



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

DOCTORADO EN BIOMEDICINA Y FARMACIA

**Estudio farmacogenético de los polimorfismos de
transporte y metabolismo relacionados con el
tratamiento de la leucemia mieloblástica aguda**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Juan Eduardo Megías Vericat

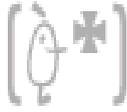
Dirigida por:

Dr. Salvador F. Aliño Pellicer

Dr. Miguel A. Sanz Alonso

Dr. José Luis Poveda Andrés

Valencia, junio 2020



Doctorado en Biomedicina y Farmacia

D. SALVADOR F. ALIÑO PELLICER, Catedrático de Farmacología, de la Universitat de València, Farmacólogo Clínico del Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia y director científico del grupo acreditado y la Plataforma de Farmacogenómica del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe

D. MIGUEL A. SANZ ALONSO, Catedrático de Medicina, Profesor emérito del Departamento de Medicina de la Universidad de Valencia, Investigador emérito y director del grupo acreditado de investigación en Hematología y Hemoterapia del Instituto de Investigación Sanitaria La Fe de Valencia

D. JOSÉ LUIS POVEDA ANDRÉS, Profesor Asociado Asistencial de la Universidad, Jefe de Servicio de Farmacia y Director del Área Clínica del Medicamento del Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia

CERTIFICAN:

Que el trabajo presentado por el Ldo. **Juan Eduardo Megias Vericat**, titulado “*Estudio farmacogenético de los polimorfismos de transporte y metabolismos relacionados con el tratamiento de la leucemia mieloblástica aguda*”, para obtener el grado de Doctor, ha sido realizado bajo nuestra dirección y asesoramiento.

Concluido el trabajo experimental y bibliográfico, autorizamos la presentación de la Tesis, para que sea juzgado por el tribunal correspondiente.

Lo que firmamos en Valencia 1 Junio 2020

Salvador Fco. Aliño Pellicer

Miguel Ángel Sanz Alonso

José Luis Poveda Andrés

PATROCINIO

Esta tesis se ha podido realizar gracias a las becas del Instituto Carlos III (PIE13/00046) y del Instituto Investigación Sanitaria La Fe (2013/0331) asignadas a los Servicios de Farmacia y Hematología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, y a la Unidad de Farmacogenética del Instituto Investigación Sanitaria La Fe. Además, en parte, este trabajo fue apoyado por la Red Temática de Investigación Cooperativa (RTICC), Beca RD12/0036/014 (ISCIII y FEDER). Este proyecto fue aprobado por el Comité ético de Investigación Biomédica del Hospital Universitari i Politècnic La Fe el 10 de diciembre de 2013 (nº registro 2013/0331, Anexo 1)

Gran parte de los resultados de esta tesis, así como la búsqueda bibliográfica, han sido publicados en 10 artículos en revistas indexadas, internacionales y con factor de impacto, que vamos a enumerar a continuación:

Artículos experimentales

- 1) Megías-Vericat JE, Montesinos P, Herrero MJ, Moscardó F, Bosó V, Rojas L, Martínez-Cuadrón D, Hervás D, Boluda B, García-Robles A, Rodríguez-Veiga R, Martín-Cerezuela M, Cervera J, Sendra L, Sanz J, Miguel A, Lorenzo I, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF.
Impact of ABC single nucleotide polymorphisms upon the efficacy and toxicity of induction chemotherapy in acute myeloid leukemia.
Leuk Lymphoma; 2017; 58(5):1197-1206
Factor de impacto: 2,644 Q3
- 2) Megías-Vericat JE, Montesinos P, Herrero MJ, Moscardó F, Bosó V, Rojas L, Martínez-Cuadrón D, Rodríguez-Veiga R, Sendra L, Cervera J, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF.
Impact of NADPH oxidase functional polymorphisms in acute myeloid leukemia induction chemotherapy
Pharmacogenomics J; 2018; 18 (2), 301-307
Factor de impacto: 3,503 Q2
- 3) Megías-Vericat JE, Montesinos P, Herrero MJ, Moscardó F, Bosó V, Martínez-Cuadrón D, Rojas L, Rodríguez-Veiga R, Boluda B, Sendra L, Cervera J, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF.
Influence of cytarabine metabolic pathway polymorphisms in acute myeloid leukemia induction treatment

Leuk Lymphoma; 2017; 58(12):2880-2894.

Factor de impacto: 2,644 Q3

- 4) Megías-Vericat JE, Montesinos P, Herrero MJ, Moscardó F, Bosó V, Martínez-Cuadrón D, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF.

Impact of novel polymorphisms related to cytotoxicity of cytarabine in the induction treatment of acute myeloid leukemia.

Pharmacogenet Genomics; 2017; 27(7):270-274.

Factor de impacto: 2,25 Q2

- 5) Megías-Vericat JE, Martínez-Cuadrón D, Herrero MJ, Rodríguez-Veiga R, Solana-Altabella A, Boluda B, Ballesta-López O, Cano I, Acuña-Cruz E, Cervera J, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF, Montesinos P.

Impact of combinations of single nucleotide polymorphisms of anthracycline transporter genes upon the efficacy and toxicity of induction chemotherapy in acute myeloid leukemia

Leuk Lymphoma; 2020; en proceso de evaluación

Factor de impacto: 2,674 Q3 (JCR 2018)

Artículos bibliográficos (revisiones y metaanálisis)

- 6) Megías-Vericat JE, Rojas L, Herrero MJ, Bosó V, Montesinos P, Moscardó F, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF.

Influence of ABCB1 polymorphisms upon the effectiveness of standard treatment for acute myeloid leukemia: A systematic review and meta-analysis of observational studies.

Pharmacogenomics J; 2015;15(2):109-118.

Factor de impacto: 3,784 Q1

- 7) Megías-Vericat JE, Rojas L, Herrero MJ, Bosó V, Montesinos P, Moscardó F, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF.

Positive impact of ABCB1 polymorphisms in overall survival and complete remission in acute myeloid leukemia: A systematic review and meta-analysis.

Pharmacogenomics J; 2016; 16(1):1-2

Factor de impacto: 3,815 Q1

- 8) Megías-Vericat JE, Herrero MJ, Rojas L, Montesinos P, Bosó V, Moscardó F, Martínez-Cuadrón D, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF.
A systematic review and meta-analysis of the impact of WT1 polymorphism rs16754 in the effectiveness of standard chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia.
Pharmacogenomics J; 2016; 16(1):30-40
Factor de impacto: 3,815 Q1

- 9) Megías-Vericat JE Montesinos P, Herrero MJ, Bosó V, Martínez-Cuadrón D, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF.
Pharmacogenomics and the treatment of acute myeloid leukemia.
Pharmacogenomics; 2016; 17(11):1245-1272.
Factor de impacto: 2,350 Q3

- 10) Megías-Vericat JE, Montesinos P, Herrero MJ, Moscardó F, Bosó V, Martínez-Cuadrón D, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF.
Pharmacogenetics of metabolic genes of anthracyclines in acute myeloid leukemia.
Curr Drug Metab. 2018; 19(1):55-74.
Factor de impacto: 2,277 Q3

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero dar las gracias a mis directores de tesis, sin su ayuda y apoyo constante, este proyecto no podría haberse llevado a cabo. Al Dr. Salvador Aliño, un profesional incansable que me ha enseñado a no perder nunca la ilusión por investigar y que me ha descubierto la importancia de la constancia y la rigurosidad en la ciencia. Al Dr. Miguel Ángel Sanz, que me abrió las puertas del Servicio de Hematología, siendo un farmacéutico recién salido del FIR, y que me ha ayudado con su amplia experiencia y consejos. Al Dr. José Luis Poveda, que me ha acompañado en todos y cada uno de los proyectos de medicina personalizada, y que siempre creyó en mí y potenció mi dedicación a la investigación.

En segundo lugar, y no menos importante, a mi tutor de tesis, Pau Montesinos, que asumió un proyecto ya iniciado y lo potenció hasta niveles impensables. Gracias por ayudarme a mejorar profesional y personalmente, y por enseñarme que realmente se puede hacer investigación traslacional.

Quiero dar las gracias a todos los miembros de la Unidad de Farmacogenética, especialmente a Dras. María José Herrero y Virginia Bosó, que fueron guías en mis primeros pasos, por sus sabios consejos y por el amor a la investigación que siempre me han demostrado.

Al Dr. Fede Moscardó, que fue una de las primeras personas que creyó en el proyecto y me brindó todo su apoyo en las fases iniciales. Espero de corazón que un día te recuperes y podamos volver a trabajar juntos.

A todo el equipo de Servicio de Hematología del Hospital La Fe, sobre todo a los Dres. Jaime Sanz y David Martínez, por ayudarme a entender y apasionarme por la hematología.

Por supuesto a todos los pacientes con leucemia mieloide aguda que han participado en este proyecto cediendo sus muestras. Sois la motivación y la base de esta tesis, y sin vosotros nada hubiera tenido sentido.

Al Instituto de Investigación Sanitaria La Fe (IIS La Fe), por creer en este proyecto y por concederme el contrato post-residencia que permitió llevarlo a cabo.

