y la presencia/ausencia de cushing, el rs2032582 (*ABCB1*) y el rs1049674 (*ASNS*) influirían en la presencia de esta toxicidad (Tabla 13). Sin embargo, cuando se analizó el riesgo en función de los genotipos y/o alelos del rs2032582 no se observaron diferencias significativas. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los genotipos y el número de eventos de cushing o el grado de severidad del mismo (datos no mostrados).

En relación al rs1049674 (*ASNS*), aquellos pacientes con genotipo TA presentaron un riesgo significativamente mayor de sufrir cushing en relación a los de genotipo TT (Tabla 14). Por otra parte, se encontró una asociación entre esta variante y el número de eventos (p -valor = 0,005), donde los individuos de genotipo TA presentaron mayor número de eventos de cushing que los de genotipo TT. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de esta variante y el grado de severidad (datos no mostrados).

La presencia/ausencia de esta toxicidad no mostró diferencias estadísticamente significativas respecto a ninguno de los componentes ancestrales analizados (datos no mostrados).

RESULTADOS

Tabla 13. Relación entre las variantes genéticas y el síndrome de cushing

Genes y variantes		Cushing (N)		χ^2 p-valor
		Ausencia	Presencia	
ABCB1				
rs2032582	CC	37	16	0,033
	CA	54	15	
	CT	0	3	
	AA	11	6	
	AT	2	0	
rs9282564	TT	103	38	0,953
	TC	14	5	
ABCG2				
rs2231137	CC	75	25	0,481
	CT	26	14	
	TT	2	1	
CYP3A5	Expresores	22	5	0,267
	No expresores	83	34	
ASNS				
rs3832526	2R2R	61	29	0,241
	2R3R	39	9	
	3R3R	8	3	
rs1049674	TT	73	19	0,011
	TA	31	21	

N: número de pacientes. χ^2 : Test de Chi cuadrado

Tabla 14. Análisis del riesgo de desarrollar síndrome de cushing en función de la variante rs1049674 (ASNS)

Genotipo	Cushing (N)		OR [95%IC] p-valor
	Ausencia	Presencia	
TT	73	19	2,60 [1,23-5,51]
TA	31	21	0,012

N: número de pacientes. OR: odd ratio. IC: Intervalo de confianza.

RESULTADOS

El análisis global de clasificación del síndrome de cushing considera al genotipo de la variante rs1049674 (ASNS) como la variante de mayor peso. A su vez, el análisis de clasificación separa a los pacientes heterocigotas según el componente ancestral nativoamericano. Específicamente, el porcentaje de individuos con cushing es mayor en los pacientes con menos de 20% de componente ancestral nativoamericano (Figura 10).

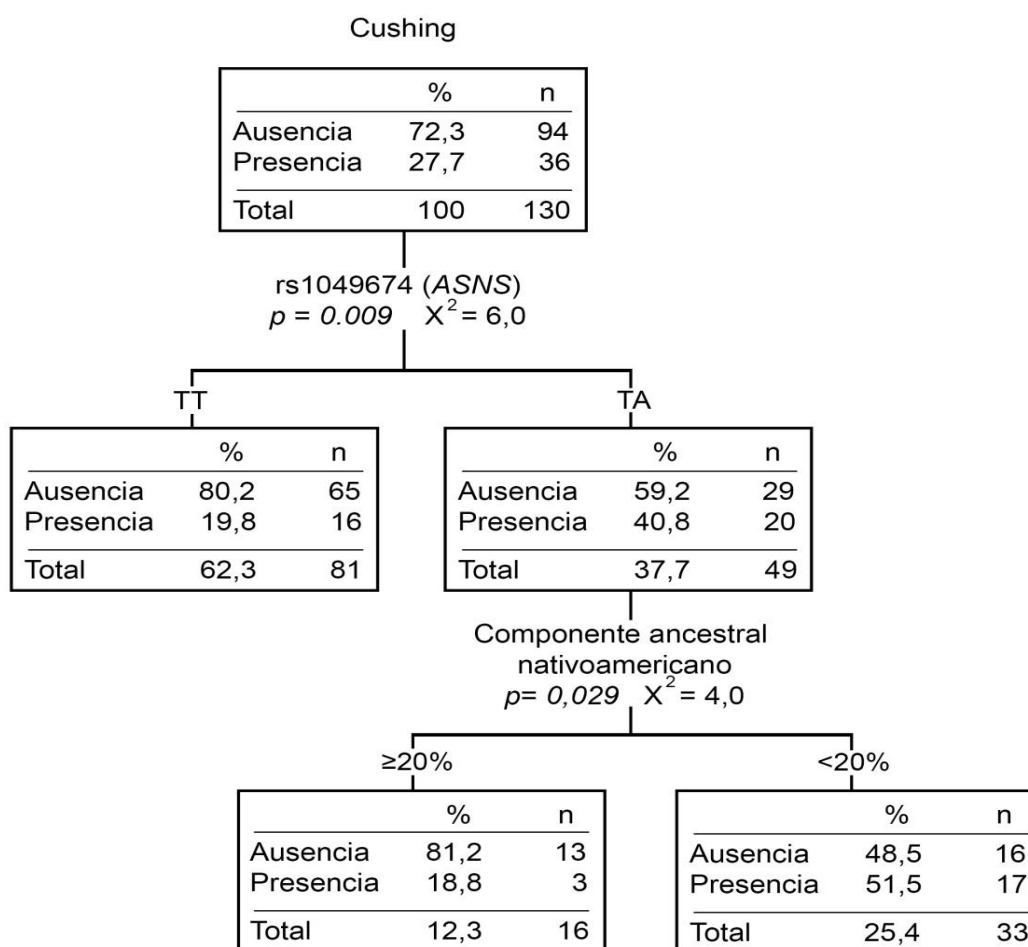


Figura 10. Árbol de clasificación para el síndrome de cushing. Se consideró como variable dependiente la presencia/ausencia de cushing y como variables independientes, las variantes en los genes *ABCB1*, *ABCG2* y *ASNS* y la ancestralidad nativoamericana (mayor o menor a 20%). n: número de pacientes. p = p -valor. X^2 = coeficiente de Chi cuadrado

RESULTADOS

5.4.3 Hiperglicemia

Ocho pacientes sufrieron diabetes o hiperglicemia durante la fase de inducción, representando el 4,3% del total. Solo uno de ellos presentaba antecedentes familiares de diabetes e hipertensión.

El análisis de variantes y la presencia de diabetes mostró diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos de la variante rs3832526 (ASNS) y esta toxicidad (Tabla 15). Sin embargo, cuando se analizó el riesgo en función de los alelos (2R o 3R) no se observaron diferencias estadísticamente significativas (OR [95% IC] = 5,00 [0,97 - 25,85], p -valor = 0,054).

Tabla 15. Relación entre las variantes genéticas y la hiperglicemia

Genes y variantes	Hiperglicemia(N)		χ^2 p -valor	
	Ausencia	Presencia		
ABCB1				
rs2032582	CC	52	1	0,566
	CA	63	6	
	CT	3	0	
	AA	16	1	
	AT	2	0	
rs9282564	TT	133	8	0,287
	TC	19	0	
ASNS				
rs3832526	2R2R	88	2	0,028
	2R3R	42	6	
	3R3R	11	0	
rs1049674	TT	87	5	0,933
	TA	19	2	

N: número de pacientes. χ^2 : Test de Chi cuadrado

Respecto a la ancestralidad y la hiperglicemia, no se encontraron diferencias significativas entre la presencia/ausencia de esta toxicidad y ninguno de los componentes ancestrales (datos no mostrados).

RESULTADOS

5.4.4 Toxicidad gastrointestinal

El 44% de los pacientes sufrieron algún tipo de evento adverso gastrointestinal durante la fase de inducción.

Ninguna de las variantes analizadas mostró diferencias estadísticamente significativas entre la presencia y la ausencia de eventos gastrointestinales (datos no mostrados). En relación al número de eventos, los pacientes con el genotipo TC de la variante rs928564 (*ABCB1*) presentaron un número significativamente mayor de eventos gastrointestinales que aquellos con el genotipo homocigota TT (p -valor = 0,016).

En cuanto a la ancestralidad y la toxicidad gastrointestinal, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la presencia/ausencia de esta y ninguno de los componentes ancestrales (datos no mostrados).

5.4.5 Toxicidad hepática

El 33,7% de los pacientes presentaron, al menos una vez, toxicidad hepática (grado 3 y/o 4). El análisis de la relación entre la toxicidad hepática y las variantes en los genes *ABCB1*, *ABCG2*, *CYP3A5* y *ASNS* no mostró diferencias estadísticamente significativas (datos no mostrados). Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la hipoalbuminemia moderada o severa y las variantes genéticas relacionadas con los GC y la L-ASP (datos no mostrados). Por último, la presencia/ausencia de la toxicidad hepática no muestra diferencias estadísticamente significativas según el componente ancestral.

5.5 Toxicidades en el tratamiento, variantes genéticas y ancestralidad

5.5.1 Hipersensibilidad a la L-Asparaginasa (L-ASP)

El 40,2% de los pacientes desarrollaron alergia a la L-ASP en algún momento del tratamiento, de los cuales el 6,7% la manifestaron en la fase de inducción y el 93,3% restante en fases posteriores.

RESULTADOS

Por otro lado, los pacientes de riesgo alto tienen un mayor riesgo de desarrollar alergia a la L-ASP que los de riesgo estándar e intermedio (OR [95% IC]= 7,74 [2,97 - 20,20], p -valor = 0,000).

A su vez, se observó que los pacientes alérgicos presentan un mayor riesgo de recaer en comparación con aquellos pacientes no alérgicos (OR [95% IC]= 3,28 [1,38 - 7,82], p -valor = 0,007).

No se encontró ninguna relación estadísticamente significativa entre las variantes en los genes *ASNS* y *GRIA1* y la presencia de alergia a la L-ASP (Tabla 16). Dentro de los pacientes alérgicos, tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos y si la alergia se desarrolló en la fase de inducción o posterior a esta (datos no mostrados). Por último, la presencia/ausencia de alergia a la L-ASP no se asoció con la ancestralidad (datos no mostrados).

Tabla 16. Relación entre las variantes genéticas y la alergia a la L-Asparaginasa

Genes, variantes y genotipos	Alergia a L-ASP (N)		χ^2 p -valor	
	Ausencia	Presencia		
ASNS				
rs3832526	2R2R	59	30	0,380
	2R3R	27	22	
	3R3R	6	5	
rs1049674	TT	54	37	0,344
	TA	35	17	
GRIA1				
rs4958351	GG	43	30	0,223
	GA	37	15	
	AA	7	7	
rs11951398	CC	77	49	0,553
	CT	11	5	

N: número de pacientes. χ^2 : Test de Chi cuadrado

El análisis global de clasificación y regresión para la alergia a la L-ASP considera el grupo de riesgo como la única variable que explicaría esta toxicidad. El porcentaje de individuos alérgicos a la L-ASP es mayor dentro del grupo de RA en comparación con aquellos de RE y RI (Figura 11).

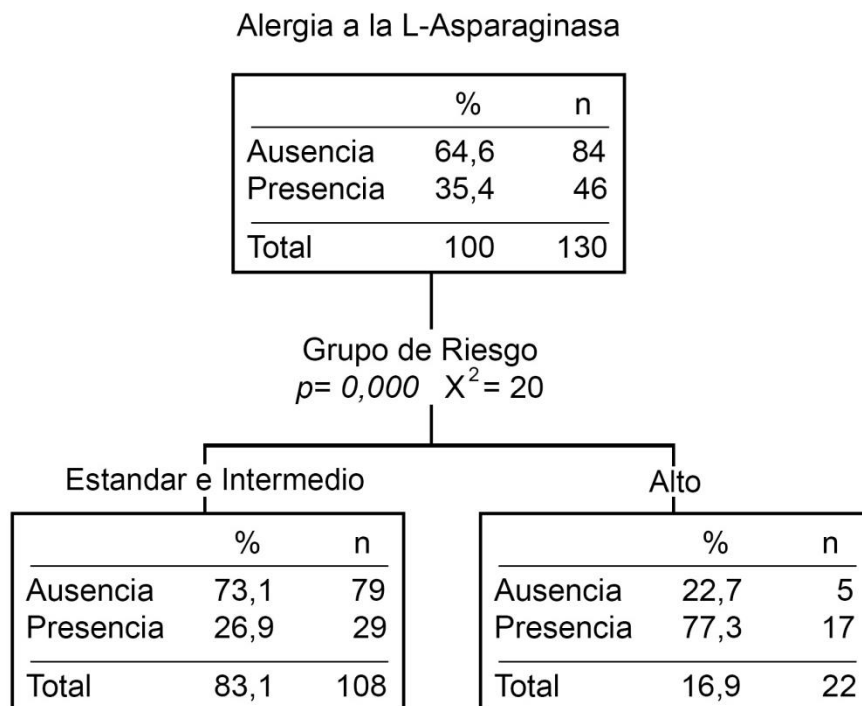


Figura 11. Árbol de clasificación para la alergia a la L-Asparaginasa. Se consideró como variable dependiente la alergia a la L-ASP y como variables independientes el grupo de riesgo, las variantes en los genes *ASNS* y *GRIA1* y la ancestralidad nativoamericana (mayor o menor a 20%). n: número de pacientes. p = p -valor. X^2 =coeficiente de Chi cuadrado.

5.5.2 Toxicidad osteomuscular

Se detectaron 13 pacientes que sufrieron al menos un evento osteomuscular durante el tratamiento (7%). De éstos, siete los manifestaron en la fase de inducción.

El análisis de las variantes genéticas y la toxicidad osteomuscular no mostró ninguna diferencia estadísticamente significativa (datos no mostrados). Tampoco se encontraron asociaciones entre esta toxicidad y cada uno de los componentes ancestrales (datos no mostrados).

RESULTADOS

5.5.3 Toxicidad neurológica

Un total de 29 pacientes (15,7%) sufrieron al menos un evento neurológico durante el tratamiento. Solamente el 17% de las toxicidades neurológicas se manifestaron en la fase de inducción.

Se observó que los pacientes que desarrollaron neurotoxicidad presentan un mayor riesgo de recaer en comparación con aquellos pacientes que no desarrollaron (OR [95% IC] = 4,12 [1,43 – 11,86], p -valor = 0,009).

El análisis entre la neurotoxicidad y las variantes en los genes *ABCB1*, *ABCG2*, *CYP3A5* y *CEP72*, muestra una relación estadísticamente significativa entre esta toxicidad y la variante rs9282564 del gen *ABCB1* (p -valor = 0,005). Además, los pacientes con genotipo TC presentan un riesgo significativamente mayor de desarrollar toxicidad neurológica respecto a los de genotipo TT (Tabla 17).

Tabla 17. Análisis del riesgo de desarrollar toxicidad neurológica en función de la variante rs9282564 (*ABCB1*)

Genotipo	Neurotoxicidad (N)		χ^2 p -valor	OR [95%IC] p -valor
	No presenta	Presenta		
TT	124	17	0,005	4,25 [1,47-12,29]
TC	12	7		

N: Número de pacientes. χ^2 : Test de Chi cuadrado. OR: *odd ratio*. IC: Intervalo de confianza

Con respecto a la ancestralidad, los pacientes con toxicidad neurológica presentan un componente nativoamericano significativamente menor que los que no la desarrollan. El análisis de riesgo muestra que, aquellos pacientes con un componente nativoamericano mayor o igual a 20% presentan un riesgo significativamente menor de desarrollar toxicidades neurológicas durante el tratamiento en comparación con los que presentan menos de 20% (Tabla 18)

RESULTADOS

Tabla 18. Ancestralidad y toxicidad neurológica

Componente ancestral	Toxicidad Neurológica		MW <i>p</i> -valor
	Media ± D.E. (%)	Media ± D.E. (%)	
	Ausencia	Presencia	
Europeo	68,7 ± 14,0	72,6 ± 11,9	0,156
Nativoamericano	21,4 ± 12,2	14,6 ± 10,9	0,002
Africano	9,9 ± 6,7	12,8 ± 8,6	0,065

Componente ancestral nativoamericano	Ausencia (N)	Presencia (N)	OR [95%IC] <i>p</i> -valor
<20%	80	22	0,312 [0,120-0,812]
≥20%	70	6	0,017

D.E.: Desvío Estándar. MW: Test de Mann Whitney. N: Número de pacientes. OR: odd ratio. IC: Intervalo de confianza

Por otro lado, se analizó la relación entre la variante rs9282564 y los tres componentes ancestrales. No se encontró ninguna relación significativa para ninguno de los tres componentes (Tabla 19).

Tabla 19. Análisis de asociación entre la ancestralidad y la variante rs9282564

Componente ancestral	TT	TC	MW <i>p</i> -valor
	Media ± D.E. (%)	Media ± D.E. (%)	
Europeo	69,5 ± 14,4	71,5 ± 10,7	0,842
Nativoamericano	20,0 ± 11,7	18,5 ± 10,7	0,688
Africano	10,5 ± 7,2	10,0 ± 6,8	0,826

D.E.: Desvío Estándar. MW: Test de Mann Whitney

RESULTADOS

Al analizar la neurotoxicidad, junto con el componente ancestral nativoamericano y los genotipos de las variantes en los genes *ABCB1*, *ABCG2*, *CEP72* y *CYP3A5* se observó que el genotipo CT de la variante rs9282564 (*ABCB1*) es la única variable explicativa. Según este análisis, el resto de las variables no serían predictivas para este efecto adverso (Figura 12).

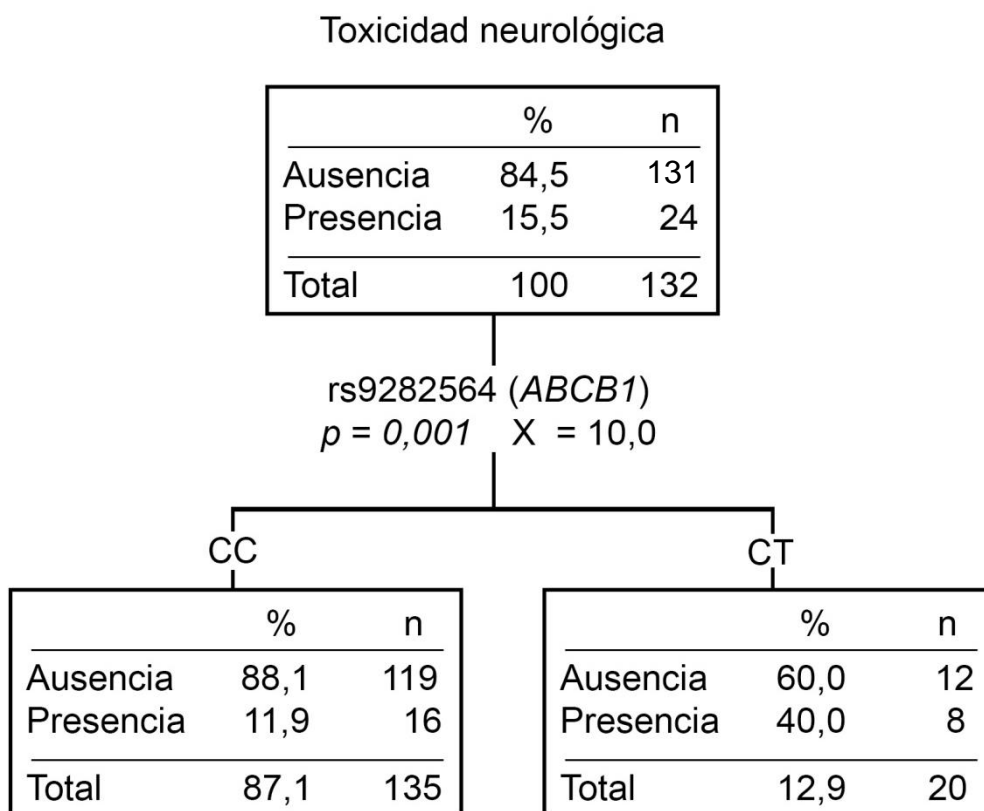


Figura 12. Árbol de clasificación para la toxicidad neurológica. Se consideró como variable dependiente la presencia/ausencia de neurotoxicidad y como variables independientes las variantes en los genes *ABCB1*, *ABCG2*, *CEP72* y *CYP3A5* y la ancestralidad nativoamericana (mayor o menor a 20%). n: número de pacientes. p = p -valor. X^2 = coeficiente de Chi cuadrado.

6 DISCUSIÓN

6.1 Frecuencias genotípicas y ancestralidad

De las 13 variantes analizadas en la muestra de pacientes, 12 se encontraron en EHW. La variante rs1049674 (*ASNS*) no se encontró en EHW en la muestra de pacientes, observándose un exceso de heterocigotas (Tabla 5). Esta desviación del equilibrio podría deberse a un error en el genotipado de este polimorfismo, a que existiese cierta selección a favor o en contra de alguno de los alelos o a una subestructuración poblacional. Debido a que en la muestra control esta variante tampoco se encontró en EHW y que, además, no mostró diferencias significativas en las frecuencias genotípicas con la muestra de pacientes (datos no mostrados), la presencia de una subestructura poblacional sería la explicación más plausible. Por otro lado, tampoco se observaron diferencias significativas entre ambas muestras para las otras variantes analizadas (Tabla 6).

Al comparar las frecuencias genotípicas con las de otras poblaciones mundiales, la muestra de pacientes difiere para la mayoría de las variantes con las poblaciones africanas, seguido de las asiáticas y de PEL y, en menor grado, con las europeas y el resto de las poblaciones latinoamericanas (Tabla 7 y ANEXO, Tabla 1). Este resultado es compatible con la historia de Uruguay (Pi & Vidart 1969; Isola, 1975; Cabrera, 1992; Sans et al., 1992; 1994), así como también con estudios previos que reportan una estructura tri-híbrida a nivel genético, con un componente mayoritario europeo, seguido del nativoamericano y por último del africano (Sans, 1997; Bonilla et al., 2004; Hidalgo et al., 2005; Bonilla et al., 2015; Sans et al., 2021). A modo de ejemplo, los alelos *6 y *7 (rs10264272 y rs41303343, respectivamente) de *CYP3A5* son indicadores de ancestralidad africana, mientras que el alelo *3 (rs776746) es más frecuente en poblaciones europeas (1000 genomas). La frecuencia del alelo *3 en la muestra de pacientes (0,887) se encuentra disminuida en comparación con la de las poblaciones europeas (0,925, 0,949 y 0,960), posiblemente debido al aporte del componente ancestral africano y nativoamericano en nuestra población. En este mismo sentido, si bien las frecuencias del alelo *6 y *7 en la muestra de pacientes son bajas, no son nulas. Probablemente, la presencia de estas variantes en nuestra población se deba al aporte africano (Tabla 7).

DISCUSIÓN

Por otro lado, llama la atención que la frecuencia del alelo T de la variante rs2231137 (*ABCG2*) en la muestra de pacientes (16,1%) sea 2 a 3 veces la reportada para las poblaciones europeas (3,5-8,4%), siendo este el componente principal en nuestra población (Tabla 7). Teniendo en cuenta que en las poblaciones asiáticas la frecuencia es 30-33% y que el aporte nativoamericano en la población uruguaya oscila entre el 10-14% (Sans et al., 2021), la frecuencia del alelo T no podría explicarse únicamente por el mestizaje. Un efecto fundador de las poblaciones ancestrales podría explicar este fenómeno. A su vez, es de destacar que se desconoce la frecuencia de este alelo en las poblaciones ancestrales nativoamericanas y estas podrían diferir con las asiáticas. Para la variante rs3832526 (*ASNS*) se observa un patrón similar (Tabla 7).

6.2 Ancestralidad

De los 45 AIMs analizados, seis no se encontraron en EHW en la muestra de pacientes y cinco en la de controles (ANEXO, Tabla 2). Las posibles causas de las desviaciones del equilibrio fueron discutidas anteriormente para la variante rs1049674 del gen *ASNS*. Ya que algunos de estos AIMs se encuentran en intrones, no podríamos descartar efectos de selección. Sin embargo, debido a que la mayoría se ubican en regiones intergénicas, una subestructuración poblacional sería la explicación más probable.

En relación a la ancestralidad individual, se observó una gran heterogeneidad en ambas muestras (Figura 7, ANEXO, Tabla 3 y 4). Esta no llama la atención, ya que los pacientes provienen de todo el territorio uruguayo, en donde datos genéticos y sociodemográficos han reportado diferencias en cuanto a la ancestralidad (I.N.E., 2011; Sans et al., 2021).

Respecto a la ancestralidad global, las proporciones de los tres componentes ancestrales para ambas muestras son acordes a las reportadas para nuestro país (Tabla 8). Sin embargo, se observa que los componentes nativoamericano y africano son levemente superiores a los previamente publicados (Sans, 1997; Bonilla et al., 2004; Bonilla et al., 2015; Sans et al., 2021). Esta diferencia podría deberse a que las muestras analizadas en esta tesis presentan una mayor proporción de pacientes que se atienden en salud pública. Según Bonilla et al., (2015) y Sans et al., (2021) tanto el componente nativoamericano como el africano son levemente mayores en la

DISCUSIÓN

población que se atiende en el sistema público de salud, manifestando una heterogeneidad en la ancestralidad de acuerdo al nivel socioeconómico.

Es de destacar las diferencias significativas de los componentes ancestrales nativoamericano y africano entre ambas muestras (Tabla 8). Esta diferencia concuerda con reportes previos que indican que la LLA es más frecuente en poblaciones latinoamericanas o hispanas (Walsh et al., 2013; Howlader et al., 2014; Quiroz et al., 2019;). Walsh et al. (2013) postulan que la incidencia de LLA es mayor en hispanos que en caucásicos no hispanos y afroamericanos. Según estos autores, un incremento del 20% de la proporción del componente ancestral nativoamericano aumenta 1,2 veces el riesgo de desarrollar LLA-B. Esto podría deberse a factores de riesgo genéticos asociados con la ancestralidad nativoamericana. Por ejemplo, variantes en los genes *ARID5B*, *CDKN2A*, *CEBPE*, *IKZF1* y *PIP4K2A* han sido descritos como alelos de riesgo de LLA en numerosas poblaciones. Sin embargo, estos alelos son más frecuentes en poblaciones con ascendencia nativoamericana (Yang et al., 2010; Xu et al., 2012; 2013; Walsh et al., 2013). Por otro lado, según Matasar et al. (2006) y Walsh et al. (2013), la incidencia de LLA en poblaciones afrodescendientes es menor que en poblaciones caucásicas e hispanas.

De todos modos, teniendo en cuenta que las poblaciones latinoamericanas son inmensamente diversas y que la mayoría de las investigaciones son realizadas en poblaciones hispanas de Estados Unidos, estos trabajos deben ser tomados con cautela. A su vez, contar con datos genómicos de poblaciones ancestrales más representativas de la población uruguaya, así como también un mayor número de AIMS, permitiría estimar la ancestralidad de manera más precisa. De hecho, si bien determinar la ancestralidad mediante 45 AIMS es una aproximación válida, existen trabajos que recomiendan un uso mínimo de 50 marcadores (Russo et al., 2016).

6.3 Respuesta al tratamiento al día +33

Como era de esperar, el análisis del número de blastos al día +8 y las variantes en los genes no relacionados con la PRED no mostró asociaciones significativas. Por otro lado, tampoco se encontraron asociaciones significativas entre los tres indicadores de respuesta al tratamiento y la mayoría de las variantes en los genes relacionados con la PRED, VCR y L-ASP. Aunque las variantes puedan tener un efecto en la respuesta al tratamiento, este podría ser pequeño e invisibilizado por las

DISCUSIÓN

altas dosis administradas. Asimismo, teniendo en cuenta que la EMR al día +15 y +33 es un reflejo de la acción conjunta de todos los fármacos administrados durante la fase de inducción, el efecto de una variante en un gen particular podría verse enmascarado por la presencia/ausencia de una variante en otro gen.

Respecto a las variantes en *ABCB1*, únicamente el rs9282564 se encontró asociado con el número de blastos al día +8 (Tabla 9), pero no así con los valores de corte analizados (Tabla 10). Este es el primer reporte en donde se observa la posible implicancia de la variante rs9282564 en la respuesta a la PRED. Aunque Gasic et al. (2018) plantean que tener un recuento de blastos al día +8 nulo o bajo (< 100) podría ser importante para detectar pacientes con una respuesta diferencial a la terapia con GC, ellos no encuentran relación entre estos valores de corte y las variantes rs1045642, rs1128503 y rs2032582 del gen *ABCB1*. Sin embargo, la variante rs9282564 no fue considerada en dicho estudio.

El valor de corte determinado por el análisis de curva COR fue 344 blastos. Valores superiores a 344 se asociaron con un riesgo mayor de no culminar el tratamiento, recaer y no presentar una SLEventos > 3 y 5 años (datos no mostrados). Estos resultados son concordantes con múltiples estudios que han demostrado una peor SLEventos en aquellos pacientes con una respuesta pobre a la PRED (Möricke et al., 2010; Gao & Liu, 2018).

Por otro lado, se analizó el rol de la ancestralidad y el número de blastos al día +8. Si bien las correlaciones entre el número de blastos y los tres componentes ancestrales no fueron significativas (datos no mostrados), los pacientes con menos de 1000 blastos al día +8 tienen un componente ancestral nativoamericano significativamente mayor que los que presentan 1000 o más (Figura 8). Hasta el momento ningún estudio ha reportado una asociación entre el número de blastos al día +8 y la ancestralidad nativoamericana. Sin embargo, teniendo en cuenta que el número de blastos es un indicador de respuesta al tratamiento y que existen trabajos que asocian una peor respuesta con la ancestralidad nativoamericana (Bhatia et al., 2002; Kadan-Lottick et al., 2003; Bhatia, 2011; Yang et al., 2012; Quiroz et al., 2019; Lee et al., 2022), este resultado llama la atención. Por consiguiente, podrían existir otros factores genéticos y no genéticos, asociados al componente nativoamericano que pudieran explicar lo observado.

DISCUSIÓN

Cabe destacar que, en estos análisis no se incluyó el total de la muestra debido a que en muchas historias clínicas figura únicamente “<1000blastos” y, por ende, estos pacientes fueron excluidos. A su vez, muchos de los pacientes que no tienen blastos al día +8 tampoco tenían al debut, ya que la LLA no había alcanzado la SP. Por lo antes dicho, estos resultados deben ser tomados con cautela y continuarán siendo estudiados. A pesar de esto, tanto la variante rs9282564 como el componente nativoamericano serían potenciales indicadores de la respuesta a la PRED y, a futuro, podrían ser tenidos en cuenta para adecuar el esquema terapéutico.