A todo el personal del Biobanco y la Unidad de Biología Molecular del IIS La Fe, sin vuestro apoyo e increíble profesionalidad no habría podido obtener las muestras necesarias para realizar mi tesis.

Al Dr. Enrique Busó, de la Unidad Central de Investigación de la Universidad de Valencia, por su asistencia en el genotipado.

A David Hervás, de la Unidad de Bioestadística del IIS La Fe, por su paciencia y su amplia experiencia para procesar y analizar los datos.

A todos mis compañeros del Servicio de Farmacia, un ejemplo constante del tipo de profesionales que me gustaría llegar a ser. Especialmente a los Dres. Remedios Marqués, Carmela Borrell y Eduardo López, que me habéis ayudado a tener una visión crítica y a aplicar la investigación en el día a día de la Farmacia.

A mi familia y amigos, que siempre me habéis apoyado en los momentos más duros, me habéis ayudado a no rendirme, y me habéis sacado una sonrisa en todos los años que ha durado este proyecto. Especialmente quiero dar las gracias a mi mujer Beatriz y a mi hija Emma, por todo su amor y comprensión, por todo el tiempo que no he podido dedicarles, por su apoyo constante y porque sin ellas no habría tenido fuerzas para finalizar esta tesis.

ÍNDICE GENERAL

5.2	PACIENTES	53
5.3	CRITERIOS DE ELEGIBILIDAD DE LOS PACIENTES	53
5.4	ASPECTOS ÉTICOS	54
5.5	RESULTADOS CLÍNICOS.....	54
	5.5.1 <i>Respuesta a la inducción</i>	54
	5.5.2 <i>Supervivencia</i>	54
	5.5.3 <i>Reacciones adversas</i>	55
5.6	TRATAMIENTO DE LAS INFECCIONES	56
5.7	RECOGIDA Y REGISTRO DE DATOS	56
5.8	SELECCIÓN DE LOS POLIMORFISMOS	56
5.9	MUESTRAS Y EXTRACCIÓN DE ADN.....	59
	5.9.1 <i>Obtención de las muestras</i>	59
	5.9.2 <i>Obtención de ácidos nucleicos</i>	59
	5.9.3 <i>Control de calidad</i>	59
5.10	GENOTIPADO	59
5.11	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	61
6.	RESULTADOS	63
6.1	GENOTIPADO	65
6.2	PACIENTES INCLUIDOS.....	67
6.3	POLIMORFISMOS QUE AFECTAN A LA VÍA METABÓLICA DE LAS ANTRACICLINAS	70
	6.3.1 <i>Polimorfismos que afectan a transportadores de antraciclinas</i>	70
	6.3.2 <i>Polimorfismos que afectan a enzimas metabolizadoras de antraciclinas</i>	74
	6.3.3 <i>Carcinógenos y enzimas neutralizantes de antineoplásicos</i>	77
6.4	POLIMORFISMOS QUE AFECTAN A LA VÍA METABÓLICA DE LA CITARABINA.....	79
	6.4.1 <i>Polimorfismos que afectan a enzimas metabolizadoras de citarabina</i>	79
	6.4.2 <i>Polimorfismos en genes relacionados con la respuesta a la citarabina</i> ...	85
7.	DISCUSIÓN	89
8.	CONCLUSIONES	103
9.	ANEXOS.....	107
10.	REFERENCIAS	111

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Esquemas de quimioterapia estándar según la guía ELN 2017 ⁴	13
Tabla 2. Genes y polimorfismos incluidos en el estudio	58
Tabla 3. Resultados del genotipado de 49 SNPs analizados en el estudio.	66
Tabla 4. Características basales de los pacientes y resultados de eficacia y toxicidad de la cohorte completa de 225 pacientes.....	67
Tabla 5. Asociaciones significativas entre SNPs en genes ABC y variables de eficacia.	70
Tabla 6. Asociaciones significativas entre SNPs en genes ABC y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0-1 vs 2-4).....	71
Tabla 7. Asociaciones significativas entre SNPs en genes ABC y la toxicidad hematológica.	71
Tabla 8. Asociaciones significativas entre SNPs en genes ABC y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0 vs 1-4).....	72
Tabla 9 Asociaciones significativas entre SNPs de los genes SLC y las variables de eficacia y toxicidades asociadas a antraciclinas.....	73
Tabla 10. Asociaciones significativas entre las combinaciones de SNPs de genes transportadores y las variables de eficacia.	73
Tabla 11. Asociaciones significativas entre las combinaciones de SNPs de genes transportadores y las variables de toxicidad.....	74
Tabla 12. Asociaciones significativas entre SNPs de genes de la vía metabólica de las antraciclinas y las variables de eficacia.....	75
Tabla 13. Asociaciones significativas entre SNPs de genes de la vía metabólica de las antraciclinas y las toxicidades relacionadas con las antraciclinas	75
Tabla 14. Asociaciones significativas entre SNPs de genes de la vía metabólica de las antraciclinas y los tiempos de recuperación frente a la toxicidad hematológica	76
Tabla 15. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la NADPH oxidasa y variables de eficacia.	78
Tabla 16. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la NADPH oxidasa y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0-1 vs 2-4).....	78

Tabla 17. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la NADPH oxidasa y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0 vs 1-4).....	78
Tabla 18. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la NADPH oxidasa y la toxicidad hematológica.	79
Tabla 19. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la vía metabólica de la citarabina y las variables de eficacia.....	79
Tabla 20. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la vía metabólica de la citarabina y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0 vs 1-4 y grado 0-1 vs 2-4).	80
Tabla 21. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la vía metabólica de la citarabina y la toxicidad hematológica.....	80
Tabla 22. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la vía metabólica de la citarabina y las distintas tasas de supervivencia (SG, EFS, SLR).	81
Tabla 23. Asociaciones significativas entre las variables de eficacia y toxicidad tras el análisis multivariable incluyendo todos los SNPs.	84
Tabla 24. Asociaciones significativas entre los nuevos SNPs relacionados con la citotoxicidad de la citarabina y las distintas tasas de supervivencia (SG, EFS, SLR). .	86
Tabla 25. Asociaciones significativas entre nuevos SNPs relacionados con la citotoxicidad de la citarabina y la toxicidad (grado 0-1 vs 2-4).....	87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Principales mutaciones de los pacientes adultos con LMA recogidas en la guía ELN 2017 ⁴	11
Figura 2. Genes candidatos involucrados en la vía metabólica de las antraciclinas	20
Figura 3. Genes candidatos involucrados en la vía metabólica de la citarabina	31
Figura 4. Curva de Kaplan Meier de supervivencia global en pacientes con LMA en función del genotipo de CYBA rs4673.....	77
Figura 5. Curvas de Kaplan Meier de supervivencia a los 5 años (SG, EFS, SLR) en pacientes con LMA en función del genotipo de CDA 79A>C rs2072671.	82
Figura 6. Curva de Kaplan Meier de supervivencia libre de recaída a los 5 años (SLR) en pacientes con LMA en función del genotipo de CDA 33DEL>C rs3215400.....	82
Figura 7. Curvas de Kaplan Meier de supervivencia a los 5 años (SG, EFS) en pacientes con LMA en función del genotipo de CDA 92T>C rs602950.	83
Figura 8. Curvas de Kaplan Meier de supervivencia a los 5 años (SG, SLR) en pacientes con LMA en función del genotipo de RRM1 2455A>G rs9937.	83
Figura 9. Curva de Kaplan Meier de supervivencia libre de enfermedad a los 5 años en pacientes con LMA en función del genotipo de rs12036333.....	87

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

ABCB1	<i>ATP-binding cassette sub-family B member 1</i>
ABCC1	<i>ATP Binding Cassette Subfamily C Member 1</i>
ABCC2	<i>ATP Binding Cassette Subfamily C Member 2</i>
ABCG2	<i>ATP Binding Cassette Subfamily G Member 2</i>
ADH	Alcohol deshidrogenasa
ADN	Ácido desoxirribonucleico
CBR3	Carbonil reductasa 3
CDA	Citidina desaminasa
CTCAE	<i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>
CTLA-4	Antígeno de linfocitos T citotóxicos 4
CYP	Citocromo P 450
DCK	Desoxicitidina quinasa
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EFS	Supervivencia libre de evento
EMR	Enfermedad mínima residual
FAB	<i>French-American-British</i>
FISH	Hibridación <i>in situ</i> fluorescente
FLT3	<i>Fms-like tyrosin kinase 3</i>
GST	Glutación-S-transferasa
HapMap-CEU	<i>Utah residents with Northern and Western European ancestry from the CEPH collection</i>
IV	Vía intravenosa
LMA	Leucemia Mieloblástica Aguda
MAF	Minor Allele Frequency
MO	Médula ósea
NME1	Nucleósido difosfato quinasa 1
NOS3	Óxido nítrico sintasa 3
NQO1	NADPH deshidrogenasa 1
NQO2	NADPH deshidrogenasa 2

OMS	Organización Mundial de la Salud
P-gp	Glicoproteína P
PETHEMA	Programa Español de Tratamientos en Hematología
PGt	Farmacogenética
PGx	Farmacogenómica
RAM	Reacción adversa a medicamentos
RC	Remisión Completa
RP	Remisión parcial
ROS	Especie reactiva del oxígeno
RRM1	Ribonucleótido reductasa subunidad M 1
SG	Supervivencia Global
SLC22A16	<i>Solute Carrier Family 22 Member 16</i>
SLCO1B1	<i>Solute Carrier Organic Anion Transporter Family Member 1B1</i>
SLE	Supervivencia Libre de Enfermedad
SLR	Supervivencia Libre de Recaída
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i>
SP	Sangre periférica
SOD	Superóxido dismutasa
TPH	Trasplante de progenitores hematopoyéticos
WT1	Tumor de Wilms 1

1.RESUMEN

En los pacientes con leucemia mieloide aguda (LMA) se han empleado en inducción combinaciones de citarabina y antraciclinas durante décadas, alcanzando tasas de remisión completa (RC) cercanas al 60-80% en adultos jóvenes. Pese a la alta efectividad inicial, se produce recaída en hasta un 70% de los pacientes que alcanza RC, y además, parte de los pacientes muere debido a la toxicidad grave de la quimioterapia o presenta resistencia inicial al tratamiento.