6.4 Toxicidades en la fase de inducción

En relación a la **mucositis**, se encontraron asociaciones entre esta y variantes en los genes *CYP3A5* y *ASNS* (Tabla 11). Concretamente, los pacientes no expresores de *CYP3A5* y los de genotipo 3R3R (rs3532526, *ASNS*) presentaron un riesgo mayor de desarrollar mucositis que aquellos expresores y portadores del alelo 2R, respectivamente (Tabla 12). En el mismo sentido, los pacientes con estas variantes tuvieron un mayor número de eventos de mucositis. De hecho, estas mismas variantes siguen siendo las únicas que explican la presencia/ausencia de la mucositis al analizarlas junto con las otras variantes genéticas de la Tabla 11 y la ancestralidad nativoamericana (Figura 9).

Pese a que la mucositis oral es uno de los efectos secundarios más frecuentes de la terapia antineoplásica, existen pocos estudios que analicen posibles factores de riesgo genéticos.

La enzima *CYP3A5* convierte a la VCR en metabolitos inactivos en las células hepáticas (López-López et al., 2016). Un déficit de esta enzima llevaría a un acumulo de VCR en la célula, lo que podría propiciar el desarrollo de toxicidades como la mucositis. Esto concuerda con el trabajo de Gao et al. (2022) donde variantes en *CYP3A5*, que propician la acumulación de metabolitos activos de hidroxiclороquina, se encontraron asociadas con efectos adversos en la mucosa.

Por otro lado, varios estudios relacionan la mucositis con la administración de L-ASP (Müller et al., 2000; Ortiz et al., 2013; Proc et al., 2020), aunque ninguno de ellos investiga el rol de las variantes génicas en esta. La hipersensibilidad es el efecto

DISCUSIÓN

adverso más frecuente de la administración de L-ASP. Aunque la hipersensibilidad se manifiesta generalmente como anafilaxia, edema, broncoespasmo, urticaria, prurito, eritema o hinchazón (Fonseca et al., 2021), no podemos descartar a la mucositis como una posible manifestación. Teniendo en cuenta que el genotipo 3R3R (rs3532526, *ASNS*) se ha visto asociado con un mayor riesgo a desarrollar hipersensibilidad a la L-ASP (Ben Tanfous et al., 2015), la asociación entre este genotipo y la mucositis era factible.

Respecto a la presencia/ausencia del **síndrome de cushing**, se encontraron diferencias significativas en la distribución de los genotipos para las variantes rs2032582 (*ABCB1*) y rs1049674 (*ASNS*) (Tabla 13). Si bien existen numerosos estudios sobre estos genes, ninguno ha reportado una asociación entre estas variantes y el cushing en LLA.

En relación al rs2032582, aunque la distribución de genotipos mostró diferencias significativas (Tabla 13), el análisis de riesgo no estableció ninguna relación entre los genotipos y la presencia de cushing (datos no mostrados), así como tampoco el análisis de clasificación y regresión (Figura 10). De todos modos, llama la atención que la totalidad de los pacientes de genotipo CT (N=3) presentan esta toxicidad (Tabla 13). A pesar de que son únicamente tres, no se puede descartar una posible relación entre este genotipo y la presencia de cushing. Se debería analizar un mayor número de pacientes para confirmar o descartar esta eventual relación.

Asimismo, los pacientes de genotipo TA para la variante rs1049674 (*ASNS*) presentan un riesgo mayor de sufrir cushing que los de genotipo TT (Tabla 14) y un mayor número de eventos. Esto podría explicarse por un posible efecto de esta variante en la expresión o función de *ASNS*, lo que conllevaría a una menor cantidad de *Asn* y, por ende, a una acumulación L-ASP, que podría provocar cushing. Esta es la primera investigación que encuentra una relación entre esta variante y una toxicidad del tratamiento de LLA pediátrica.

Por otra parte, no se encontró relación entre el síndrome de cushing y los tres componentes ancestrales (datos no mostrados). Sin embargo, al analizar la presencia de esta toxicidad integrando todas las variantes de la Tabla 13 y el componente ancestral nativoamericano (Figura 10), las variables explicativas son el rs1049674 (*ASNS*) y la ancestralidad. Específicamente, los pacientes de genotipo

DISCUSIÓN

TA con menos de 20% de componente nativoamericano desarrollan más cushing que los que tienen mayor proporción de este componente. Es de destacar que este es el segundo resultado donde se observa un efecto “protector” del componente nativoamericano.

En cuanto a la **hiperglicemia**, se encontró una relación entre esta y la variante rs3832526 del gen *ASNS* (Tabla 15). Sin embargo, el análisis de riesgo no estableció ninguna relación entre los genotipos y este efecto adverso. La hiperglicemia es una manifestación clínica que suele observarse durante la fase de inducción, debido a la coadministración de PRED y L-ASP. Teniendo en cuenta que el alelo 3R actúa como potenciador del gen *ASNS* (Akagi et al., 2010) y que presentar altos niveles de Asn (o bajos de Asp) aumenta el riesgo de desarrollar diabetes (Luo et al., 2020), se esperaba encontrar una posible relación entre esta variante y la hiperglicemia. La falta de asociación podría deberse a que únicamente ocho pacientes desarrollaron hiperglicemia durante la fase de inducción.

Con respecto a la **toxicidad gastrointestinal**, aquellos pacientes de genotipo TC (rs9282564, *ABCB1*) presentaron más eventos de toxicidad gastrointestinal que los TT. Sin embargo, ni el análisis de distribución de genotipos ni el de riesgo mostraron diferencias significativas (datos no mostrados). Considerando que la toxicidad gastrointestinal, en particular las náuseas y los vómitos, es uno de los efectos secundarios más comunes de las quimioterapias (Ortiz et al., 2013; Tao et al., 2020), el efecto del genotipo podría verse enmascarado. Por otro lado, la asociación encontrada debería ser tomada con cautela ya que el número de eventos de toxicidad gastrointestinal podría estar sobreestimado (por ejemplo, tener vómitos por cuatro días se ve reflejado como cuatro eventos y no como uno). A su vez, la heterogeneidad de sintomatología considerada como toxicidad gastrointestinal en esta investigación podría influir en los resultados. A modo de ejemplo, los síntomas de diarrea y estreñimiento fueron considerados de manera indistinta como toxicidad gastrointestinal y, quizás, deberían haber sido analizados por separado. Sin embargo, debido al tamaño de la muestra dichos análisis no fueron factibles. Por último, las historias clínicas son, en parte, un reflejo de lo que los pacientes exteriorizan. Si bien el “dolor de panza” no fue incluido dentro de la toxicidad

DISCUSIÓN

gastrointestinal debido su carácter subjetivo, síntomas como náuseas o “ganas de vomitar” también podrían variar de paciente a paciente.

En relación con la **toxicidad hepática**, la falta de asociación observada podría deberse a la heterogeneidad en el número de funcionales hepáticos de los pacientes. Por ejemplo, mientras que para algunos pacientes no hay registros, para otros figuran más de 10 en los 33 días que dura la inducción.

6.5 Toxicidades en el tratamiento de LLA

El 40,2% de los pacientes desarrollaron **alergia a la L-ASP** en algún momento del tratamiento, de los cuales 6,7% la manifestaron en la fase de inducción y 93,3% en etapas posteriores.

Debido a que el evento adverso más frecuente de la administración de L-ASP es la reacción inmunitaria, era de esperarse que un porcentaje elevado de pacientes desarrollasen esta toxicidad. De hecho, este porcentaje es similar a los previamente reportado por otros autores (Chen et al., 2010; Pieters et al., 2011; Ben Tanfous et al., 2015; Kutzegi et al., 2015; Rajic et al., 2015).

En relación al momento del tratamiento en que los pacientes desarrollan la toxicidad, la diferencia observada entre los porcentajes en la fase de inducción y post inducción concuerda con lo previamente reportado. Según varios autores, la manifestación de este efecto adverso ocurre principalmente en etapas post inducción (Zalewska-Szewczyk et al., 2007; Pieters et al., 2011; Rajic et al., 2015). Si bien la producción de anticuerpos anti L-ASP en la fase de inducción podría ser medible, el tratamiento intensivo con GC podría provocar un retraso de la respuesta inmunitaria enmascarando los síntomas característicos de la hipersensibilidad a la L-ASP. Posteriormente, en respuesta a la re-exposición a la L-ASP, las células B producen anticuerpos IgG o IgE provocando reacciones alérgicas (Pieters et al., 2011; Rajic et al., 2015).

En relación al grupo de riesgo, y en concordancia con lo reportado por Rajic et al. (2015) y Kutzegui et al. (2015), aquellos pacientes de RA presentan un riesgo mayor de desarrollar alergia a la L-ASP en comparación con el grupo RE y RI. A diferencia de los pacientes de RE y RI, los de RA reciben también L-ASP en la fase

DISCUSIÓN

de consolidación (tres pulsos de 25.000 U/m²). La mayor dosis acumulada del fármaco y la frecuencia de administración podrían explicar este resultado.

Por otro lado, los pacientes alérgicos a la L-ASP presentan un mayor riesgo a recaer que aquellos no alérgicos. Esta observación concuerda con investigaciones previas en donde, se asoció la hipersensibilidad a la L-ASP con una menor SLEventos y SG (Zalewska-Szewczyk et al., 2007; Rajic et al., 2015). Sin embargo, se ha visto que los pacientes que no reciben L-ASP o aquellos que reciben menos del 80% de la dosis estándar tienen un pronóstico menos prometedor (Silverman et al., 2001; Pieters et al., 2011). Por consiguiente, a pesar de la alta frecuencia de hipersensibilidad a la L-ASP, la administración de este fármaco es fundamental en el tratamiento de la LLA.

Las variantes en los genes *ASNS* y *GRIA1* analizadas no se relacionaron con la presencia de alergia a la L-ASP (Tabla 16). La ausencia de asociación con las variantes de *ASNS* son compatibles con los reportados por Youssef et al., 2021 y por Ben Tanfous et al. (2015) para la cohorte de validación. Respecto a *GRIA1*, los resultados obtenidos difieren de los reportados por Rajic et al. (2015) y Chen et al. (2010), aunque concuerdan con lo reportado por Kutszegi et al. (2015) para el total de su muestra. En particular, Kutszegi et al. (2015) si encuentran una asociación entre la variante rs4958351 (*GRIA1*) y la alergia a L-ASP en aquellos pacientes con LLA-T de RA. Debido a que únicamente 7,3% (N=14) de los pacientes de esta tesis tuvieron LLA-T y que, de éstos, únicamente cuatro son de RA, no fue viable realizar un estudio más exhaustivo. Otro aspecto a tener en consideración es la posible existencia de hipersensibilidad silenciosa, que en nuestro caso no fue posible detectar, que podría estar relacionada con la presencia de variantes en estos genes. Debido a que los efectos de la hipersensibilidad silenciosa son también importantes, sería de gran interés realizar estudios farmacogenéticos utilizando la medición de anticuerpos, así como también de los niveles plasmáticos de L-ASP (López-Santillan et al., 2017). Debido a la importancia de la L-ASP en el tratamiento, sería prudente poder determinar cualquier reacción de hipersensibilidad para adecuar el tratamiento.

Por otra parte, no se encontró relación entre la hipersensibilidad a la L-ASP y los tres componentes ancestrales (datos no mostrados). Asimismo, al analizar la presencia

DISCUSIÓN

de hipersensibilidad a la L-ASP incluyendo todas las variantes de la Tabla 16 junto con la ancestralidad nativoamericana y los grupos de riesgo, estos últimos son la única variable explicativa (Figura 11). Estos resultados difieren a lo reportado por Chen et al (2010), quienes postulan que la ancestralidad nativoamericana se asocia con un menor riesgo de desarrollar alergia a la L-ASP. Teniendo en cuenta que las poblaciones híbridas, como la de esta tesis o la analizada por Chen et al. (2010), pueden presentar una composición ancestral distinta, el componente nativoamericano de dichas poblaciones no es necesariamente comparable.

Es de destacar que la hipersensibilidad a la L-ASP ha sido relacionada principalmente con el uso de L-ASP de *E. coli* nativa (Guilleme et al., 2013). En la muestra analizada en esta tesis coexisten pacientes a los que se les administró una o las dos formulaciones de *E. coli*. En comunicación personal con la Dra. Schelotto, médica tratante en la Fundación Pérez Scremini, constatamos que hasta hace aproximadamente dos años se administraba en primera instancia L-ASP de *E. coli* nativa (Kidrolase®) a todos los pacientes. Si el paciente desarrollaba algún tipo de alergia, se evaluaba el estado del mismo y, según correspondiese, se procedía a intentar conseguir la formulación alternativa (L-ASP de *E. coli*-PEG, Oncospar®). Esta formulación era extremadamente difícil de adquirir y costear en Uruguay, por lo que no se realizaba el cambio de formulación en todos los pacientes. Por este motivo, no fue posible analizar el rol de la formulación administrada en la susceptibilidad a la L-ASP. Actualmente, el Oncospar® forma parte del Fondo Nacional de Recursos y es la formulación elegida como primera opción.

En relación a la **toxicidad osteomuscular** no se encontraron relaciones entre esta toxicidad y las variantes genéticas y tampoco con la ancestralidad (datos no mostrados).

En primer lugar, la falta de asociación podría deberse al bajo número de pacientes que desarrollaron estos eventos adversos (7%, N=13). En segundo lugar, debemos considerar la manera en que se determinó la toxicidad osteomuscular en esta tesis. Los trabajos en los que se reporta algún tipo de asociación entre variantes genéticas y los problemas óseos, contaban con un estudio o examen médico detrás de la sintomatología. En el caso de Kawedia et al. (2011), independientemente de los síntomas, los pacientes eran sometidos a una resonancia magnética de cadera y

DISCUSIÓN

rodillas en dos momentos del tratamiento y una vez finalizado el mismo. Asimismo, en el estudio de Gagné et al. (2019) la ON sintomática fue confirmada por radiografía, tomografía computarizada o resonancia magnética. Debido a que en las historias clínicas analizadas en esta tesis no se especificaba la etiología de la manifestación clínica, fue inviable distinguir los problemas óseos de los musculares. Por esta razón, una posible asociación entre las variantes genéticas y/o la ancestralidad con la toxicidad ósea no debería descartarse por completo.

Por último, cerca del 16% de los pacientes desarrollaron **neurotoxicidad**. Teniendo en cuenta que el 83% de estos la manifestaron en fases post inducción, no se puede afirmar que esta toxicidad se deba únicamente a la administración de VCR. Otros fármacos, como por ejemplo el MTX, podrían estar influyendo en el desarrollo de esta toxicidad (Vezmar et al., 2003; Bhojwani et al., 2014).

A su vez, aquellos pacientes de genotipo TC para la variante rs9282564 (*ABCB1*) presentaron un riesgo mayor de desarrollar este efecto adverso que los de genotipo TT (Tabla 17). Al momento, esta variante no ha sido asociada a ningún efecto adverso derivado del tratamiento de LLA. Debido a que la VCR y el MTX pueden ser transportados al exterior celular por *ABCB1* (Whirl-Carrillo et al., 2012; López-López et al., 2016; Triarico et al., 2021), variantes que modifiquen la actividad de este transportador podrían provocar distintas toxicidades, como por ejemplo la neurológica.

Por otro lado, aquellos pacientes con toxicidad neurológica presentaron un componente nativoamericano significativamente menor que los que no la desarrollaron (Tabla 18). Este resultado concuerda con lo reportado por Renbarger et al. (2008), Sims (2016) y McClain et al., (2018), quienes describen una mayor frecuencia de neuropatías inducidas por VCR en niños caucásicos que en afroamericanos e hispanos. Una vez más, los resultados de esta tesis muestran una relación entre tener un mayor componente ancestral nativoamericano y un menor riesgo a desarrollar una toxicidad, en este caso la neurológica.