Existen sólidas razones para interpretar que las variaciones individuales en pacientes con LMA que conducen a distinta efectividad y toxicidad con los mismos esquemas quimioterápicos no se deben sólo a alteraciones citogenéticas y moleculares concretas, y que pueden estar influidas en parte por la variabilidad genética. Una estrategia de medicina personalizada basada en la farmacogenética (PGt) puede significar una mejoría en los resultados terapéuticos en LMA, permitiendo optimizar las pautas de quimioterapia con el objetivo de mejorar la eficacia y reducir o al menos controlar la toxicidad en función de los polimorfismos de cada paciente.

En este estudio se ha analizado el genotipo de una cohorte de 225 pacientes adultos con LMA, en concreto 49 polimorfismos de nucleótido único (SNPs) en 33 genes implicados en las vías metabólicas de citarabina y antraciclinas, previamente descritos en la literatura y con implicaciones funcionales potenciales. Estos SNPs se han correlacionado con la efectividad y toxicidad del tratamiento de inducción.

De los polimorfismos relacionados con el transporte de las antraciclinas, se observó que los que afectaban a la familia de genes *ABC*, que codifican bombas de eflujo de fármacos como la glicoproteína P, no influían en la eficacia del tratamiento de inducción. Sin embargo, obtuvimos correlaciones significativas entre los alelos variantes de *ABCB1* y mayores toxicidades inducidas por antraciclinas, así como con mayor incidencia de muerte en inducción, asociaciones previamente descritas en la literatura. Además, se describieron por primera vez asociaciones entre los SNPs de *ABCG2* y las toxicidades cardíacas y pulmonares, y los SNPs de *ABCC1* y la toxicidad hepática grave, relaciones que son factibles, ya que los tejidos afectados expresan dichos genes.

Los polimorfismos en genes de enzimas metabolizadoras de antraciclinas afectan principalmente a la toxicidad, destacando las asociaciones entre los polimorfismos de *NQO2* con menor RC y mayor toxicidad gastrointestinal, de *NQO1* con mucositis, toxicidad gastrointestinal y trombocitopenia, de *CBR3* con toxicidad hepática grave, y de *NOS3* con toxicidad renal, hepática y trombocitopenia.

También se observó influencia de la variabilidad genética en el principal mecanismo de acción de las antraciclinas, la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las variantes de las subunidades de la NADPH oxidasa (*CYBA*, *NCF4*, *RAC2*) influían tanto en la tasa de RC y la supervivencia global (SG), como en las toxicidades inducidas por las antraciclinas, destacando la toxicidad cardíaca.

Respecto a los polimorfismos de la vía metabólica de la citarabina, se observó una gran influencia en la eficacia del tratamiento, destacando las asociaciones de SNPs de *CDA* con la RC y la supervivencia, de *DCK* con la RC y de *RRM1* con la supervivencia. Además, los SNPs de *DCK*, *CDA* y *NT5C2* se asociaron con toxicidades inducidas por citarabina, destacando la toxicidad cutánea con *CDA* y la mucositis con *DCK*.

Incluimos en nuestro estudio SNPs relacionados con la citotoxicidad de citarabina, de reciente descubrimiento y poco descritos en la literatura. En nuestra cohorte de pacientes adultos con LMA se han reproducido los resultados obtenidos previamente en población pediátrica con dichos SNPs, sobretodo su influencia en la supervivencia, y además se han detectado nuevas asociaciones con las toxicidades de citarabina.

La PGt ha demostrado ser una herramienta útil en la individualización del tratamiento en pacientes adultos con LMA *de novo* tratados con citarabina e idarubicina. En los próximos años puede ayudar seleccionar el esquema más adecuado para cada paciente en función de sus variantes genéticas, aumentando su efectividad y reduciendo la potencial toxicidad.

2.INTRODUCCIÓN

2.1 Generalidades sobre la leucemia mieloide aguda

La leucemia mieloide aguda (LMA) es una enfermedad clonal heterogénea caracterizada por la proliferación neoplásica de células blásticas inmaduras de estirpe mieloide. Se caracteriza por la presencia de diversas alteraciones genéticas adquiridas en células de estirpe mieloide que alteran sus mecanismos normales de autorenovación, proliferación y diferenciación celular¹. Como consecuencia, en la médula ósea (MO) se acumulan precursores mieloides inmaduros con capacidad de replicación, pero sin capacidad de diferenciación hacia células hematopoyéticas maduras. De este modo, el espacio medular es ocupado por células tumorales que impiden una hematopoyesis normal, provocando una insuficiencia medular y las consecuencias clínicas que de ello se derivan².

2.2 Epidemiología

En los países occidentales, la LMA tiene una incidencia de 2-3 nuevos casos por 100.000 habitantes al año, con un incremento progresivo con la edad, hasta alcanzar un pico de 12,6 por 100.000 habitantes/año en pacientes mayores de 65 años³. Se estima que en Europa el 0,6% de todas las formas de cáncer corresponden a LMA, lo que equivale a unos 18.000 casos nuevos de LMA cada año, suponiendo para una población como la española, entre 900 y 1.000 nuevos casos anuales, aproximadamente. Esta enfermedad comprende el 80% de las leucemias agudas en adultos y el 15-20% de las pediátricas, siendo la neoplasia más frecuente en lactantes. Dentro de la totalidad de los procesos neoplásicos, la LMA es la causante del 1,2% de la mortalidad global por cáncer.

2.3 Etiopatogenia

La LMA es en su mayoría de etiología desconocida y esporádica, aunque se ha relacionado con alteraciones cromosómicas (síndrome de Down, síndrome de Bloom, anemia de Fanconi), con antecedentes de síndrome mielodisplásico (SMD) o síndrome mieloproliferativo crónico (SMPC) y con factores ambientales (radiaciones ionizantes, bencenos o disolventes, quimioterapia con agentes alquilantes o inhibidores de las topoisomerasas)⁴⁻⁸.

La LMA afecta tanto a la regulación del control del crecimiento y como a la diferenciación de las células hematopoyéticas, lo que se traduce en la acumulación de precursores mieloides inmaduros con capacidad de replicación, pero no de

diferenciación, además de una disminución de la apoptosis. Esto lleva a la invasión medular por células leucémicas y al desplazamiento de la hematopoyesis normal, con el consecuente fallo medular. Esto ocurre como un proceso evolutivo en el cual aparecen anomalías cromosómicas clonales y reordenamientos moleculares junto a alteraciones en la regulación en la respuesta a citocinas⁴⁻⁸.

La patogénesis de la LMA involucra a dos tipos de mutaciones cooperantes⁴⁻⁸:

- **Tipo I o de diferenciación celular.** Producen un bloquea madurativo que impide la diferenciación celular y altera la apoptosis, confiriendo una capacidad de auto-renovación aumentada a la célula. Incluye las mutaciones *AML1-ETO*, *PML-RARA*, *CBFB-SMMHC*, *reordenamientos de MLL*, *CEBPA* y *NPM1*.

- **Tipo II o activadoras.** Confieren una ventaja proliferativa y mayor supervivencia a la célula leucémica sin afectar a la diferenciación celular. Destacan las mutaciones *FLT3-ITD*, *FLT3-TKD*, *c-KIT*, *K-RAS*, *PTPN11*, *JAK2* y *BCR-ABL*.

Además de estos dos tipos de mutaciones, este ciclo de las células leucémicas se ve favorecido por un grupo de células malignas que se autorenewan, las células madre leucémicas, aún más inmaduras que el resto de blastos circulantes.

2.4 Diagnóstico

El diagnóstico de la LMA requiere un estudio detallado tanto de la sangre periférica (SP) como de la MO, esta última obtenida mediante aspiración o biopsia. El diagnóstico clásico incluía el estudio morfológico y la aplicación de técnicas histoquímicas. En la actualidad, junto con la evaluación morfológica, que sigue siendo de gran importancia, se realizan estudios inmunofenotípicos, citogenéticos y moleculares⁴⁻⁷.