Debido a que el componente ancestral nativoamericano y la variante rs9282564 no se encontraron asociados (Tabla 19), estas dos variables explicarían de manera independiente la presencia de neurotoxicidad.

DISCUSIÓN

Al analizar la toxicidad neurológica incluyendo como variables independientes la ancestralidad nativoamericana junto con las variantes en los genes *ABCB1*, *ABCG2*, *CYP3A5* y *CEP72*, la única variable explicativa es el rs9282564 del gen *ABCB1* (Figura 12). Pese a que el análisis de neurotoxicidad y ancestralidad nativoamericana mostró diferencias significativas (Tabla 18), el árbol de clasificación y regresión no consideró a la misma como variable explicativa (Figura 12). Esta exclusión podría deberse a que en el análisis de clasificación y regresión se consideraron individuos que tuvieran datos para todas las variables, de los cuales 24 habían desarrollado neurotoxicidad; mientras que en el análisis de la ancestralidad (Tabla 18) se consideraron 28 pacientes con este efecto adverso. Cabe destacar que, los cuatro pacientes con neurotoxicidad excluidos no pudieron ser genotipados para la variante rs9282564, pero su ancestralidad mostró un componente nativoamericano menor al 20%.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, se realizó el mismo análisis de clasificación y regresión, pero flexibilizando el valor de significancia ($p < 0,1$). Como resultado, se observa que la variante rs9282564 sigue explicando de manera significativa esta toxicidad y, además, los pacientes de genotipo CT son clasificados según la ancestralidad nativoamericana (Figura 13). Aunque, el nodo que separa los individuos con más o menos de 20% de componente nativoamericano no alcanza la significancia deseada ($p = 0,085$), no podemos descartar un posible efecto de la ancestralidad en la toxicidad neurológica. Sería deseable poder determinar el genotipo de los cuatro pacientes excluidos y/o analizar un mayor número de pacientes para determinar, de manera más precisa, la importancia de la ancestralidad en la neurotoxicidad.

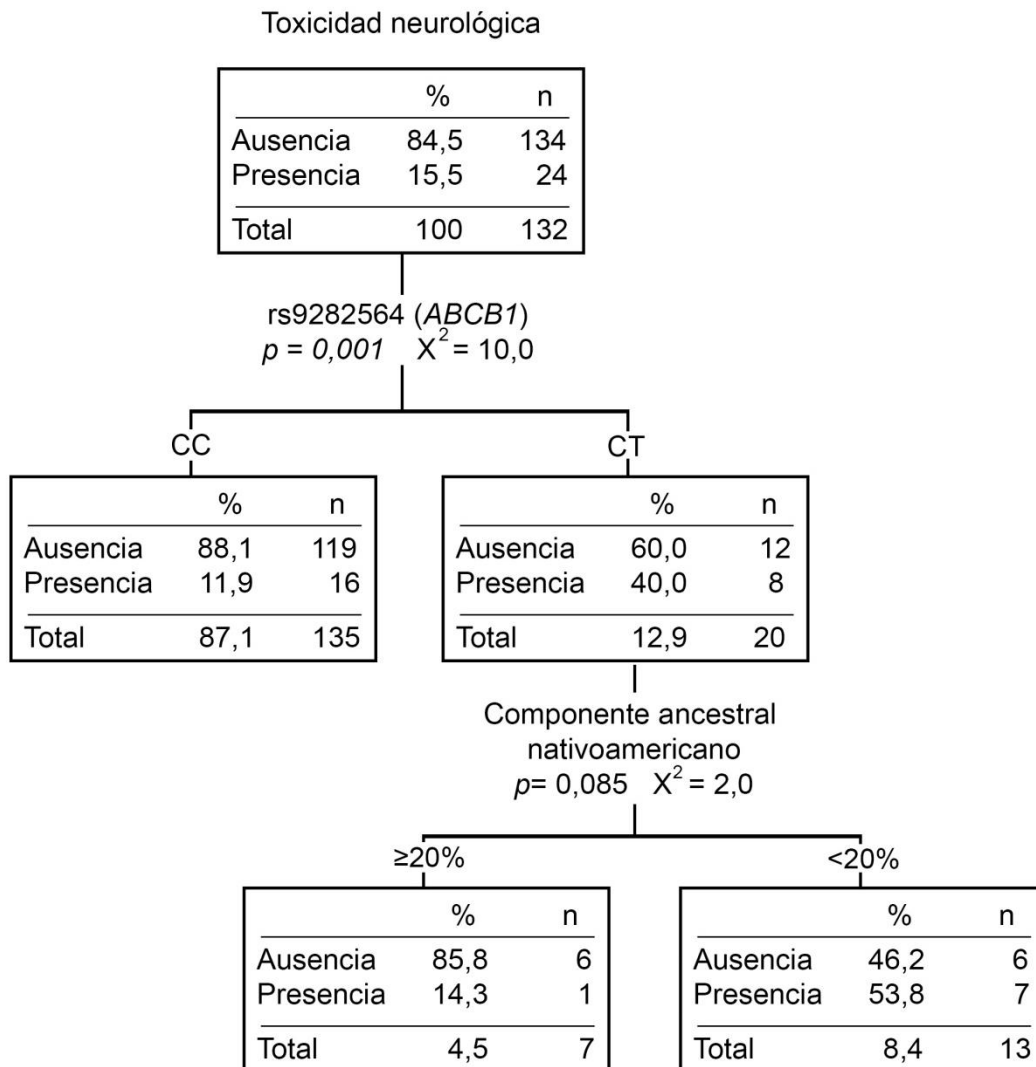


Figura 13. Árbol de clasificación para la neurotoxicidad. Se consideró como variable dependiente la presencia/ausencia de neurotoxicidad y como variables independientes las variantes en los genes *ABCB1*, *ABCG2*, *CEP72* y *CYP3A5* y la ancestralidad nativoamericana (mayor o menor a 20%), con un nivel de significancia de 0,1. n: número de pacientes. p = p -valor. X^2 = coeficiente de Chi cuadrado.

7 CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta que en Uruguay cerca de 23 niños son diagnosticados con LLA por año, y que la muestra comprende 200 niños reclutados entre 2010 y 2020 procedentes de todo el territorio uruguayo; se puede decir que la muestra utilizada es representativa del total de casos de LLA pediátrica reportados en nuestro país.

Concordante con lo previamente reportado para nuestro país, la muestra de pacientes presentó una composición tri-híbrida, con un aporte principal europeo (69,2%), seguido del nativoamericano (20,1%) y el africano (10,7%), aunque con gran heterogeneidad a nivel individual.

La ancestralidad nativoamericana observada en la muestra de pacientes concuerda con reportes previos que indican una mayor incidencia de LLA en poblaciones latinoamericanas o hispanas.

Contrariamente a lo esperado, uno de los indicadores de respuesta al tratamiento (blastos al día +8) se encontró asociado con la ancestralidad nativoamericana, lo que sugiere que podrían existir otros factores asociados este componente ancestral.

Por primera vez, variantes en los genes *CYP3A5* y *ASNS* fueron asociadas con el riesgo de desarrollar mucositis durante la fase de inducción del tratamiento de LLA pediátrica.

La variante rs1049674 del gen *ASNS* y la ancestralidad nativoamericana explican, en parte, la presencia de síndrome de cushing durante la fase de inducción del tratamiento de LLA pediátrica.

La variante rs9282564 del gen *ABCB1*, vinculado al transporte de VCR, se encontró asociada con un mayor riesgo de desarrollar neurotoxicidad durante el tratamiento de LLA pediátrica.

En contraposición a lo reportado en otros trabajos, existe una aparente protección del componente nativoamericano a las distintas toxicidades observadas en este trabajo. Esto podría ser debido a varios factores:

- Debido a que la población analizada en este estudio pertenece mayoritariamente al sistema público de salud, las diferencias en el acceso a la salud serían un factor de menor peso para explicar las toxicidades. Esta mayor homogeneidad

7 CONCLUSIONES

permite evidenciar factores genéticos que podrían no ser observados en otras poblaciones más heterogéneas.

- El componente nativoamericano de la población uruguaya podría no ser igual a los reportados para otras poblaciones ya que, en su mayoría, las investigaciones de farmacogenética y ancestralidad son realizadas con hispanos de Estados Unidos.
- Finalmente, no se pueden descartar factores micro-evolutivos como deriva genética o efectos fundadores que hayan aumentado la frecuencia de variantes protectoras dentro del componente ancestral nativoamericano.

Las asociaciones observadas entre la respuesta al tratamiento y/o las toxicidades con la ancestralidad nativoamericana resaltan la importancia de estudiar las poblaciones de Latinoamérica debido a sus diferencias con las poblaciones ancestrales y su gran heterogeneidad.

8 PERSPECTIVAS

- Aumentar el número de AIMS para determinar con mayor exactitud la ancestralidad tanto individual como global de la muestra.
- Estudiar variantes en los genes *ARID5B*, *CDKN2A*, *CEBPE*, *IKZF1* y *PIP4K2A* para detectar posibles factores de riesgo genéticos asociados a la predisposición de LLA y a la ancestralidad nativoamericana.
- Profundizar el análisis sobre la contribución del componente genético nativoamericano en la toxicidad neurológica para corroborar el posible efecto protector de este componente.
- Analizar la presencia de variantes en otros genes vinculados con el transporte y metabolismo de la PRED, VCR y L-ASP como por ejemplo *ABCC1*, *ABCC3*, *ATF5* y *CYP3A4* con el fin de investigar su implicancia en las toxicidades derivadas de la administración de estos fármacos.
- Identificar las posibles variantes genéticas hereditarias involucradas con el riesgo de recaída en pacientes pediátricos con LLA. Para esto, el equipo de trabajo del LGMH tiene un proyecto financiado por CSIC (I+D 2020), que plantea secuenciar mediante NGS el exoma de pacientes con y sin recaídas con el fin de identificar variantes de riesgo.

9 BIBLIOGRAFÍA

- 1000 Genomes Project Consortium, Auton, A., Brooks, L. D., Durbin, R. M., Garrison, E. P., Kang, H. M., ... Abecasis, G. R. (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature*, 526 (7571), 68-74.
- Akagi T, Yin, D, Kawamata, N, Bartram, C. R., Hofmann, W. K., Song J, H, Miller, C, W., den Boer, M, L, Koeffler, H, P, (2009). Functional analysis of a novel DNA polymorphism of a tandem repeated sequence in the asparagine synthetase gene in acute lymphoblastic leukemia cells. 33(7): 991–996. DOI: 10.1016/j.leukres.2008.10.022
- Al-Mahayri, Z. N., Patrinos, G. P., Ali, B. R. (2017). Pharmacogenomics in pediatric acutelymphoblastic leukemia: promises and limitations. *Pharmacogenomics*, 18(7):687-699. DOI: 10.2217/pgs-2017-0005
- Anglicheau, D., Verstuyft, C., Laurent-Puig, P., Becquemont, L., Schlageter, M. H., Cassinat, B., ... & Thervet, E. (2003). Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14(7), 1889-1896. DOI:10.1097/01.ASN.0000073901.94759.36
- Arribas, I. A., & Pérez, M. J. L. (2010). Farmacogenética y variabilidad interindividual en la respuesta a los medicamentos. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza.
- Asociación española de pediatría, 2020. <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/asparaginasa-pegilada>
- Atienza, A. L. (2016). Leucemias. Leucemia linfoblástica aguda. *Pediatr. Integr*, 20(6), 380-389.
- Ballón Cossío, David. (2014). L-Asparaginasa, un arma de doble filo pero de vital importancia. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 53(1), 24-28
- Ben Tanfous, M., Sharif-Askari, B., Ceppi, F., Laaribi, H., Gagné, V., Rousseau, J., ...& Krajinovic, M. (2015). Polymorphisms of asparaginase pathway and asparaginase-related complications in children with acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res*,15;21(2):329-34. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0508
- Bhatia, S. (2011). Role of genetic susceptibility in development of treatment-related adverse outcomes in cancer survivors. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 20(10), 2048-2067. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-11-0659.
- Bhatia, S., Sather, H. N., Heerema, N. A., Trigg, M. E., Gaynon, P. S., & Robison, L. L. (2002). Racial and ethnic differences in survival of children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 100(6), 1957-1964. DOI: 10.1182/blood-2002-02-0395
- Bhojwani, D., Sabin, N. D., Pei, D., Yang, J. J., Khan, R. B., Panetta, J. C., ... & Relling, M. V. (2014). Methotrexate-induced neurotoxicity and leukoencephalopathy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical oncology*, 32(9), 949. DOI: 10.1200/JCO.2013.53.0808.
- Bonilla, C., Bertoni, B., González, S., Cardoso, H., Brum-Zorrilla, N., & Sans, M. (2004). Substantial Native American ancestry in the population of Tacuarembó, Uruguay, detected using mitochondrial DNA polymorphisms. *Am. J. Hum. Biol*, 16, 289-297. DOI: 10.1002/ajhb.20025
- Bonilla, C., Bertoni, B., Hidalgo, P. C., Artagaveytia, N., Ackermann, E., Barreto, I.,... Kittles, R.A. (2015). Breast cancer risk and genetic ancestry: a case-control study in Uruguay. *BMC women's health*, 15(1), 1-10. DOI: 10.1186/s12905-015-0171-8
- Burgueño-Rodríguez, G., Méndez, Y., Olano, N., Dabezies, A., Bertoni, B., Souto, J., ... & Soler, A. M. (2020). Ancestry and TPMT-VNTR polymorphism: relationship with hematological toxicity in Uruguayan patients with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Frontiers in pharmacology*, 11. DOI: 10.3389/fphar.2020.594262
- Burke, M. J., & Zalewska-Szewczyk, B. (2022). Hypersensitivity reactions to asparaginase therapy in acute lymphoblastic leukemia: immunology and clinical consequences. *Future Oncology*, 18(10), 1285-1299. DOI: 10.2217/fo-2021-1288

BIBLIOGRAFÍA

- Cabrera L. 1992. El Indígena y la conquista en la Cuenca de la Laguna Merím. En Eds. del V. Centenario. Montevideo: Ed. Universidad de la República. 1: 97-122.
- Carozzi, V. A., Canta, A., & Chiorazzi, A. (2015). Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms?. *Neuroscience letters*, 596, 90-107. DOI: 10.1016/j.neulet.2014.10.014
- Cascorbi, I. (2006). Role of pharmacogenetics of ATP-binding cassette transporters in the pharmacokinetics of drugs. *Pharmacology & therapeutics*, 112(2), 457-473. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2006.04.009
- Castillo, L., Fluchel, M., Dabezies, A., Pieri, D., Brockhorst, N., & Barr, R. (2001). Childhood cancer in Uruguay: 1992–1994. Incidence and mortality. *Medical and Pediatric Oncology: The Official Journal of SIOP—International Society of Pediatric Oncology (Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique)*, 37(4), 400-404.
- Castillo, L., Dabezies, A., Dufort, G., Carracedo, M., Castiglioni, M., Simón, E., ... & Silveira, A. (2012). Evolucion del cáncer pediátrico en Uruguay (1992-2011). *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 83(1), 26-30.
- Ceppi F., Langlois-Pelletier, C., Gagné, V., Rousseau, J., Ciolino, C., De Lorenzo, S., ... & Krajcinovic, M. (2014). Polymorphisms of the vincristine pathway and response to treatment in children with childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics*, 15(8), 1105–1116. DOI: 10.2217/pgs.14.68
- Chambliss, A. B., Resnick, M., Petrides, A. K., Clarke, W. A., & Marzinke, M. A. (2017). Rapid screening for targeted genetic variants via high-resolution melting curve analysis. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 55(4), 507-516. DOI: 10.1515/cclm-2016-0603
- Chen, S. H., Pei, D., Yang, W., Cheng, C., Jeha, S., Cox, N.J., ... & Relling, M. V. (2010). Genetic variations in GRIA1 on chromosome 5q33 related to asparaginase hypersensitivity. *Clin Pharmacol Ther*, 96(5): 625. DOI: 10.1038/clpt.2010.94
- Cuppen, B. V., Pardali, K., Kraan, M. C., Marijnissen, A. C., Yrlid, L., Olsson, M.,... & Fritsch-Stork, R. D. (2017). Polymorphisms in the multidrug-resistance 1 gene related to glucocorticoid response in rheumatoid arthritis treatment. *Rheumatol Int*, 37(4):531-536. DOI: 10.1007/s00296-017-3653-1
- de Souza Malaspina, T. S., Zambuzzi, W. F., dos Santos, C. X., Campanelli, A. P., Laurindo, F. R. M., Sogayar, M. C., & Granjeiro, J. M. (2009). A possible mechanism of low molecular weight protein tyrosine phosphatase (LMW-PTP) activity modulation by glutathione action during human osteoblast differentiation. *Archives of oral biology*, 54(7), 642-650. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2009.03.011
- Dennison, J. B., Kulanthaivel, P., Barbuch, R.J., Renbarger, J. L., Ehlhardt, W.J., & Hall, S. D. (2006). Selective metabolism of vincristine in vitro by CYP3A5. *Drug Metab. Dispos*, 34(8), 1317–1327. DOI: 10.1124/dmd.106.009902
- Diouf, B., Crews, K. R., Lew, G., Pei, D., Cheng, C., Bao, J., ... & Evans, W. E. (2015). Association of an inherited genetic variant with vincristine-related peripheral neuropathy in children with acute lymphoblastic leukemia. *JAMA*, 313(8):815-23. DOI: 10.1001/jama.2015.0894
- Dufort y Álvarez, G. (2021). Epidemiología del cáncer en niños y adolescentes en Uruguay: 2008-2012. Un estudio de registro poblacional. *Archivos de Pediatría del Uruguay*, 92(1).DOI: 10.31134/AP.92.1.3
- Echebarria Barona, A. B. (2016). Implicación de los polimorfismos genéticos en la neurotoxicidad por Vincristina en pacientes pediátricos diagnosticados de Leucemia Linfoblástica Aguda. Tesis doctoral. Facultad de Medicina y Odontología. Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal. Iniversidad del País Vasco.
- Egbelakin, A., Ferguson, M. J., MacGill, E. A., Lehmann, A. S., Topletz, A. R., Quinney, S. K., ... & Renbarger, J. L. (2011). Increased risk of vincristine neurotoxicity associated with low CYP3A5 expression genotype in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric blood & cancer*, 56(3), 361-367. DOI: 10.1002/pbc.22845

BIBLIOGRAFÍA

- Excoffier, L. & H.E. L. Lischer (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567.
- FDA Approved Drug Products: Rayos Prednisone Delayed-Release Oral Tablets https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/202020s003lbl.pdf
- Fletcher, J. I., Haber, M., Henderson, M. J., & Norris, M. D. (2010). ABC transporters in cancer: more than just drug efflux pumps. *Nature Reviews Cancer*, 10(2), 147-156. DOI: 10.1038/nrc2789.
- Fonseca, M. H. G., da Silva Fiúza, T., de Morais, S. B., & Trevizani, R. (2021). Circumventing the side effects of L-asparaginase. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 139, 111616. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111616.
- Franca, R., Rebora, P., Bertorello, N., Fagioli, F., Conter, V., Biondi, A., ... & Rabusin, M. (2017). Pharmacogenetics and induction/consolidation therapy toxicities in acute lymphoblastic leukemia patients treated with AIEOP-BFM ALL 2000 protocol. *The pharmacogenomics journal*, 17(1), 4-10. DOI: 10.1038/tpj.2015.83
- Fujita, T. C., Sousa-Pereira, N., Amarante, M. K., & Watanabe, M. A. E. (2021). Acute lymphoid leukemia etiopathogenesis. *Molecular Biology Reports*, 48(1), 817-822. DOI: 10.1007/s11033-020-06073-3
- Gagné, V., Aubry-Morin, A., Plesa, M., Abaji, R., Petrykey, K., St-Onge, P., ... & Sallan, S. E. (2019). Genes identified through genome-wide association studies of osteonecrosis in childhood acute lymphoblastic leukemia patients. *Pharmacogenomics*, 20(17), 1189-1197. DOI: 10.2217/pgs-2019-0087
- Ganor, Y., & Levite, M. (2014). The neurotransmitter glutamate and human T cells: glutamate receptors and glutamate-induced direct and potent effects on normal human T cells, cancerous human leukemia and lymphoma T cells, and autoimmune human T cells. *Journal of neural transmission*, 121(8), 983-1006. DOI: 10.1007/s00702-014-1167-5 .
- Ganor, Y., Besser, M., Ben-Zakay, N., Unger, T., & Levite, M. (2003). Human T cells express a functional ionotropic glutamate receptor GluR3, and glutamate by itself triggers integrin-mediated adhesion to laminin and fibronectin and chemotactic migration. *The Journal of Immunology*, 170(8), 4362-4372. DOI: 10.4049/jimmunol.170.8.4362
- Gao, B., Tan, T., Cao, X., Pan, M., Yang, C., Wang, J., ... & Xia, Q. (2022). Relationship of cytochrome P450 gene polymorphisms with blood concentrations of hydroxychloroquine and its metabolites and adverse drug reactions. *BMC Medical Genomics*, 15(1), 1-10. DOI: 10.1186/s12920-022-01171-6
- Gao, J., & Liu, W. J. (2018). Prognostic value of the response to prednisone for children with acute lymphoblastic leukemia: a meta-analysis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 22(22), 7858-7866. DOI: 10.26355/eurrev_201811_16411
- Gasic, V., Zukic, B., Stankovic, B., Janic, D., Dokmanovic, L., Lazic, J., ... & Kotur, N. (2018). Pharmacogenomic markers of glucocorticoid response in the initial phase of remission induction therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Radiology and oncology*, 52(3), 296. DOI: 10.2478/raon-2018-0034
- Geiger, S., Lange, V., Suhl, P., Heinemann, V., & Stemmler, H. J. (2010). Anticancer therapy induced cardiotoxicity: review of the literature. *Anti-cancer drugs*, 21(6), 578-590. DOI: 10.1097/CAD.0b013e3283394624
- Gervasini, G., & Vagace, J. M. (2012). Impact of genetic polymorphisms on chemotherapy toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Frontiers in genetics*, 3, 249 DOI: 10.3389/fgene.2012.00249
- Gewirtz D. A., (1999). A Critical Evaluation of the Mechanisms of Action Proposed for the Antitumor Effects of the Anthracycline Antibiotics Adriamycin and Daunorubicin. *Biochemical Pharmacology*, Vol. 57, pp. 727–741. DOI: 10.1016/s0006-2952(98)00307-4

BIBLIOGRAFÍA

- Gregers, J., Green, H., Christensen, I. J., Dalhoff, K., Schroeder, H., Carlsen, N., ... & Peterson, C. (2015). Polymorphisms in the ABCB1 gene and effect on outcome and toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *The pharmacogenomics journal*, 15(4), 372-379. DOI: 10.1038/tpj.2014.81
- Guilleme, C. M., Delgado, R. F., Navarro, J. S., Aguirre, I. A., Solà, S. R., de Toledo Codina, J. S., ... & López, L. M. (2013, November). Actualización del tratamiento con L-asparaginasa en Pediatría. In *Anales de Pediatría* (Vol. 79, No. 5, pp. 329-e1). Elsevier Doyma. DOI: 10.1016/j.anpedi.2013.03.015
- Gutierrez-Camino, A., Martin-Guerrero, I., Lopez-Lopez, E., Echebarria-Barona, A., ... & Garcia-Orad, A. (2016). Lack of association of the CEP72 rs924607 TT genotype with vincristine-related peripheral neuropathy during the early phase of pediatric acute lymphoblastic leukemia treatment in a Spanish population. *Pharmacogenet Genomics*. 26(2):100-2. DOI: 10.1097/FPC.0000000000000191
- Hampras, S. S., Sucheston, L., Weiss, J., Baer, M. R., Zirpoli, G., Singh, P. K., ... & Moysich, K. B., (2010). Genetic polymorphisms of ATP-binding Cassette (ABC) proteins, overall survival and drug toxicity in patients with Acute Myeloid Leukemia. *Int J Mol Epidemiol Genet*. 1(3):201-207.
- Hench, P. S., Kendall, E. C., Slocumb, C. H., & Polley, H. F. (1950). Effects of cortisone acetate and pituitary ACTH on rheumatoid arthritis, rheumatic fever and certain other conditions: a study in clinical physiology. *Archives of internal medicine*, 85(4), 545-666.
- Harrison C. J. (2013). Targeting signaling pathways in acute lymphoblastic leukemia: new insights. *Hematology. American Society of Hematology. Education Program*, 2013, 118–125. DOI: 10.1182/asheducation-2013.1.118
- Heyes, N., Kapoor, P., & Kerr, I. D. (2018). Polymorphisms of the multidrug pump ABCG2: a systematic review of their effect on protein expression, function, and drug pharmacokinetics. *Drug Metabolism and Disposition*, 46(12), 1886-1899. DOI: 10.1124/dmd.118.083030
- Hidalgo, P.C., Bengochea, M., Abilleira, D., Cabrera, A., & Alvarez, I. (2005). Genetic admixture estimate in the Uruguayan population based on the loci LDLR, GYPA, HBG, GC and D7S8. *International Journal of Human Genetics*, 5(3), 217-222
- Hopkins, R. L., & Leinung, M. C. (2005). Exogenous Cushing's syndrome and glucocorticoid withdrawal. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 34(2), 371-384. Horowitz B, Madras BK, Meister A, Old LJ, Boyes EA, Stockert E. Asparagine synthetase activity of mouse leukemias, (1968). *Science* 160:533–5. DOI: 10.1126/science.160.3827.533.
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Garshell J, Miller D, Altekruse SF, Kosary CL, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (eds). *SEER Cancer Statistics Review, 1975-2011*, National Cancer Institute. Bethesda, MD, https://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2011/, based on November 2013 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2014.
- Hunger, S. P., & Mullighan, C. G. (2015). Acute lymphoblastic leukemia in children. *New England Journal of Medicine*, 373(16), 1541-1552. DOI: 10.1056/NEJMra1400972.
- IBM Corp. Released 2013. *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0*. Armonk, NY: IBM Corp.
- Inaba H, Pui C-H. (2010). Glucocorticoid use in acute lymphoblastic leukemia: comparison of prednisone and dexamethasone. *Lancet Oncol*. 11, 1096–1106. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70114-5
- Inaba, H., & Mullighan, C. G. (2020). Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *haematologica*, 105(11), 2524. DOI: 10.3324/haematol.2020.247031
- I.N.E.: Ascendencia étnico-racial. Instituto Nacional de Estadísticas (2011), pp. <http://www.ine.gub.uy/censos2011/resultadosfinales/pais%20poblacion.html>.
- International BFM Study Group. (I-BFM-SG). <https://bfminternational.wordpress.com/>

BIBLIOGRAFÍA

- Isola 1975. La esclavitud en el Uruguay desde sus comienzos hasta su extinción. (1743-1852) Comisión Nacional de Homenaje del Sesquicentenario de los hechos históricos de 1825. Talleres Gráficos Monteverde y Cia.
- Jafar, T., Prasad, N., Agarwal, V., Mahdi, A., Gupta, A., Sharma, R. K., ... & Agrawal, S. (2011). MDR-1 gene polymorphisms in steroid-responsive versus steroid-resistant nephrotic syndrome in children. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 26(12), 3968-3974. DOI: 10.1093/ndt/gfr150
- Jordan MA, & Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs. (2004). *Nature reviews Cancer* 4(4):253–265. DOI: 10.1038/nrc1317
- Kadan-Lottick, N. S., Ness, K. K., Bhatia, S., & Gurney, J. G. (2003). Survival variability by race and ethnicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Jama*, 290(15), 2008-2014. DOI:10.1001/jama.290.15.2008
- Kahn, J. M., Cole, P. D., Blonquist, T. M., Stevenson, K., Jin, Z., Barrera, S., ... & Kelly, K. M. (2018). An investigation of toxicities and survival in Hispanic children and adolescents with ALL: Results from the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium protocol 05-001. *Pediatric blood & cancer*, 65(3), e26871. DOI: 10.1002/psc.26871
- Kałużna, E., Strauss, E., Zając-Spychała, O., Gowin, E., Świątek-Kościelna, B., Nowak, J., ... & Januszkiewicz-Lewandowska, D. (2015). Functional variants of gene encoding folate metabolizing enzyme and methotrexate-related toxicity in children with acute lymphoblastic leukemia. *European journal of pharmacology*, 769, 93-99. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.10.058
- Kato, M. (2020). *Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia*. Springer. DOI: 10.1007/978-981-15-0548-5.
- Kawedia, J. D., Kaste, S. C., & Pei, D. (2011). Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and pharmacogenetic determinants of osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 117, 2340–2347. DOI: 10.1182/blood-2010-10-311969
- Kim R, Leake B, Choo E, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African-Americans, (2001). *Clin Pharmacol Ther* 70:189–199. DOI: 10.1067/mcp.2001.117412
- Kondo, C, Suzuki, H, Itoda, M. et al (2004) Functional analysis of SNP variants of BCRP/ABCG2. *Pharm Res* 21:1895–1903. DOI: 10.1023/b:pham.0000045245.21637.d4
- Kuehl, P., Zhang, J., Lin, Y., Lamba, J., Assem, M., Schuetz, J., ... & Maurel, P. (2001). Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nature genetics*, 27(4), 383-391. DOI: 10.1038/86882
- Kutszegi, N., Semsei, Á. F., Gézsi, A., Sági, J. C., Nagy, V., Csordás, K., ... & Szalai C. (2015). Subgroups of paediatric acute lymphoblastic leukaemia might differ significantly in genetic predisposition to asparaginase hypersensitivity. *PLoS ONE* 10(10), e0140136. DOI: 10.1371/journal.pone.0140136
- Lamba, J., Hebert, J.M., Schuetz, E. G., Klein, T. E. & Altman, R. B. (2012). PharmGKB summary: very important pharmacogene information for CYP3A5. *Pharmacogenet Genomics*. 22(7): 555–558. DOI: 10.1097/FPC.0b013e328351d47f
- Lauschke, V. M., Zhou, Y., & Ingelman-Sundberg, M. (2019). Novel genetic and epigenetic factors of importance for inter-individual differences in drug disposition, response and toxicity. *Pharmacology & therapeutics*, 197, 122-152. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2019.01.002
- Layton-Tovar, C. F. (2015). Factores de pronóstico en leucemia linfoblástica aguda pediátrica: posibles marcadores moleculares. *Medicina e Investigación*, 3(1), 85-91. DOI: 10.1016/j.mei.2015.02.008
- Lee, S. H., Antillon-Klussmann, F., Pei, D., Yang, W., Roberts, K. G., Li, Z., ... & Yang, J. J. (2022). Association of genetic ancestry with the molecular subtypes and prognosis of childhood acute lymphoblastic leukemia. *JAMA oncology*, 8(3), 354-363. DOI:10.1001/jamaoncol.2021.6826