2.4.1 Diagnóstico citomorfológico

El estudio citológico del aspirado de MO es el paso necesario para el diagnóstico definitivo de una LMA. Existen diversas clasificaciones:

- **Clasificación morfológica franco-americano-británica (FAB):** fue la primera clasificación de la LMA. Se basada en la presencia en MO de más de un 30% de blastos y los distintos subtipos se distinguían por sus características

morfológicas. Su correlación con el pronóstico y la toma de decisiones era insuficiente.

- **Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS):** ha sustituido a la clasificación FAB. Su principal diferencia es que rebaja el diagnóstico de LMA a un 20% de blastos en MO, y además incorpora las características citogenéticas y moleculares. Destaca que, en algunos subtipos, basta sólo con la presencia de una alteración genética recurrente para el diagnóstico de LMA, independiente del porcentaje de blastos (*AML1-ETO*; *CBFB-MYH11*; *PML-RARA*).

2.4.2 Diagnóstico por inmunofenotipo

El inmunofenotipo (IF) consiste en la caracterización de las células según los marcadores inmunológicamente activos o antígenos que hay en su superficie. Se suele emplear la citometría de flujo en el diagnóstico y seguimiento por IF de la LMA. En algunos subtipos de LMA, como los subtipos M0 y M7, es la única técnica diagnóstica disponible. Existe una cierta correlación entre la expresión de antígenos y los subtipos FAB. Además, se emplea para la detección de enfermedad mínima residual (EMR), un importante factor pronóstico para el seguimiento de los tratamientos en LMA. El IF es una técnica aplicable en más del 80% de los casos de LMA para el estudio de EMR, con un poder de detección de células blásticas de 10^{-4} . Se habla de 4 categorías de riesgo según el nivel de EMR presente después de la terapia de inducción: riesgo muy bajo ($<10^{-4}$ células), riesgo bajo (10^{-4} - 10^{-3} células), intermedio (10^{-3} - 10^{-2} células) y alto riesgo ($>10^{-2}$ células) con un impacto en las tasas de recaída y supervivencia global (SG)⁹. Está por determinarse el momento ideal para evaluar la EMR, que se ha postulado que debe evaluarse en la post-consolidación¹⁰, además del nivel de corte de positividad y la estandarización de la técnica.

2.4.3 Diagnóstico citogenético

La citogenética es el campo de la genética que comprende el estudio de la estructura, función y comportamiento de los cromosomas. Incluye análisis de bandeado G en cromosomas, otras técnicas de bandeado citogenético, la citogenética molecular del tipo de hibridación por fluorescencia *in situ* (FISH) e hibridación por genómica comparativa (CGH). El diagnóstico citogenético permite individualizar los grupos de tratamiento y pronóstico⁴:

- ✓ **Riesgo citogenético favorable**, tasas de remisión completa (RC) entre un 80-90% y SG >60%.
- ✓ **Riesgo citogenético intermedio**, tasas de RC de 76-86%, tasas de altas de recidiva (hasta 67%) y SG <40%. Incluye las LMA de cariotipo normal, que comprenden el 40-50%
- ✓ **Riesgo citogenético desfavorable**, corresponde a un 10-30%, con tasas de RC del 60%, pero la recidiva es alta (70-90%) y las tasas de SG < 15%.

2.4.4 Diagnóstico por biología molecular

Tiene importancia para el diagnóstico, categorización del subtipo de LMA, y como técnica de detección de EMR en casos con alteraciones específicas, con una capacidad de detección superior a la citometría de flujo, de 10^{-4} - 10^{-5} células usando técnicas de PCR cuantitativa. Los nuevos marcadores moleculares emergentes son importantes en el pronóstico, el entendimiento de la leucemogénesis y en posibles dianas terapéuticas (Figura 1)⁴.

a) **mutaciones de FLT3**: FLT3 es un receptor tirosin quinasa que se expresa en la superficie de las células progenitoras hematopoyéticas, relacionado con la proliferación, supervivencia y diferenciación celular. Las mutaciones de *FLT3* comprenden duplicaciones internas en tándem (ITD) o alteraciones del dominio de tirosin quinasa (TKD). *FLT3-ITD* son más frecuentes (28-34% de las LMA con cariotipo normal y en leucemia promielocítica (LPA)) y las de peor pronóstico. Está asociado a leucocitosis y aumento de blastos. Confiere **peor pronóstico** con un mayor riesgo de recaída, menor supervivencia libre de enfermedad (SLE) y SG¹¹.

b) **mutaciones de NPM1**: NPM1 o nucleofosmina es una fosfoproteína que reside en el nucléolo celular y migra del núcleo al citoplasma, y actúa en respuesta al estrés celular, estabilidad celular, regulación de genes supresores de tumores y de la transcripción. Es la mutación más frecuente en la LMA del adulto, 24-35% de las LMA y 43-62% en cariotipo normal. Se asocia a altas tasas de RC, supervivencia libre de recaída (SLR) y SG, con un **pronóstico favorable** en ausencia de mutaciones de *FLT3*¹².

c) **mutación de CEBPA**: factor de transcripción que afecta a la diferenciación celular de los neutrófilos. Predomina en LMA con cariotipo normal, alto % de blastos

en SP, bajo recuento plaquetario y baja asociación con mutaciones de *FLT3*. Se asocia a un pronóstico favorable, con mayores tasas de SLR y SG¹³.

d) **mutaciones *WT1***: son mutaciones en el gen supresor del tumor de Wilms. Se ha identificado hasta en el 12% de los pacientes con LMA con cariotipo normal y suele asociarse a *FLT3*. Se le ha conferido un **impacto negativo** en la SG, pero estos datos son controvertidos¹³.

e) **mutaciones *MLL-PTD***: son mutaciones parciales en tándem de MLL (MLL-PTD) que se encuentran en un 5-11% de las LMA con cariotipo normal y hasta en un 40% con mutaciones de *FLT3*. Se relacionan con corta duración de la RC o de la SLR, aunque sin observarse un gran impacto en la SG¹⁴.

Además de estas mutaciones cabe destacar el papel que juegan algunos reordenamientos específicos en la clasificación de la LMA, como *PML-RARA*, *CBFB-MYH11*, *RUNX1-RUNX1T1*, *BCR-ABL1*, t(8;21), inv(16), t(6;9), inv(3) o t(9;22), así como los niveles de expresión génica, herramientas diagnósticas y pronósticas de gran utilidad.

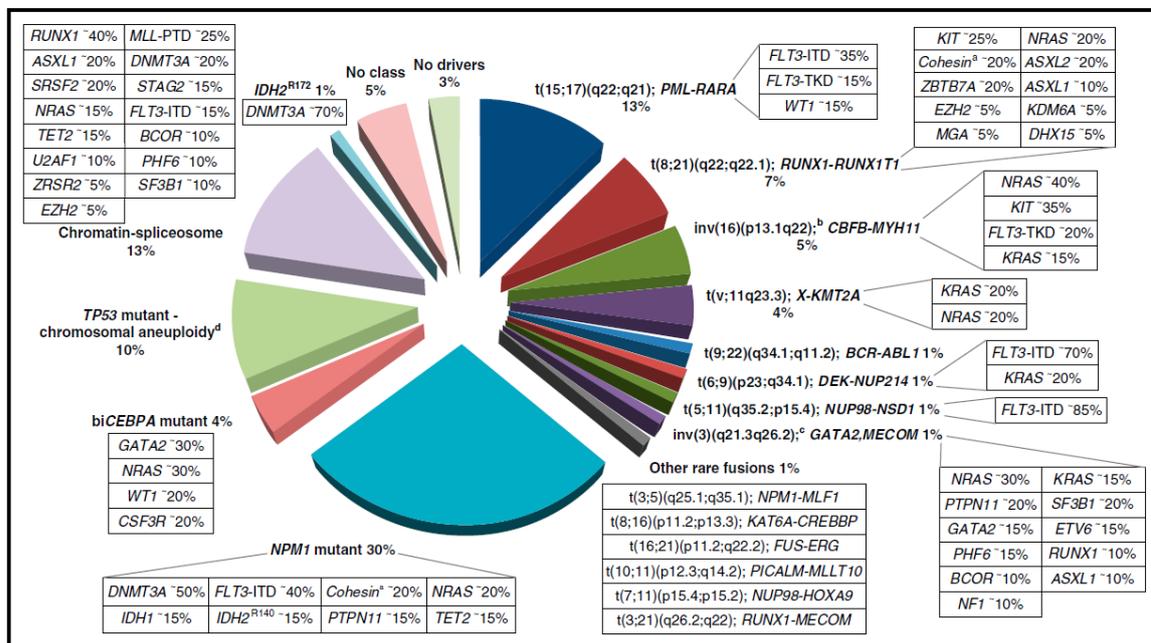


Figure 1. Molecular classes of AML and concurrent gene mutations in adult patients up to the age of ~65 years. Class definition is based on the study by Papaemmanuil et al.³⁷ For each AML class denoted in the pie chart, frequent co-occurring mutations are shown in the respective boxes. Data on the frequency of genetic lesions are compiled from the databases of the British Medical Research Council (MRC), the German-Austrian AML Study Group (AMLSG), and from selected studies.^{37,87,88,299} ^a indicates cohesin genes including *RAD21* (~10%), *SMC1A* (~5%), and *SMC3* (~5%); ^b, *inv(16)(p13.1;q22)* or *t(16;16)(p13.1;q22)*; *CBFB-MYH11*; ^c, *inv(3)(q21.3;q26.2)* or *t(3;3)(q21.3;q26.2)*; *GATA2,MECOM(EV11)*; and ^d, *TP53* mutations are found in ~45%, and complex karyotypes in ~70% of this class. The structure of the pie chart is adapted from Grimwade et al.⁵⁰ generated by Adam Ivey (King's College London, London, United Kingdom).