BIBLIOGRAFÍA

- Liu, D., Wu, N., Sun, H., Dong, M., Guo, T., Chi, P.,... & Jin, Y. (2017). ABCG2 and NCF4 polymorphisms are associated with clinical outcomes in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP. *Oncotarget*, 6;8(35):58292-58303. DOI: 10.18632/oncotarget.16869
- López-López, E., Gutierrez-Camino, A., Bilbao-Aldaiturriaga, N., Pombar-Gomez, M., Martin-Guerrero, I., & Garcia-Orad, A. (2014). Pharmacogenetics of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics*, 15(10), 1383-1398. DOI:10.2217/PGS.14.106.
- López-López, E., Gutierrez-Camino, A., Astigarraga, I., Navajas, A., Echebarria-Barona, A., Garcia-Miguel, P., ... & Garcia-Orad, A. (2016). Vincristine pharmacokinetics pathway and neurotoxicity during early phases of treatment in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics*, 17(7), 731-741. DOI: 10.2217/pgs-2016-0001
- López-Santillan, M., Iparraguirre, L., Martin-Guerrero, I., Gutierrez-Camino, A., & Garcia-Orad, A. (2017). Review of pharmacogenetics studies of L-asparaginase hypersensitivity in acute lymphoblastic leukemia points to variants in the GRIA1 gene. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*, 32(1), 1-9. DOI: 10.1515/dmpt-2016-0033
- Loscocco, F., Visani, G., Ruzzo, A., Bagaloni, I., Fuligni, F., Galimberti, S., ... & Isidori, A. (2021). Clinical Relevance of ABCB1, ABCG2, and ABCC2 Gene Polymorphisms in Chronic Myeloid Leukemia Patients Treated With Nilotinib. *Frontiers in oncology*, 11, 1664. DOI: 10.3389/fonc.2021.672287
- Lu, Y., Kham, S. K. Y., Ariffin, H., Oei, A. M. I., Lin, H. P., Tan, A. M., ... & Yeoh, A. E. J. (2014). Host genetic variants of ABCB1 and IL15 influence treatment outcome in paediatric acute lymphoblastic leukaemia. *British journal of cancer*, 110(6), 1673-1680. DOI: 10.1038/bjc.2014.7
- Luo, H. H., Feng, X. F., Yang, X. L., Hou, R. Q., & Fang, Z. Z. (2020). Interactive effects of asparagine and aspartate homeostasis with sex and age for the risk of type 2 diabetes risk. *Biology of sex Differences*, 11(1), 1-10. DOI: 10.1186/s13293-020-00328-1
- Maamari, D., El-Khoury, H., Saifi, O., Muwakkit, S. A., & Zgheib, N. K. (2020). Implementation of Pharmacogenetics to Individualize Treatment Regimens for Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 13, 295. DOI: 10.2147/PGPM.S239602
- Martin-Guerrero, I., Gutierrez-Camino, A., Echebarria-Barona, A., Astigarraga, I., García de Andoind, N., Narvajas, A., Garcia-Orad, A. (2019). Variants in vincristine pharmacodynamic genes involved in neurotoxicity at induction phase in the therapy of pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J*. Feb 6. DOI: 10.1038/s41397-019-0081-5.
- Maciques Rodríguez, R., Machado Sigler, O. S., Rivera Ladino, K. M., Monteagudo Licea, J., Martínez Benítez, M., & Castillo Meriño, D. (2013). Relación entre estado nutricional y complicaciones posoperatorias en cardiopatías acianóticas y flujo pulmonar aumentado. *Revista cubana de Pediatría*, 85(3), 330-337.
- Matasar, M. J., Ritchie, E. K., Consedine, N., Magai, C., & Neugut, A. I. (2006). Incidence rates of the major leukemia subtypes among US Hispanics, Blacks, and non-Hispanic Whites. *Leukemia & lymphoma*, 47(11), 2365-2370. DOI: 10.1080/10428190600799888
- Mattano Jr, L. A., Sather, H. N., Trigg, M. E., & Nachman, J. B. (2000). Osteonecrosis as a complication of treating acute lymphoblastic leukemia in children: a report from the Children's Cancer Group. *Journal of Clinical Oncology*, 18(18), 3262-3272. DOI: 10.1200/JCO.2000.18.18.3262
- McClain, C. A., Bernhardt, M. B., Berger, A., Bernini, J. C., Marquez-Do, D., Winslow, R., ... & Schafer, E. S. (2018). Pharmacogenetic association with neurotoxicity in Hispanic children with acute lymphoblastic leukaemia. *British journal of haematology*, 181(5), 684-687. DOI: 10.1111/bjh.14678
- Mejia-Arangure JM, McNally RJQ & Pombo-de-Oliveira MS (2021) Editorial: Prevention in Acute Leukemias in Children. *Front. Public Health* 9:700739. DOI: 10.3389/fpubh.2021.700739
- Miller, S., Dykes, D., & Polesky, H. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids res*, 16(3), 1215. DOI: 10.1093/nar/16.3.1215

BIBLIOGRAFÍA

- Mitra, R. (2011). Adverse effects of corticosteroids on bone metabolism: a review. *PM&R*, 3(5), 466-471. DOI: 10.1016/j.pmrj.2011.02.017
- Mo, W., & Zhang, J. T. (2012). Human ABCG2: structure, function, and its role in multidrug resistance. *International journal of biochemistry and molecular biology*, 3(1), 1.
- Mohammad, I. S., He, W., & Yin, L. (2018). Understanding of human ATP binding cassette superfamily and novel multidrug resistance modulators to overcome MDR. *Biomed Pharmacother*. Apr; 100:335-348. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.02.038.
- Moriyama, T., Nishii, R., Perez-Andreu, V., Yang, W., Klussmann, F. A., Zhao, X., ... & Yang, J. J. (2016). NUDT15 polymorphisms alter thiopurine metabolism and hematopoietic toxicity. *Nature genetics*, 48(4), 367-373. DOI: 10.1038/ng.3508
- Mörücke, A., Zimmermann, M., Reiter, A., Henze, G., Schrauder, A., Gadner, H., ... & Schrappe, M. (2010). Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia*, 24(2), 265-284. DOI: 10.1038/leu.2009.257
- Müller, H. J., Löning, L., Horn, A., Schwabe, D., Gunkel, M., Schrappe, M., ... & Boos, J. (2000). Pegylated asparaginase (Oncaspar™) in children with ALL: drug monitoring in reinduction according to the ALL/NHL-BFM 95 protocols. *British journal of haematology*, 110(2), 379-384. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2000.02187.x
- Mullighan, C. G. (2012). The molecular genetic makeup of acute lymphoblastic leukemia. *Hematology 2010, the American Society of Hematology Education Program Book*, 2012(1), 389-396. DOI: 10.1182/asheducation.V2012.1.389.3798360
- Navarrete-Meneses, M. D. P., & Pérez-Vera, P. (2017). Alteraciones epigenéticas en leucemia linfoblástica aguda. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 74(4), 243-264. DOI: 10.1016/j.bmhix.2017.02.005.
- Noronha, E. P., Marinho, H. T., Thomaz, E. B. A. F., Silva, C. A., Veras, G. L. R., & Oliveira, R. A. G. (2011). Immunophenotypic characterization of acute leukemia at a public oncology reference center in Maranhão, northeastern Brazil. *Sao Paulo Medical Journal*, 129(6), 392-401. DOI: 10.1590/S1516-31802011000600005
- Olarte Carrillo, I., Ramos Peñafiel, C., Miranda Peralta, E., Rozen Fuller, E., Kassack Ipina, J. J., Centeno Cruz, F., ... & Martínez Tovar, A. (2017). Clinical significance of the ABCB1 and ABCG2 gene expression levels in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*, 22(5), 286-291. DOI: 10.1080/10245332.2016.1265780
- Ortiz, M. I., Rivera-Roldán, S., Escamilla-Acosta, M. A., Romo-Hernández, G., Ponce-Monter, H. A., & Escárcega, R. (2013). Side effects of vincristine and L-asparaginase in patients with acute lymphoblastic leukemia in a mexican pediatric hospital. DOI: 10.4236/pp.2013.43050
- Panosyan, E. H., Seibel, N. L., Martin-Aragon, S., Gaynon, P. S., Avramis, I. A., Sather, H., ... & Avramis, V. I. (2004). Asparaginase antibody and asparaginase activity in children with higher-risk acute lymphoblastic leukemia: Children's Cancer Group Study CCG-1961. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 26(4), 217-226. DOI: 10.1097/00043426-200404000-00002
- Pastorcak, A., Fendler, W., Zalewska-Szewczyk, B., Górniak, P., Lejman, M., Trelńska, J., ... & Mlynarski, W. (2014). Asparagine synthetase (ASNS) gene polymorphism is associated with the outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia by affecting early response to treatment. *Leukemia research*, 38(2), 180-183. DOI: 10.1016/j.leukres.2013.10.027
- Pei, J. S., Hsu, C. M., Tsai, C. W., Chang, W. S., Ji, H. X., Hsiao, C. L., ... & Bau, D. T. (2015). The association of methylenetetrahydrofolate reductase genotypes with the risk of childhood leukemia in Taiwan. *PloS one*, 10(3), e0119776. DOI: 10.1371/journal.pone.0119776
- Perretti, M., & Ahluwalia, A. (2000). The microcirculation and inflammation: site of action for glucocorticoids. *Microcirculation*, 7(3), 147-161. DOI: 10.1080/mic.7.3.147.161
- Pi R. & D.Vidart 1969 El legado de los inmigrantes, I. Montevideo: Nuestra Tierra, 29: 1-60.

BIBLIOGRAFÍA

- Pieters, R., Hunger, S. P., Boos, J., Rizzari, C., Silverman, L., Baruchel, A., ... & Pui, C. H. (2011). L-asparaginase treatment in acute lymphoblastic leukemia: a focus on Erwinia asparaginase. *Cancer*, 117(2), 238-249. DOI: 10.1002/cncr.25489
- Poonkuzhali, B., Lamba, J., Strom, S., Sparreboom, A., Thummel, K., Watkins, P., & Schuetz, E. (2008). Association of breast cancer resistance protein/ABCG2 phenotypes and novel promoter and intron 1 single nucleotide polymorphisms. *Drug metabolism and disposition*, 36(4), 780-795.
- Pritchard, J. K., Stephens, M., and Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155 (2), 945–959. DOI: 10.1093/genetics/155.2.945
- Proc, P., Szczepańska, J., Zubowska, M., Wyka, K., & Młynarski, W. (2020). Salivary immunoglobulin A level during steroids and chemotherapy treatment administered in remission induction phase among pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Medicine*, 99(42). DOI: 10.1097/MD.00000000000022802
- Pui, C. H., Robison, L. L., & Look, A. T. (2008). Acute lymphoblastic leukaemia. *The Lancet*, 371(9617), 1030-1043. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)60457-2
- Quiroz, E., Aldoss, I., Pullarkat, V., Rego, E., Marcucci, G., & Douer, D. (2019). The emerging story of acute lymphoblastic leukemia among the Latin American population—biological and clinical implications. *Blood reviews*, 33, 98-105. DOI: 10.1016/j.blre.2018.08.002
- Rahmani-Jourdheuil, D., Coloma, F., Placidi, M., & Rahmani, R. (1994). Human hepatic uptake of two vinca alkaloids: Navelbine and vincristine. *Journal of pharmaceutical sciences*, 83(4), 468-471.
- Rajić, V., Debeljak, M., Goričar, K., & Jazbec, J. (2015). Polymorphisms in GRIA1 gene are a risk factor for asparaginase hypersensitivity during the treatment of childhood ALL. *Leukemia & Lymphoma*. DOI: 10.3109/10428194.2015.1020802
- Renbarger, J. L., McCammack, K. C., Rouse, C. E., & Hall, S. D. (2008). Effect of race on vincristine-associated neurotoxicity in pediatric acute lymphoblastic leukemia patients. , 50(4):769-71. DOI: 10.1002/pbc.21435
- Richards, N. G., & Kilberg, M. S. (2006). Asparagine synthetase chemotherapy. *Annu. Rev. Biochem.*, 75, 629-654. DOI: 10.1146/annurev.biochem.75.103004.142520
- Russo, M. G., Di Fabio Rocca, F., Doldán, P., Cardozo, D. G., Dejean, C. B., Seldes, V., & Avena, S. A. (2016). Evaluación del número mínimo de marcadores para estimar ancestría individual en una muestra de la población argentina. *Revista del Museo de Antropología* 9(1), 49-56.
- Safran M, Rosen N, Twik M, BarShir R, Iny Stein T, Dahary D, Fishilevich S, and Lancet D. The GeneCards Suite Chapter, Practical Guide to Life Science Databases (2022) pp 27-56. DOI: 10.1007/978-981-16-5812-9_2. <http://genecards.org>.
- Sahasranaman, S., Howard, D., & Roy, S. (2008). Clinical pharmacology and pharmacogenetics of thiopurines. *European journal of clinical pharmacology*, 64(8), 753-767. DOI: 10.1007/s00228-008-0478-6
- Sala, A., Mattano Jr, L. A., & Barr, R. D. (2007). Osteonecrosis in children and adolescents with cancer—an adverse effect of systemic therapy. *European journal of cancer*, 43(4), 683-689. DOI: 10.1016/j.ejca.2006.11.002
- Sánchez-Lázaro, I., Herrero, M. J., Jordán-De Luna, C., Bosó, V., Almenar, L., Rojas, L., ... & Aliño, S. F. (2015). Association of SNPs with the efficacy and safety of immunosuppressant therapy after heart transplantation. *Pharmacogenomics*, 16(9), 971-979. DOI: 10.2217/PGS.15.39
- Sans M. 1992. Genética e historia, hacia una revisión de nuestra identidad como “país de inmigrantes”. Eds. del V. Centenario. FHCE-UDELAR.
- Sans M. 1994. Estudio genético e histórico de la población del departamento de Tacuarembó, Uruguay. Tesis para la obtención del grado de Doctor en Biología (opción Genética), PEDECIBA, Montevideo.