Figura 1- Principales mutaciones de los pacientes adultos con LMA recogidas en la guía ELN 2017⁴

2.5 Tratamiento de la leucemia mieloide aguda

El tratamiento estándar de la LMA puede resumirse en dos fases bien definidas. La primera es la quimioterapia de inducción a la RC, y su objetivo es producir la mayor destrucción tumoral posible para restaurar la hematopoyesis normal. Pese a la heterogeneidad de la patología, los pacientes han sido tratados durante décadas con combinaciones de citarabina y antraciclinas en esquemas 7+3 alcanzan tasas RC cercanas al 60-80% en adultos jóvenes⁴, pero las tasas de recaída pueden llegar al 70%. La principal causa de recaída es la baja eficacia en eliminar la EMR del esquema de quimioterapia. Además, parte de los pacientes muere debido a toxicidades graves de la quimioterapia o desarrollan resistencia inicial al tratamiento o tras la recaída. Se han sugerido diversas estrategias para aumentar la tasa de RC sin que ninguna haya demostrado hasta el momento una mayor eficacia: modificación de las dosis de antraciclina o adición de terceros fármacos como etopósido, gantuzumab o zoogamicina, inhibidores de FLT3 o fludarabina.

La segunda fase del tratamiento es lo que en la actualidad se denomina terapia post-remisión y pretende reducir al mínimo posible la EMR para evitar la recaída de la enfermedad. Consiste en la administración de un número variable de ciclos de quimioterapia conteniendo diversas combinaciones de citarabina a altas dosis seguida, en los casos pertinentes, por un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH), que puede ser autólogo o alogénico a partir de un donante histocompatible. El diseño de esta terapia post-remisión se hace en base al concepto “terapia adaptada al riesgo”, atendiendo a múltiples indicadores pronósticos entre los que destaca la citogenética y los marcadores moleculares. Pese a este tratamiento, aproximadamente la mitad de los pacientes que muestran respuesta inicial presentarán una recaída de su enfermedad, lo que se traduce en la curación de tan sólo una tercera parte de los pacientes que reciben tratamiento estándar. Además es frecuente la aparición de reacciones adversas medicamentosas (RAM) que favorecen el aumento de la morbimortalidad de la LMA. Por estos motivos, se buscan nuevos algoritmos terapéuticos encaminados hacia una terapia cada vez más individualizada, con la cual se pretenden alcanzar mejores tasas de RC, disminuir las recaídas y la toxicidad.

Durante décadas se ha entendido la LMA como una entidad única, con un tratamiento único e idéntico para todos los pacientes o “one-size-fits-all”. Desde hace unos años se individualizó el tratamiento en función del riesgo de recaída que predecían los factores pronósticos. Actualmente se tiende a una terapia dirigida, gracias a los avances en las dianas moleculares. En la **Tabla 1** se incluyen los principales esquemas estándar de quimioterapia empleados⁴.

Nos vamos a centrar en describir el tratamiento de inducción basado en los esquemas PETHEMA (LMA-99, LMA-2007, LMA-2010), que contienen citarabina e idarubicina, que es el esquema de inducción empleado en nuestro centro.

Tabla 1. Esquemas de quimioterapia estándar según la guía ELN 2017⁴

Selected conventional care regimens	
Patients eligible for intensive chemotherapy	
Induction therapy (all ages) ("7+3")*,†,‡	• 3 d of an IV anthracycline: daunorubicin at least 60 mg/m ² ; idarubicin 12 mg/m ² ; or mitoxantrone 12 mg/m ² , and 7 d of continuous infusion cytarabine (100-200 mg/m ²)
Consolidation therapy‡,§	
Younger patients (18-60/65 y)	
• Favorable-risk genetics	• 2-4 cycles of IDAC (1000-1500 mg/m ² IV over 3 h q12h, d1-3; or 1000-1500 mg/m ² IV over 3 h d1-5 or 6)
• Intermediate-risk genetics	• Allogeneic HCT from matched-related or unrelated donor
	• 2-4 cycles of IDAC (1000-1500 mg/m ² IV over 3 h q12h, d1-3; or 1000-1500 mg/m ² IV over 3 h d1-5 or 6), or
	• High-dose therapy and autologous HCT
• Adverse-risk genetics	• Allogeneic HCT from matched-related or unrelated donor
Older patients (>60/65 y)	
• Favorable-risk genetics	• 2-3 cycles of IDAC (500-1000 mg/m ² IV over 3 h q12h, d1-3; or 500-1000 mg/m ² IV over 3 h d1-5 or 6)
• Intermediate/adverse-risk genetics	• No established value of intensive consolidation therapy; consider allogeneic HCT in patients with low HCT-Comorbidity Index, or investigational therapy
Patients considered not candidates for intensive chemotherapy 	
Azacitidine¶	75 mg/m ² , SC, d1-7, q4 wk, until progression
Decitabine#	20 mg/m ² , IV, d1-5, q4 wk, until progression
Low-dose cytarabine**	Low-dose cytarabine (20 mg q12h, SC, d1-10, q4 wk; until progression); not recommended in patients with adverse-risk genetics
Best supportive care	Including hydroxyurea; for patients who cannot tolerate any antileukemic therapy, or who do not wish any therapy
Common salvage regimens in patients not responding to a first induction cycle or with relapsed disease who are candidates for intensive therapy	
IDAC†† (with or without anthracycline)	IDAC (1000-1500 mg/m ² IV over 3 h q12 h, d1-3 [500-1000 mg/m ² in patients >60 y]; or 1000-1500 mg/m ² IV over 3 h d1-5 or 6 [500-1000 mg/m ² in patients >60 y]); with or without daunorubicin 45-60 mg/m ² , IV, d1-3; idarubicin 8-10 mg/m ² , IV, d3-5, or mitoxantrone 8-10 mg/m ² , IV, d1-3
FLAG-IDA‡‡	Fludarabine 30 mg/m ² IV, d2-6; cytarabine 1500-2000 mg/m ² IV over 3 h, starting 4 h after fludarabine infusion, d2-6; idarubicin 10 mg/m ² IV, d2-4; G-CSF 5 µg/kg, SC, d1-5; additional G-CSF may be administered starting 7 d after end of chemotherapy until WBC count >500/uL Consider dose reduction in patients >60 y: fludarabine 20 mg/m ² ; cytarabine 500-1000 mg/m ² ; idarubicin 8 mg/m ²
MEC	Mitoxantrone 8 mg/m ² , d1-5; etoposide 100 mg/m ² , d1-5; cytarabine 1000 mg/m ² , d1-5
Allogeneic HCT	Consider transplantation for patients with primary refractory disease, for patients in second CR or with major cytoreduction but still active disease following salvage therapy Consider second transplantation under certain conditions (see "Salvage treatment") Perform early HLA typing

Patients should go on clinical trials if possible.
 EMA, European Medicines Agency; FLAG-AMSA, FLAG + amsacrine; FLAG-MITO, FLAG + mitoxantrone; q, every; SC, subcutaneously.
 *Regimens containing higher doses of cytarabine are generally considered as the best option for patients not responding to a first cycle of "7+3" (see common salvage regimens).
 †Older patients (in general >65 y) and patients with adverse genetics are less likely to respond to conventional induction therapy and may receive hypomethylating agents, or, preferably, investigational therapy.
 ‡Patients, at least those aged 18 to 60 y, with newly diagnosed AML and activating *FLT3* mutations may be considered to receive additional therapy with midostaurin (administered after the chemotherapy).⁶¹
 §Results from assessment of MRD should be taken into account for selecting the appropriate consolidation therapy.
 ||For discussion of patients not considered candidates for intensive chemotherapy see first 2 paragraphs of "Current therapy."
 ¶Approved by FDA and EMA for adult patients who are not eligible for HCT with AML with 20% to 30% blasts and multilineage dysplasia; in addition, approved by EMA for patients who are not eligible for allogeneic HCT with AML with >30% marrow blasts.
 #Approved by EMA (not by FDA) for patients with newly diagnosed de novo or secondary AML, who are not candidates for standard induction chemotherapy.
 **In some countries used in a dosage of 20 mg/m² SC once daily.
 ††Evidence from pharmacologic studies and clinical trials in first-line treatment indicate that doses higher than 1500 mg/m² are above the plateau of the maximal therapeutic effect;¹⁴⁷ single-agent IDAC should not be used in patients relapsing within 6 mo following consolidation with higher doses of cytarabine.
 ‡‡Idarubicin may be replaced by mitoxantrone 10 mg/m², IV, days 2 to 4 (FLAG-MITO); or by amsacrine 100 mg/m², days 2 to 4 (FLAG-AMSA).

2.5.1 Citarabina

La citarabina, también conocida como arabinósido de citosina, es un antineoplásico especialmente activo en la LMA y en los linfomas. La citarabina pertenece a la categoría de fármacos de quimioterapia llamados antimetabolitos, concretamente a los análogos de pirimidina. En el interior de la célula diversas quinasas convierten la citarabina en citarabina trifosfato, que es el metabolito activo (ara-CTP). Aunque el mecanismo de acción no se conoce por completo, parece que el fármaco inhibe la ADN polimerasa. El ara-CTP compite con el sustrato fisiológico de esta enzima, el 5'-trifosfato de desoxicitidina, e inhibe la síntesis de ADN (fase S). El ara-CTP también actúa disminuyendo la velocidad de elongación de la cadena de ADN y puede inhibir también a la transcriptasa inversa. La citarabina ha demostrado cierta actividad antiviral en cultivos celulares, pero aún no ha sido confirmada mediante estudios clínicos controlados¹⁵.

La citarabina se administra en perfusión intravenosa, obteniendo concentraciones plasmáticas relativamente constantes en 8-24 horas. La citarabina se distribuye rápida y ampliamente a los tejidos y fluidos, incluyendo hígado, plasma y granulocitos periféricos. Tras la administración intravenosa rápida de citarabina, aproximadamente el 13% del medicamento se une a las proteínas plasmáticas. La citarabina atraviesa la barrera hematoencefálica (BHE) de forma limitada. La citarabina se metaboliza de forma rápida y amplia, principalmente en el hígado, pero también en el riñón, en mucosa gastrointestinal, en los granulocitos y en otros tejidos en menor proporción. La enzima citidina desaminasa es la encargada de su metabolización a este nivel, dando lugar al metabolito inactivo ara-U (uracil arabinósido). Intracelularmente, la forma activa ara-CTP es inactivada por una pirimidina nucleósido desaminasa, dando lugar al derivado uracilo. Tras la administración intravenosa rápida, las concentraciones plasmáticas del medicamento disminuyen de forma bifásica con una semivida de aproximadamente 10 minutos en la fase inicial y de 1-3 horas en la fase terminal. Tanto la citarabina como su metabolito ara-U se excretan por la orina. Tras la perfusión intravenosa de citarabina, aproximadamente el 70-80% de la dosis se elimina por la orina en 24 horas, el 90% en forma de ara-U y el 10% como citarabina inalterada¹⁵.

Entre las RAM más frecuentes destacan las hematológicas, con anemia, leucopenia y trombocitopenia junto con megaloblastosis y disminución de los reticulocitos. También es frecuente la aparición de infecciones leves (víricas, bacterianas, fúngicas, parasitarias o saprofiticas) y el "síndrome de la citarabina", que se caracteriza por fiebre, mialgia, dolor óseo/articular, ocasionalmente dolor torácico,

erupción maculopapular, conjuntivitis y malestar. Ocurre aproximadamente 6-12 horas después de su administración y puede responder al tratamiento con corticoides. También se han descrito de forma muy frecuente las RAM gastrointestinales (náusea, vómitos, diarrea, anorexia, estomatitis, úlceras o inflamación anal), dermatológicas (rash, alopecia), hiperuricemia y función hepática anormal. Se consideran RAM graves asociadas a citarabina las siguientes: anemia, sangrados, leucopenia, trombocitopenia, anafilaxia, neuropatía, enfermedad renal, infección y sepsis¹⁵.

2.5.2 Idarubicina

La idarubicina, del grupo de antineoplásicos de las antraciclinas, es una molécula altamente lipofílica que se transforma en idarubicinol, su metabolito activo. La idarubicina se intercala entre los pares de bases y provoca la ruptura de las hebras de ADN, inhibiendo la topoisomerasa II e interfiriendo en la replicación del ADN y transcripción del ARN, así como generando especies reactivas de oxígeno (ROS)¹⁶.

Su administración en la LMA es intravenosa. Atraviesa la BHE y presenta una elevada unión a proteínas plasmáticas, tanto la idarubicina (97%) como el idarubicinol (94%). Su metabolismo sigue un modelo bi- o tricompartmental, dependiendo de la dosis, y es rápidamente reducido a idarubicinol en plasma. Presenta un amplio reciclaje enterohepático. Su excreción es variable, siendo principalmente la vía biliar para la idarubicina y la urinaria para el idarubicinol. El idarubicinol presenta una mayor vida media (41-69 h) que la idarubicina (11-25 h)¹⁶.

Entre las RAM más frecuentes destacan la mielosupresión (anemia, leucopenia y trombocitopenia) y la toxicidad cardíaca (insuficiencia cardíaca congestiva, cardiomiopatías, bradicardia, taquicardia sinusal, taquiarritmia y reducciones asintomáticas de la fracción de eyección ventricular izquierda). También destacan por su alta frecuencia RAM gastrointestinales (náusea, vómitos, diarrea, anorexia, estomatitis, dolor abdominal), infecciones, dermatológicas (rash, alopecia), aumentos de las transaminasas y la bilirrubina. Destacar entre las RAM graves el síndrome de lisis tumoral y la hiperuricemia, con aparición de alteraciones electrolíticas, con o sin insuficiencia renal. Destaca también la cardiotoxicidad, que se cree que es debida al daño que los ROS que producen en el tejido miocárdico. Puede aparecer durante o inmediatamente después de una sola dosis de antraciclina, ya que no es dosis-dependiente, y su aparición no justifica la suspensión del tratamiento (efectos tempranos). Cuando aparece semanas o años después, se define como tardía y

depende de la dosis de antraciclinas administrada, considerándose irreversible y refractaria al tratamiento. También se pueden dar casos de toxicidades graves hepáticas, renales, hematológicas y gastrointestinales¹⁶.

2.6 Respuesta a fármacos y variabilidad interindividual

Existe una marcada variabilidad en la respuesta a los fármacos entre unos individuos y otros, lo que hace dificulta predecir la efectividad y seguridad de un fármaco concreto en un determinado paciente. El mismo medicamento administrado a distintos pacientes con la misma patología puede obtener diferentes respuestas, es decir, una dosis efectiva y segura en un individuo puede ser subterapéutica o tóxica en otro.

Esta variabilidad puede explicar las diferencias en la sensibilidad a la quimioterapia que se observan entre los pacientes con LMA, condicionando la tasa de RC, así como de recaída o de resistencia primaria. Además, las RAM son responsables de más del 3% de las hospitalizaciones en los países desarrollados, aumentando de forma sustancial el gasto sanitario¹⁷. En España, las RAM afectan alrededor del 10% de los pacientes hospitalizados¹⁸. Cuando hablamos de terapias onco-hematológicas las tasas de toxicidad aumentan, debido al propio mecanismo de acción cuya finalidad es destruir las células malignas, pero que también afecta a tejidos sanos.

En el desarrollo farmacéutico de los antineoplásicos es necesaria la realización de ensayos clínicos que permitan establecer su farmacocinética, la eficacia para una indicación determinada y estudiar su perfil de seguridad. En este proceso cerca del 80% de las moléculas ensayadas son retiradas en algún momento de su desarrollo por problemas de eficacia y/o toxicidad¹⁹. También hay que tener en cuenta que en la práctica clínica es muy común que el perfil de pacientes difiera del de los ensayos clínicos, por lo que puede variar también la efectividad de estos fármacos al emplearse en pacientes ancianos, pediátricos o con comorbilidades.

Con la finalidad de mejorar la efectividad y reducir la toxicidad de los antineoplásicos, se han desarrollado distintas líneas de investigación, centrandó esta tesis en el empleo de la farmacogenética. Otra aproximación que se está estudiando es realizar estudios de sensibilidad *ex vivo* para seleccionar en cada paciente el esquema de inducción con mayores posibilidades de éxito. Aunque los resultados de estos estudios indican que potencialmente se podrían beneficiar un tercio de los

pacientes, todavía tienen que demostrar su utilidad en ensayos clínicos aleatorizados²⁰⁻²².

En la actualidad, existen sólidas razones para interpretar que las variaciones individuales que en pacientes con LMA conducen a distinta efectividad y toxicidad con los mismos esquemas quimioterápicos no se deben sólo a alteraciones citogenéticas y moleculares concretas, y pueden estar influidas en parte por la variabilidad genética.

2.7 Influencia de la variabilidad genética en la respuesta a los fármacos

Antes de hablar sobre el papel que juega la variabilidad genética en las diferentes respuestas a los fármacos entre pacientes, hay que diferenciar entre la Farmacogenómica (PGx) y la Farmacogenética (PGt). La PGx estudia las bases moleculares y genéticas de las enfermedades para desarrollar nuevas vías de tratamiento, mientras que la PGt estudia el efecto de la variabilidad genética de un individuo en su respuesta a determinados fármacos (es un subconjunto de la PGx).

Para poder estudiar la PGt de un tratamiento en una patología concreta hay que conocer todos los detalles de la vía metabólica de los fármacos que lo integran. Los fármacos van sufrir una serie de procesos que condicionan su llegada a la biofase y su interacción con la diana farmacológica para desencadenar la respuesta. Incluyen:

- La farmacocinética (PK) estudia la evolución temporal del fármaco y sus metabolitos en el organismo a través de los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción (LADME).
- La farmacodinamia (PD) comprende los procesos que ocurren cuando el fármaco o sus metabolitos interactúan con la diana farmacológica.