BIBLIOGRAFÍA

- Sans M, F.M. Salzano y R. Chakraborty. 1997. Historical genetics in Uruguay: estimates of biological origins and their problems. *Hum. Biol.* 69: 161-170.
- Sans, M., Figueiro, G., Bonilla, C., Bertoni, B., Cappetta, M., Artagaveytia, N., ... & Hidalgo, P. C. (2021). Ancestría genética y estratificación social en Montevideo, Uruguay. *Revista argentina de antropología biológica*, 23(1), 9-10. DOI: 10.24215/18536387e029
- Schijvens, A. M., Ter Heine, R., De Wildt, S. N., & Schreuder, M. F. (2019). Pharmacology and pharmacogenetics of prednisone and prednisolone in patients with nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrology*, 34(3), 389-403. DOI: 10.1007/s00467-018-3929-zos
- Sharma, S. T., & Nieman, L. K. (2011). Cushing's syndrome: all variants, detection, and treatment. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 40(2), 379-391. DOI: 10.1016/j.ecl.2011.01.006.
- Shrivastava, A., Khan, A. A., Khurshid, M., Kalam, M. A., Jain, S. K., & Singhal, P. K. (2016). Recent developments in l-asparaginase discovery and its potential as anticancer agent. *Critical reviews in oncology/hematology*, 100, 1-10. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2015.01.002
- Silverman, L. B., Gelber, R. D., Dalton, V. K., Asselin, B. L., Barr, R. D., Clavell, L. A., ... & Sallan, S. E. (2001). Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium Protocol 91-01. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 97(5), 1211-1218. DOI: 10.1182/blood.v97.5.1211
- Sims, R.P. (2016) The effect of race on the CYP3A-mediated metabolism of vincristine in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*, 22, 76–81. DOI: 10.1177/1078155214553143
- Soler Cantera, A. Farmacogenética de la leucemia linfoblástica aguda pediátrica en Uruguay. Tesis de doctorado. Montevideo : Udelar. FC - PEDECIBA. 2021
- Soler, A. M., Olano, N., Méndez, Y., Lopes, A., Silveira, A., Dabezies, A., ... & da Luz, J. A. (2018). TPMT and NUDT15 genes are both related to mercaptopurine intolerance in acute lymphoblastic leukaemia patients from Uruguay. *British journal of haematology*, 181(2), 252-255. DOI: 10.1111/bjh.14532
- Song, Q. Q., Xie, W. Y., Tang, Y. J., Zhang, J., & Liu J. (2017). Genetic variation in the glucocorticoid pathway involved in interindividual differences in the glucocorticoid treatment. *Pharmacogenomics*, 18(3):293-316. DOI: 10.2217/pgs-2016-0151
- Stiburkova, B., Pavelcova, K., Zavada, J., Petru, L., Simek, P., Cepek, P., ... & Pavelka, K. (2017). Functional non-synonymous variants of ABCG2 and gout risk. *Rheumatology*, 56(11), 1982-1992. DOI:10.1093/rheumatology/kex295
- Stock, W., Diouf, B., Crews, K. R., Pei, D., Cheng, C., Laumann, K., ... & Larson, R. A. (2017). An inherited genetic variant in CEP72 promoter predisposes to vincristine-induced peripheral neuropathy in adults with acute lymphoblastic leukemia. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 101(3), 391-395. DOI: 10.1002/cpt.506
- Suzuki, M., Suzuki, H., Sugimoto, Y., & Sugiyama, Y. (2003). ABCG2 transports sulfated conjugates of steroids and xenobiotics. *Journal of Biological Chemistry*, 278(25), 22644-22649. DOI: 10.1074/jbc.M212399200
- Tao, G., Huang, J., Moorthy, B., Wang, C., Hu, M., Gao, S., & Ghose, R. (2020). Potential role of drug metabolizing enzymes in chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity and hepatotoxicity. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 16(11), 1109-1124. DOI:10.1080/17425255.2020.1815705.
- Triarico, S., Romano, A., Attinà, G., Capozza, M. A., Maurizi, P., Mastrangelo, S., & Ruggiero, A. (2021). Vincristine-induced peripheral neuropathy (VIPN) in pediatric tumors: Mechanisms, risk factors, strategies of prevention and treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8), 4112. DOI: 10.3390/ijms22084112

BIBLIOGRAFÍA

- Ullastre, I. S., & Pérez, A. P. (2011). Hiperglucemia inducida por glucocorticoides. *Seminarios de la Fundación Española de Reumatología*, 12(3), 83-90. DOI: 10.1016/j.semreu.2011.04.004
- Van Ness, B., Ramos, C., Haznadar, M., Hoering, A., Haessler, J., Crowley, J., ... & Morgan, G. (2008). Genomic variation in myeloma: design, content, and initial application of the Bank On A Cure SNP Panel to detect associations with progression-free survival. *BMC medicine*, 6(1), 1-14. DOI: 10.1186/1741-7015-6-26
- Verma N, Kumar K, Kaur G, Anand S. L-asparaginase: a promising chemotherapeutic agent. (2007). *Crit Rev Biotechnol*, 27:45–62. DOI: 10.1080/07388550601173926
- Vezmar, S., Becker, A., Bode, U., & Jaehde, U. (2003). Biochemical and clinical aspects of methotrexate neurotoxicity. *Chemotherapy*, 49(1-2), 92-104. DOI: 10.1159/000069773
- Wacker, P., Land, V. J., Camitta, B. M., Kurtzberg, J., Pullen, J., Harris, M. B., & Shuster, J. J. (2007). Allergic reactions to *E. coli* L-asparaginase do not affect outcome in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group Study. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 29(9), 627-632. DOI: 10.1097/MPH.0b013e3181483df1
- Walsh, K. M., Chokkalingam, A. P., Hsu, L. I., Metayer, C., De Smith, A. J., Jacobs, D. I., ... & Buffler, P. A. (2013). Associations between genome-wide Native American ancestry, known risk alleles and B-cell ALL risk in Hispanic children. *Leukemia*, 27(12), 2416-2419. DOI: 10.1038/leu.2013.130.
- Whirl-Carrillo, M., McDonagh, E. M., Hebert, J. M., Gong, L., Sangkuhl, K., Thorn, C. F., ... & Klein, T. E. (2012). Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 92(4), 414-417. DOI: 10.1038/clpt.2012.96
- Xie, H. G., Wood, A. J., Kim, R. B., Stein, C. M., & Wilkinson, G. R. (2004). Genetic variability in CYP3A5 and its possible consequences. *Pharmacogenomics*, 5(3), 243-272. DOI: 10.1517/phgs.5.3.243.29833
- Xu, H., Cheng, C., Devidas, M., Pei, D., Fan, Y., Yang, W., ... & Yang, J. J. (2012). ARID5B genetic polymorphisms contribute to racial disparities in the incidence and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical oncology*, 30(7), 751. DOI: 10.1200/JCO.2011.38.0345
- Xu, H., Yang, W., Perez-Andreu, V., Devidas, M., Fan, Y., Cheng, C., ... & Yang, J. J. (2013). Novel susceptibility variants at 10p12. 31-12.2 for childhood acute lymphoblastic leukemia in ethnically diverse populations. *Journal of the National Cancer Institute*, 105(10), 733-742. DOI: 10.1093/jnci/djt042
- Xuan, M., Li, H., Fu, R., Yang, Y., Zhang, D., Zhang, X., & Yang, R. (2014). Association of ABCB1 gene polymorphisms and haplotypes with therapeutic efficacy of glucocorticoids in Chinese patients with immune thrombocytopenia. *Human immunology*, 75(4), 317-321. DOI: 10.1016/j.humimm.2014.01.013
- Yaeger, R., Avila-Bront, A., Abdul, K., Nolan, P.C., Grann, V.R., Birchette, M.G., ... & Joe, A.K. (2008). Comparing genetic ancestry and self-described race in african americans born in the United States and in Africa. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 17(6), 1329-1338. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2505
- Yang, W., Treviño, L. R., Yang, J. J., Scheet, P., Pui, C. H., Evans, W. E., & Relling, M. V. (2010). ARID5B SNP rs10821936 is associated with risk of childhood acute lymphoblastic leukemia in blacks and contributes to racial differences in leukemia incidence. *Leukemia*, 24(4), 894-896. DOI: 10.1038/leu.2009.277
- Yang, J.J., Cheng, C., Devidas, M., Cao, X., Campana, D., Yang, W., ... & Relling, M.V. (2012). Genome-wide association study identifies germline polymorphisms associated with relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 120(20), 4197-4204. DOI: 10.1182/blood-2012-07-440107
- Yao, S., Zhu, Q., Cole, P. D., Stevenson, K., Harris, M. H., Schultz, E., ... & Kelly, K. M. (2021). Genetic ancestry and skeletal toxicities among childhood acute lymphoblastic leukemia patients in the DFCI 05-001 cohort. *Blood advances*, 5(2), 451-458. DOI: 10.1182/bloodadvances.2020003060.

BIBLIOGRAFÍA

- Youssef, Y. H., Makkeyah, S. M., Soliman, A. F., & Meko, N. H. (2021). Influence of genetic variants in asparaginase pathway on the susceptibility to asparaginase-related toxicity and patients' outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 88(2), 313-321. DOI: 10.1007/s00280-021-04290-6
- Zalewska-Szewczyk, B., Andrzejewski, W., Młynarski, W., Jędrychowska-Dańska, K., Witas, H., & Bodalski, J. (2007). The anti-asparagines antibodies correlate with L-asparagines activity and may affect clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia & lymphoma*, 48(5), 931-936. DOI: 10.1080/10428190701292049
- Zambuzzi, W. F., Granjeiro, J. M., Parikh, K., Yuvaraj, S., Peppelenbosch, M. P., & Ferreira, C. V. (2008). Modulation of Src activity by low molecular weight protein tyrosine phosphatase during osteoblast differentiation. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 22(5-6), 497-506. DOI: 10.1159/000185506
- Zhai, X., Wang, H., Zhu, X., Miao, H., Qian, X., Li, J., ... & Wu, Y. (2012). Gene polymorphisms of ABC transporters are associated with clinical outcomes in children with acute lymphoblastic leukemia. *Archives of medical science: AMS*, 8(4), 659. DOI: 10.5114/aoms.2012.30290.

ANEXO

Tabla 1. Diferencias poblacionales respecto a la muestra de pacientes. Para cada variante se muestran los valores de significancia del tets de diferenciación poblacional entre las frecuencias genotípicas determinadas para la muestra de pacientes y las de la base de datos "1000 genomas". Valores <0,05 indican que existen diferencias entre las poblaciones.

Gen	Variante	IBS*	TSI*	CEU*	YRI*	LWK*	CHB*	CHS*	CLM*	MXL*	PEL*	PUR*
ACP1	rs12714403	0,651	0,435	0,124	0,000	0,000	0,343	0,614	0,921	0,662	0,474	1,000
	rs11553746	0,607	0,904	0,085	0,000	0,000	0,628	0,156	0,592	0,372	0,608	0,704
ABCB1	rs2032582	0,976	0,681	0,690	0,000	0,000	0,000	0,000	0,182	0,479	0,000	0,949
	rs9282564	0,245	1,000	0,142	0,000	0,001	0,000	0,000	0,372	0,479	0,015	0,065
ABCG2	rs2231137	0,000	0,007	0,000	0,001	0,438	0,000	0,000	0,915	0,050	0,000	1,000
CYP3A5	rs776746	0,449	0,048	0,014	0,000	0,000	0,000	0,000	0,075	0,002	0,954	0,000
	rs10264272	0,565	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	0,558	0,070	0,278	0,001
	rs41303343	1,000	1,000	1,000	0,000	0,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
CEP72	rs924607	0,117	0,415	0,034	0,000	0,000	0,317	0,099	0,038	0,105	0,067	0,312
ASNS	rs3832526	0,001	0,035	0,000	0,395	0,370	0,300	0,192	0,428	0,100	0,001	0,862
	rs1049674	0,000	0,047	0,003	0,000	0,000	0,008	0,000	0,033	0,080	0,030	0,001
GRIA1	rs4958351	0,983	0,002	0,328	0,260	0,012	0,000	0,000	0,907	0,361	0,000	0,554
	rs11951398	1,000	0,057	0,357	0,000	0,005	0,000	0,001	0,137	0,032	0,007	0,650

* : Datos extraídos de la base de datos "1000 genomas". IBS: Población ibérica de España. TSI: Población toscanini de Italia. CEU: Residentes de Utha con ancestralidad del norte y oeste europeo. YRI: Población de Yoruba en Ibadan, Nigeria. LWK: Población de Luhya en Webuye, Kenia. CHB: Población Han en Beijin, China. CHS: Población Han del sur, China. CLM: Población colombiana de Medellin. MXL: Población de Los Ángeles con ancestralidad mejicana PEL: Población peruana de Lima. PUR: Población de Puerto Rico. (1000 Genomes Project Consortium, 2015).

ANEXO

Tabla 2. Marcadores Informativos de ancestralidad (AIMs) en pacientes y controles

Crom.	AIMs	PACIENTES			CONTROLES		
		Frec. alélica ¹	Frec. homocigota ²	Frec. heterocigota	Frec. alélica ¹	Frec. homocigota ²	Frec. heterocigota
1	rs1934393~	0,391	0,162	0,457	0,383	0,095	0,575
	rs2817611	0,107	0,012	0,191	0,085	0,000	0,170
	rs6684063~	0,332	0,121	0,422	0,314	0,050	0,528
2	rs1036543	0,227	0,052	0,351	0,193	0,040	0,307
	rs842634	0,251	0,058	0,387	0,299	0,082	0,434
	rs1470524	0,746	0,555	0,382	0,712	0,494	0,437
3	rs10510791	0,526	0,285	0,482	0,560	0,345	0,430
	rs9310888	0,945	0,890	0,110	0,918	0,849	0,138
4	rs10519979	0,528	0,270	0,515	0,508	0,245	0,525
	rs1398829	0,040	0,006	0,069	0,060	0,006	0,107
5	rs10515535	0,431	0,195	0,472	0,477	0,236	0,482
	rs257748	0,451	0,214	0,474	0,462	0,205	0,513
6	rs10484578	0,446	0,194	0,505	0,453	0,185	0,535
	rs6911727	0,607	0,368	0,479	0,558	0,333	0,449
	rs9320808	0,723	0,526	0,393	0,678	0,471	0,414
7	rs10248051	0,636	0,400	0,472	0,680	0,445	0,470
	rs10214949	0,116	0,017	0,197	0,126	0,025	0,201
	rs10486576	0,759	0,595	0,327	0,752	0,584	0,336
8	rs1898280*	0,661	0,490	0,342	0,699	0,495	0,409
	rs4733652	0,267	0,064	0,407	0,239	0,057	0,363
9	rs10491654	0,444	0,172	0,543	0,384	0,125	0,518
	rs4013967*	0,734	0,572	0,324	0,741	0,557	0,367
10	rs10508349*	0,115	0,031	0,168	0,095	0,020	0,150
	rs1397618	0,055	0,000	0,110	0,076	0,006	0,139
11	rs10501474~	0,584	0,321	0,526	0,595	0,390	0,410
	rs948360	0,901	0,807	0,187	0,896	0,811	0,170
12	rs249847*	0,569	0,390	0,359	0,558	0,335	0,445
	rs4762106*~	0,712	0,558	0,308	0,680	0,506	0,348
13	rs10507688	0,750	0,566	0,367	0,796	0,633	0,327
	rs2585901	0,313	0,105	0,415	0,320	0,101	0,437
14	rs10131076	0,127	0,014	0,226	0,126	0,015	0,221
	rs1451928*	0,301	0,047	0,509	0,282	0,082	0,399
15	rs10520678	0,806	0,638	0,337	0,793	0,610	0,365
	rs9302185	0,150	0,023	0,254	0,190	0,045	0,290
16	rs1004704	0,288	0,092	0,393	0,265	0,060	0,410
	rs10500505	0,216	0,053	0,325	0,145	0,026	0,237
17	rs10491097~	0,434	0,184	0,500	0,368	0,170	0,395
	rs2253624	0,905	0,815	0,179	0,918	0,842	0,152
18	rs1013459	0,172	0,041	0,262	0,143	0,006	0,274
	rs12953952	0,939	0,878	0,122	0,899	0,810	0,177
19	rs888861	0,349	0,145	0,407	0,348	0,127	0,443
20	rs708915	0,668	0,474	0,387	0,689	0,453	0,472
	rs2208139	0,459	0,233	0,453	0,469	0,255	0,428
21	rs2829454	0,669	0,462	0,415	0,698	0,495	0,405
22	rs138022	0,240	0,051	0,378	0,273	0,095	0,355

1: Frecuencia del alelo de referencia. 2: Frecuencia del genotipo homocigota para el alelo de referencia.