En el proceso PK/PD intervienen una serie de transportadores específicos, enzimas responsables de la biotransformación y receptores codificados por genes. La expresión de dichos genes puede diferir de unos individuos a otros, justificando dicha variabilidad genética en gran parte las diferencias en la respuesta o toxicidad a los fármacos. Conocer de antemano las variantes genéticas de un individuo puede ayudar a predecir la respuesta a los medicamentos, y a optimizar su seguridad y efectividad.

Existen distintas fuentes de variabilidad genética, dividiéndose principalmente en mutaciones y polimorfismos. Las mutaciones son las más graves, ya que pese a ser variaciones poco frecuentes, causan un efecto patogénico marcado. Los polimorfismos, en cambio, son más frecuentes (presentes en más de un 1% de la población) pero no suele tener relevancia clínica.

En la PGt se estudia un tipo concreto de polimorfismos, los Polimorfismos de Nucleótido Único (SNPs), que son polimorfismos originados por variación de un solo nucleótido de la secuencia, y que representan el 90% de la variabilidad genética de nuestro genoma, apareciendo un cambio de nucleótido aproximadamente cada mil bases²³. Pese a que habitualmente los SNPs no tendrán consecuencias biológicas, los genes humanos están sometidos a una alta tasa de polimorfismo genético, lo que puede conducir a alteraciones funcionales significativas. La PGt estudia los SNPs que conducen a una expresión alterada del gen o en una actividad diferente del producto génico. Los SNPs producen un cambio en la secuencia de nucleótidos, que puede conllevar cambios en la secuencia de aminoácidos de la proteína que modifiquen la actividad enzimática, la estabilidad de la proteína o la afinidad de unión por su ligando. Estas variaciones genéticas tendrán consecuencias en la eficacia y seguridad de los fármacos principalmente cuando afectan a²⁴:

- **Transportadores de membrana:** son proteínas situadas en superficie celular de diferentes tejidos y tienen la capacidad de transportar fármacos al interior de la célula (transportadores de influjo) o al exterior de la célula (bombas de eflujo). Destaca la glicoproteína P (P-gp), codificada por el gen *ABCB1* (*ATP-binding cassette, sub-family B, member 1*) que regula la expulsión de múltiples fármacos, y se asocia a la resistencia a antineoplásicos.
- **Enzimas metabólicas:** son las responsables de la biotransformación de fármacos, destacando las enzimas oxidativas de Fase I del sistema del citocromo P-450 (CYP), que participan en el metabolismo de la mayoría de fármacos. Se han detectado SNPs en la mayoría de genes que codifican enzimas, lo que permite clasificar a los individuos en metabolizadores normales, intermedios, lentos o ultrarrápidos, según su actividad.
- **Dianas farmacológicas:** son el lugar de acción de los fármacos, y es frecuente la presencia de SNPs que afecten a receptores y otras dianas de fármacos.

La investigación en PGt se basa principalmente en los estudios de asociación, que consiste analizar la presencia de una serie de SNPs entre dos grupos de individuos con fenotipos opuestos, por ejemplo responder o no responder a un fármaco o experimentar o no una RAM. Se pueden emplear dos metodologías diferentes:

- **Estudios por genes candidatos:** se basan en el conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad y su farmacología, generando la hipótesis de que variaciones genéticas en genes que participan de la PK/PD del fármaco,

van a afectar su eficacia/toxicidad. Los resultados positivos en este tipo de estudios son fáciles de interpretar y pueden proporcionar información clínicamente útil, aunque un resultado negativo puede interpretarse de diversas maneras, ya que generalmente estos estudios carecen del suficiente tamaño muestral para detectar efectos. Han dado muy buenos resultados, presentando como ventajas emplear muestras más pequeñas y resultados fácilmente interpretables.

- **GWAS (*Genome Wide Association Studies*):** estudian todo el genoma del individuo para encontrar relaciones con el efecto de los fármacos. Parten de la hipótesis de que cualquier variación genética en el genoma puede contribuir a la variación en la respuesta al fármaco (fenotipo claramente definido). Por lo tanto, carecen del sesgo de selección de los estudios por genes candidatos y pueden identificar varios polimorfismos que contribuyan al efecto. Pero en contra, necesita de tamaños muestrales muy elevados y generalmente los resultados positivos encontrados son difíciles de interpretar²⁵.

La medicina de precisión ha experimentado un gran impulso en la última década y se considera la vanguardia en muchas especialidades médicas. Gracias a los proyectos Genoma Humano y el Proyecto Internacional HapMap, disponemos de una amplia información sobre los principales SNPs y su frecuencia en cada población. Además, el desarrollo técnicas de secuenciación más sencillas y baratas, así como de herramientas bioinformáticas para procesar grandes cantidades de datos, han permitido avanzar en el campo de la PGt y que ya se emplee de forma rutinaria en los laboratorios de universidades y hospitales. Todo ello favorece el desarrollo nuevas herramientas de diagnóstico y tratamiento basadas en la información genética propia del individuo.

2.8 Farmacogenética en la leucemia mieloide aguda

Los estudios publicados sobre PGt realizados en pacientes con LMA *de novo* se han centrado principalmente en el estudio de los genes que codifican los transportadores y las enzimas responsables de la biotransformación tanto de la citarabina como de las antraciclinas, que constituyen el tratamiento de inducción estándar. A diferencia de otras patologías, los estudios de asociación realizados en LMA *de novo* no han obtenido resultados concluyentes. No existen recomendaciones sobre los ajustes de dosis en función de los fenotipos de determinados SNPs, ni se han empleado como biomarcadores genéticos. Muchas veces se han estudiado de

forma aislada determinados SNPs, pero sin abordar de forma integral los principales polimorfismos que afectan a las vías metabólicas de la citarabina y las antraciclinas, así como sus dianas terapéuticas, incluyendo SNPs que afectan a los mecanismos de reparación del ADN. Solo tras analizar en conjunto todos ellos se podrá implementar el empleo de la PGt de forma rutinaria en la práctica clínica. A continuación, vamos a describir los principales SNPs asociados a antraciclinas y citarabina que han demostrado resultados positivos respecto a la efectividad o seguridad de estos tratamientos^{26,27}.

2.8.1 Polimorfismos que afectan a la vía metabólica de las antraciclinas

Desde la década de 1960, las antraciclinas se han empleado ampliamente en la LMA. Idarubicina o daunorubicina se usan principalmente en esquemas 7+3 combinados con citarabina. Sus posibles mecanismos de acción incluyen: intercalación de ADN, estabilización del ADN, inhibición de la topoisomerasa II y producción de ROS. La vía metabólica de las antraciclinas y los genes implicados que va a estudiar la PGt se describe con precisión en la Figura 2²⁷.

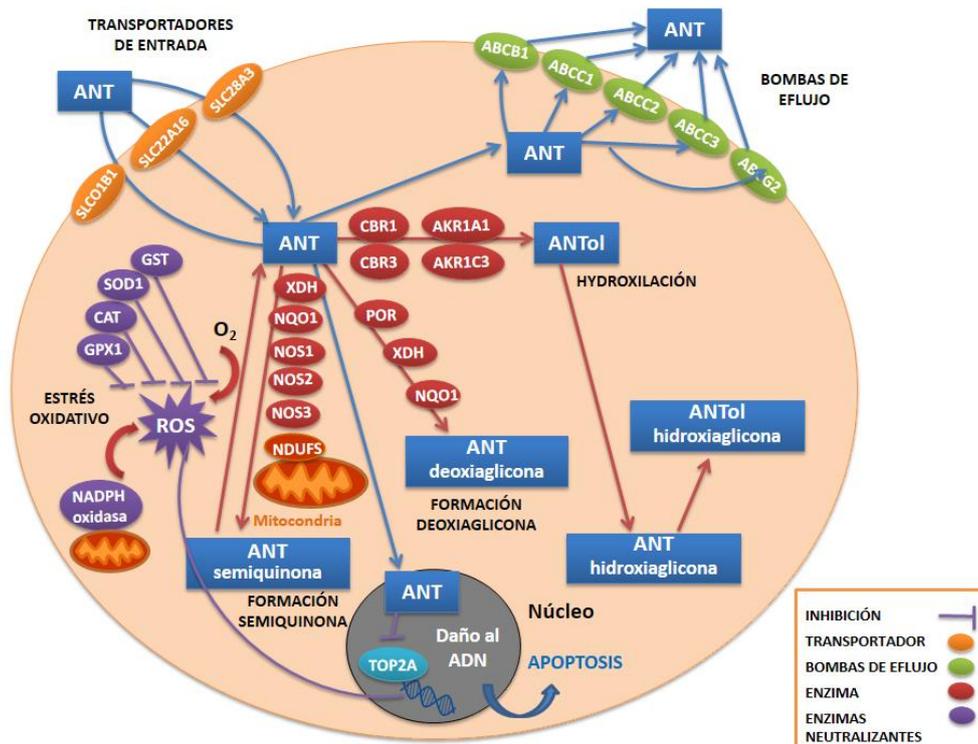


Figura 2. Genes candidatos involucrados en la vía metabólica de las antraciclinas