*: AIMs en no equilibrio de Hardy Weinberg en la muestra LLA

~: AIMs en no equilibrio de Hardy Weinberg en la muestra control

Tabla 3. Ancestralidad individual de la muestra de pacientes

ID	Africana	Europea	Nativo Am.	ID	Africana	Europea	Nativo Am.
FL1	0,089	0,413	0,498	FL51	0,080	0,845	0,167
FL3	0,034	0,865	0,101	FL52	0,061	0,716	0,223
FL4	0,041	0,883	0,083	FL54	0,248	0,319	0,433
FL5	0,025	0,558	0,417	FL55	0,048	0,846	0,106
FL6	0,102	0,824	0,076	FL56	0,113	0,681	0,206
FL7	0,039	0,816	0,145	FL57	0,102	0,840	0,058
FL8	0,276	0,590	0,134	FL58	0,113	0,593	0,294
FL9	0,036	0,902	0,062	FL59	0,067	0,856	0,297
FL10	0,115	0,779	0,115	FL61	0,074	0,686	0,240
FL11	0,182	0,572	0,246	FL62	0,176	0,715	0,109
FL12	0,053	0,593	0,354	FL64	0,107	0,772	0,423
FL13	0,310	0,824	0,199	FL66	0,249	0,502	0,249
FL14	0,100	0,722	0,178	FL67	0,100	0,708	0,192
FL15	0,075	0,826	0,368	FL68	0,209	0,550	0,477
FL16	0,046	0,828	0,126	FL70	0,136	0,737	0,202
FL17	0,143	0,819	0,038	FL71	0,062	0,837	0,219
FL19	0,183	0,422	0,395	FL72	0,331	0,631	0,038
FL21	0,033	0,860	0,107	FL73	0,108	0,501	0,391
FL22	0,195	0,643	0,162	FL74	0,068	0,579	0,308
FL23	0,064	0,801	0,135	FL75	0,343	0,888	0,094
FL24	0,096	0,810	0,224	FL76	0,057	0,888	0,055
FL25	0,029	0,777	0,194	FL77	0,097	0,851	0,052
FL26	0,091	0,543	0,366	FL78	0,054	0,800	0,146
FL27	0,044	0,921	0,035	FL79	0,046	0,683	0,271
FL29	0,087	0,496	0,417	FL80	0,062	0,548	0,390
FL30	0,050	0,853	0,097	FL81	0,227	0,547	0,226
FL31	0,090	0,682	0,243	FL82	0,047	0,709	0,244
FL33	0,090	0,881	0,029	FL83	0,070	0,704	0,226
FL35	0,301	0,529	0,170	FL84	0,135	0,642	0,223
FL36	0,055	0,779	0,166	FL85	0,071	0,612	0,141
FL37	0,379	0,197	0,424	FL86	0,077	0,839	0,084
FL38	0,313	0,570	0,117	FL87	0,125	0,587	0,073
FL39	0,036	0,692	0,018	FL88	0,069	0,904	0,027
FL40	0,173	0,611	0,096	FL89	0,250	0,687	0,063
FL42	0,132	0,907	0,476	FL90	0,041	0,697	0,262
FL43	0,056	0,777	0,167	FL91	0,050	0,849	0,101
FL44	0,057	0,767	0,176	FL92	0,029	0,747	0,224
FL45	0,097	0,713	0,190	FL93	0,034	0,512	0,454
FL46	0,082	0,504	0,414	FL94	0,023	0,756	0,254
FL47	0,057	0,771	0,172	FL95	0,062	0,692	0,064
FL48	0,051	0,762	0,071	FL96	0,198	0,601	0,201
FL49	0,127	0,715	0,158	FL97	0,110	0,586	0,304

ANEXO

ID	Africana	Europea	Nativo Am.	ID	Africana	Europea	Nativo Am.
FL98	0,084	0,734	0,182	FL140	0,024	0,855	0,121
FL99	0,112	0,805	0,083	FL141	0,180	0,791	0,040
FL100	0,061	0,679	0,260	FL142	0,155	0,710	0,135
FL101	0,064	0,479	0,457	FL143	0,120	0,545	0,335
FL102	0,072	0,748	0,180	FL144	0,084	0,921	0,089
FL103	0,038	0,720	0,242	FL145	0,081	0,639	0,280
FL104	0,124	0,798	0,167	FL146	0,064	0,685	0,093
FL105	0,068	0,841	0,091	FL147	0,074	0,545	0,574
FL106	0,274	0,416	0,310	FL148	0,202	0,716	0,082
FL107	0,032	0,855	0,223	FL149	0,096	0,728	0,176
FL108	0,073	0,891	0,036	FL150	0,079	0,708	0,213
FL109	0,415	0,543	0,042	FL151	0,050	0,665	0,285
FL110	0,102	0,762	0,136	FL152	0,227	0,592	0,181
FL111	0,036	0,672	0,348	FL153	0,046	0,728	0,361
FL112	0,094	0,816	0,090	FL154	0,041	0,739	0,220
FL113	0,171	0,693	0,136	FL157	0,115	0,778	0,107
FL114	0,168	0,633	0,162	FL158	0,038	0,770	0,192
FL115	0,115	0,726	0,159	FL159	0,152	0,816	0,032
FL116	0,091	0,610	0,463	FL160	0,133	0,734	0,133
FL117	0,118	0,792	0,085	FL161	0,061	0,773	0,166
FL118	0,028	0,624	0,348	FL162	0,121	0,532	0,347
FL119	0,167	0,763	0,197	FL163	0,148	0,746	0,106
FL120	0,060	0,626	0,314	FL164	0,184	0,517	0,299
FL121	0,038	0,600	0,084	FL165	0,115	0,581	0,304
FL122	0,023	0,813	0,164	FL166	0,025	0,927	0,048
FL123	0,210	0,396	0,394	FL167	0,161	0,758	0,081
FL124	0,048	0,690	0,149	FL168	0,246	0,321	0,433
FL125	0,140	0,544	0,316	FL169	0,039	0,843	0,118
FL126	0,055	0,864	0,081	FL170	0,057	0,643	0,300
FL127	0,093	0,769	0,138	FL171	0,202	0,732	0,066
FL128	0,188	0,266	0,546	FL172	0,076	0,737	0,187
FL129	0,054	0,874	0,072	FL173	0,053	0,650	0,297
FL130	0,235	0,641	0,124	FL174	0,045	0,736	0,219
FL131	0,033	0,433	0,534	FL175	0,079	0,688	0,296
FL132	0,045	0,780	0,175	FL176	0,082	0,850	0,068
FL133	0,139	0,734	0,127	FL178	0,218	0,663	0,222
FL134	0,113	0,789	0,098	FL179	0,190	0,699	0,092
FL135	0,149	0,596	0,255	FL180	0,046	0,814	0,140
FL136	0,072	0,896	0,456	FL181	0,052	0,724	0,224
FL137	0,147	0,680	0,173	FL182	0,037	0,885	0,078
FL138	0,167	0,752	0,081	FL184	0,156	0,679	0,165
FL139	0,047	0,715	0,238	FL185	0,218	0,645	0,137

ANEXO

ID	Africana	Europea	Nativo Am.
FL186	0,050	0,763	0,187
FL189	0,200	0,674	0,126
FL190	0,090	0,855	0,183
FL192	0,103	0,834	0,063
FL194	0,054	0,808	0,138
FL195	0,065	0,482	0,453
FL198	0,154	0,701	0,145
FL199	0,036	0,850	0,114
FL200	0,120	0,811	0,069
FL201	0,210	0,656	0,134
FL202	0,072	0,683	0,245
FL203	0,112	0,515	0,373
FL206	0,036	0,721	0,243
FL207	0,176	0,741	0,083
FL209	0,094	0,717	0,189
FL210	0,157	0,668	0,175
FL211	0,038	0,772	0,190
FL212	0,032	0,596	0,372
FL213	0,047	0,611	0,468
FL214	0,148	0,575	0,277
FL215	0,099	0,824	0,077
FL216	0,057	0,838	0,385
FL217	0,054	0,662	0,207
FL218	0,035	0,770	0,195
FL219	0,043	0,937	0,020
FL221	0,110	0,559	0,138
FL222	0,081	0,574	0,517

Tabla 4. Ancestralidad individual de la muestra control

ID	Africana	Europea	Nativo Am.	ID	Africana	Europea	Nativo Am.
601	0,078	0,729	0,193	643	0,121	0,845	0,034
602	0,087	0,578	0,335	644	0,249	0,670	0,081
603	0,149	0,768	0,083	645	0,115	0,751	0,134
604	0,205	0,750	0,045	646	0,239	0,525	0,236
605	0,043	0,824	0,133	647	0,017	0,770	0,213
606	0,075	0,740	0,185	648	0,084	0,644	0,272
607	0,188	0,618	0,194	649	0,090	0,877	0,033
608	0,093	0,801	0,106	650	0,096	0,856	0,048
609	0,047	0,779	0,174	651	0,051	0,855	0,094
610	0,076	0,570	0,354	652	0,017	0,931	0,052
611	0,155	0,614	0,231	653	0,178	0,772	0,050
612	0,111	0,824	0,065	654	0,035	0,923	0,042
613	0,227	0,693	0,080	655	0,051	0,753	0,196
614	0,095	0,826	0,079	656	0,100	0,423	0,477
615	0,022	0,689	0,289	657	0,136	0,737	0,127
616	0,350	0,522	0,128	658	0,083	0,837	0,080
617	0,121	0,741	0,138	659	0,072	0,732	0,196
618	0,066	0,772	0,162	660	0,261	0,586	0,153
619	0,260	0,648	0,092	661	0,172	0,579	0,249
620	0,180	0,664	0,156	662	0,067	0,888	0,045
621	0,068	0,810	0,122	663	0,068	0,899	0,033
622	0,335	0,618	0,047	664	0,221	0,716	0,063
623	0,280	0,603	0,117	665	0,067	0,679	0,254
624	0,041	0,777	0,182	666	0,219	0,489	0,292
625	0,027	0,688	0,285	667	0,074	0,708	0,218
626	0,071	0,901	0,028	668	0,065	0,754	0,181
627	0,103	0,682	0,215	669	0,200	0,521	0,279
628	0,093	0,843	0,064	670	0,098	0,661	0,241
629	0,268	0,400	0,332	671	0,037	0,787	0,176
630	0,109	0,759	0,132	672	0,288	0,612	0,100
631	0,039	0,777	0,184	673	0,152	0,702	0,146
632	0,051	0,789	0,160	674	0,190	0,587	0,223
633	0,188	0,692	0,120	675	0,022	0,850	0,128
634	0,136	0,611	0,253	676	0,075	0,820	0,105
635	0,018	0,907	0,075	677	0,210	0,600	0,190
636	0,091	0,672	0,237	678	0,247	0,657	0,096
637	0,164	0,558	0,278	679	0,099	0,758	0,143
638	0,047	0,687	0,266	680	0,209	0,741	0,050
639	0,038	0,849	0,113	681	0,110	0,756	0,134
640	0,090	0,773	0,137	682	0,029	0,692	0,279
641	0,065	0,762	0,173	683	0,073	0,710	0,217
642	0,159	0,555	0,286	684	0,155	0,770	0,075

ANEXO

ID	Africana	Europea	Nativo Am.	ID	Africana	Europea	Nativo Am.
685	0,017	0,534	0,449	727	0,080	0,827	0,093
686	0,027	0,598	0,375	728	0,130	0,791	0,079
687	0,057	0,659	0,284	729	0,048	0,734	0,218
688	0,417	0,523	0,060	730	0,073	0,877	0,050
689	0,068	0,756	0,176	731	0,035	0,921	0,044
690	0,159	0,801	0,040	732	0,129	0,791	0,080
691	0,057	0,798	0,145	733	0,184	0,685	0,131
692	0,044	0,790	0,166	734	0,262	0,545	0,193
693	0,206	0,719	0,075	735	0,161	0,696	0,143
694	0,042	0,855	0,103	736	0,073	0,816	0,111
695	0,281	0,381	0,338	737	0,093	0,540	0,367
696	0,064	0,879	0,057	738	0,186	0,627	0,187
697	0,078	0,777	0,145	739	0,088	0,878	0,034
698	0,158	0,672	0,170	740	0,129	0,728	0,143
699	0,121	0,551	0,328	741	0,167	0,674	0,159
700	0,214	0,675	0,111	742	0,265	0,690	0,045
701	0,305	0,633	0,062	743	0,109	0,840	0,051
702	0,300	0,551	0,149	744	0,054	0,635	0,311
703	0,317	0,220	0,463	745	0,104	0,721	0,175
704	0,044	0,792	0,164	746	0,137	0,764	0,099
705	0,098	0,636	0,266	747	0,184	0,691	0,125
706	0,167	0,763	0,070	748	0,074	0,892	0,034
707	0,056	0,768	0,176	749	0,084	0,740	0,176
708	0,080	0,600	0,320	750	0,047	0,625	0,328
709	0,036	0,596	0,368	751	0,294	0,649	0,058
710	0,055	0,676	0,269	752	0,209	0,755	0,036
711	0,023	0,690	0,287	753	0,215	0,463	0,322
712	0,040	0,731	0,229	754	0,090	0,619	0,291
713	0,020	0,750	0,230	755	0,084	0,651	0,265
714	0,052	0,840	0,108	756	0,198	0,708	0,094
715	0,301	0,624	0,075	757	0,036	0,806	0,158
716	0,173	0,645	0,182	758	0,108	0,798	0,094
717	0,117	0,772	0,111	759	0,100	0,768	0,132
718	0,056	0,617	0,327	760	0,083	0,551	0,366
719	0,191	0,512	0,297	761	0,100	0,771	0,129
720	0,340	0,509	0,151	762	0,062	0,688	0,250
721	0,051	0,888	0,061	763	0,339	0,515	0,146
722	0,057	0,782	0,161	764	0,189	0,663	0,148
723	0,121	0,423	0,456	765	0,092	0,699	0,209
724	0,039	0,782	0,179	766	0,048	0,829	0,123
725	0,211	0,511	0,278	767	0,111	0,767	0,122
726	0,166	0,754	0,080	768	0,131	0,631	0,238

ANEXO

ID	Africana	Europea	Nativo Am.
769	0,054	0,840	0,106
770	0,134	0,747	0,119
771	0,254	0,697	0,049
772	0,203	0,631	0,166
773	0,117	0,855	0,028
774	0,055	0,798	0,147
775	0,087	0,799	0,114
776	0,022	0,742	0,236
777	0,065	0,685	0,250
778	0,081	0,577	0,342
779	0,051	0,645	0,304
780	0,061	0,712	0,227
781	0,134	0,785	0,081
782	0,121	0,786	0,093
783	0,200	0,689	0,111
784	0,277	0,549	0,174
785	0,065	0,679	0,256
786	0,150	0,715	0,135
787	0,037	0,876	0,087
788	0,209	0,562	0,229
789	0,140	0,611	0,249
790	0,051	0,853	0,096
791	0,057	0,695	0,248
792	0,103	0,838	0,059
793	0,181	0,662	0,157
794	0,199	0,707	0,094
795	0,203	0,689	0,108
796	0,223	0,559	0,218
797	0,035	0,574	0,391
798	0,329	0,492	0,179
799	0,087	0,726	0,187
800	0,061	0,607	0,332