2.8.1.1 Transportadores de membrana

2.8.1.1.1 Transportadores de entrada

La familia de transportadores de solutos SLC incluye 400 tipos de transportadores diferentes involucrados en el influjo al interior de la célula de múltiples sustancias y xenobióticos. Varios transportadores SLC se han asociado a la captación de antraciclinas por los blastos y otros tejidos. Los polimorfismos de *SLC28A3* rs7853758 y rs885004 se correlacionaron con cardiotoxicidad inducida por antraciclinas (AIC en inglés) en dos cohortes de pacientes con cáncer pediátrico tratados con doxorubicina y daunorubicina^{28,29}. El alelo variante de *SLC28A3* rs7853758, que se encuentra en desequilibrio de ligamiento con rs885004, se ha relacionado con una menor expresión de ARNm de *SLC28A3* en diferentes líneas celulares^{30,31}. Sin embargo, la asociación entre *SLC28A3* rs7853758 y AIC no se replicó en tres cohortes de pacientes adultos con linfoma de células B³² y cáncer de mama^{33,34}. En pacientes con LMA, el alelo salvaje de *SLC28A3* rs11140500 se asoció con menor SLE, aunque dicha asociación desapareció tras la corrección de Bonferroni³⁵. Otros SNPs de SLC se han relacionado con la AIC en pacientes con cáncer pediátrico³⁶, *SLC22A17* rs4982753 y *SLC22A7* rs4149178, aunque su influencia en LMA no ha sido analizada.

Otro transportador de SLC ampliamente estudiado es el transportador de cationes orgánicos, *SLC22A16*, que se expresa constitutivamente en blastos. En una cohorte asiática de cáncer de mama, el alelo variante de *SLC22A16* rs714368 se correlacionó con mayores niveles de exposición de doxorubicina y doxorubicinol³⁷. Del mismo modo, en una cohorte caucásica de cáncer de mama, varios polimorfismos de *SLC22A16* se relacionaron con una incidencia menor (rs714368, rs6907567, rs723685) o mayor (rs12210538) de dosis retrasadas, indicativo de menor o mayor toxicidad³⁸.

El polipéptido transportador de aniones orgánicos-1B1 (*SLCO1B1*) se expresa predominantemente en el hígado, y ha estado involucrado en la absorción hepática y el aclaramiento plasmático de varios medicamentos, incluidas las antraciclinas³⁹. Los polimorfismos *SLCO1B1* más relevantes son 492A>G (rs2306283) y 521T>C (rs4149056). Estos SNPs están parcialmente en desequilibrio de ligamiento. El alelo variante de rs4149056 se ha correlacionado con menor absorción hepática de antraciclinas, aumentando los niveles plasmáticos y el riesgo de toxicidad en los tejidos⁴⁰. En LMA, el alelo menor de *SLCO1B1* rs4149056 se asoció a mayor hepatotoxicidad⁴¹ en una cohorte caucásica.

2.8.1.1.2 Transportadores de salida

Los transportadores *ABC* (del inglés, *ATP-binding cassette*) incluyen varias bombas de eflujo que tienen una potencial influencia en la distribución y eliminación de antraciclinas en los blastos y los distintos tejidos. Estos transportadores provocan la salida de las antraciclinas desde el interior de las células, aumentando la resistencia antitumoral de los blastos. Los polimorfismos del gen *ABCB1*, que codifica la P-gp, se han analizado ampliamente en pacientes con LMA⁴²⁻⁵⁵, especialmente *ABCB1* 3435C>T (rs1045642), 2677G>A/T (rs2032582) y 1236C>T (rs1128503). Los alelos menores de estos SNPs se han asociado a una menor función de la bomba de eflujo^{56,57}, aumentando la acumulación intracelular de antraciclinas, con el consecuente posible aumento de la eficacia y la toxicidad. Los alelos menores de estos SNPs de *ABCB1* se han correlacionado con mayores tasas de RC o de supervivencia en la mayoría de estudios^{43-46,49,52,54,55}, aunque en otras cohortes estas asociaciones no se reprodujeron o incluso se contradijeron^{47,48,50,51,53}. Dos metaanálisis realizados por nuestro grupo de investigación confirmaron la mayor RC y SG con alelos variantes de 3435C>T, 2677G>A/T y 1236C>T, particularmente en pacientes caucásicos^{58,59}. Sólo dos estudios analizaron las toxicidades relacionadas con las antraciclinas, sin detectar asociaciones significativas^{48,51}. Además, los estudios de AIC en pacientes con LMA no detectaron relación entre la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) y 28 polimorfismos de *ABCB1*⁶⁰, a diferencia de los hallazgos obtenidos en AIC con *ABCB1* rs2235047, rs2229109 y rs1045642 en otros cánceres^{28,29,61,62}.

Se han estudiado variantes genéticas de otros miembros de la familia *ABC* (*ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC3*). Estudios publicados en pacientes con otros tumores reportaron una mayor AIC con algunos polimorfismos de *ABCC1* (rs45511401, rs3743527, rs246221, rs4148350, rs246214, rs1214763), *ABCC2* (rs8187694, rs8187710, rs17222723), *ABCC5* (rs7627754), *ABCC9* (rs11046217), *ABCB4* (rs1149222, rs4148808), *ABCB11* (rs10497346), *ABCA1* (rs3887137)^{28,29,32-34,36,61-68}. La asociación entre los SNPs de *ABCC1* y el AIC no se confirmó en pacientes con LMA⁵¹, así como la influencia en RC o SG. En una cohorte caucásica de LMA, los alelos menores de *ABCC3* (rs4148405, rs1989983, rs2301835, rs8079740) mostraron menor SLE que los alelos salvajes, mientras que el alelo variante de SNPs de *ABCC3* (rs2277624, rs757420) presentaba mayor SLE³⁵, reproduciendo los resultados en SG previamente reportados con el alelo variante de *ABCC3* rs4793665⁶⁹.

En relación con *ABCG2*, su sobreexpresión en combinación con la mutación *FLT3-ITD* se correlacionó con mal pronóstico en pacientes adultos con LMA⁷⁰. En una cohorte de 184 pacientes chinos con leucemia linfocítica aguda (LLA) o LMA (141 de ellos con LMA), *ABCG2* 34G>A (rs2231137) se asoció con menor SG y SLE, mientras que el polimorfismo *ABCG2* 421C>A (rs2231142) se asoció con menor SG⁷¹. En una cohorte caucásica de LMA, el genotipo salvaje de rs2231142 se relacionó con baja expresión de *ABCG2* y mayor SG y SLE⁷². Sin embargo, en una cohorte mayor en LMA se observó un aumento de la SG y un mayor riesgo de toxicidades \geq grado 3 con el alelo variante de rs2231137, mientras que no hubo resultados significativos con rs2231142. Finalmente, en un estudio de asociación con AIC en LMA, no se detectaron asociaciones en 16 polimorfismos *ABCG2* diferentes con alteraciones de la FEV1⁶⁰.

2.8.1.2 Enzimas metabolizadoras de antraciclinas

La ruta metabólica de las antraciclinas incluye tres vías (Figura 2)²⁷: 1) hidroxilación o reducción de dos electrones a un alcohol secundario (idarubicinol para idarubicina), que es la ruta metabólica principal; 2) reducción de un electrón y 3) desglicosilación. Además, se estima que aproximadamente el 50% de la dosis de las antraciclinas se elimina inalterada⁷³.

2.8.1.2.1 Hidroxilación: carbonil reductasas and aldo-keto reductasas

Las enzimas carbonil reductasas (CBR) detoxifican una amplia gama de sustratos, incluidas antraciclinas, y están implicadas en la resistencia a medicamentos, en la transducción de señales en la apoptosis, en la mutagénesis y la carcinogénesis⁷⁴. Las subunidades más relacionadas con la reducción de las antraciclinas son CBR1 y CBR3. Se han descrito diferencias en su eficiencia catalítica, mostrando en hígado una expresión de ARNm 1000 veces mayor de CBR1 frente a CBR3⁷⁵, así como una expresión de proteína 10 veces mayor⁷⁶. Además, CBR1 tiene un papel predominante en la hidroxilación de antraciclinas en hígado, riñones y tracto gastrointestinal⁷⁵. Se han detectado polimorfismos funcionales en ambas subunidades de *CBR*.

Se han estudiado ampliamente dos polimorfismos en la región codificante del gen de *CBR1*, 262G>A (V88I, rs1143663) y 820C>T (P131S, rs41557318). La variante V88I redujo la velocidad máxima (V_{max}) de daunorubicina de 1,6 a 1,5 veces^{77,78} y 1,4

veces la V_{max} de doxorubicina⁷⁷, mientras que la variante P131S alteró de forma significativa K_m pero no V_{max} ⁷⁷. Los alelos variante de ambos SNPs mostraron una disminución en la eficiencia catalítica de CBR1 para daunorubicina y doxorubicina entre un 20 y 40%⁷⁷, y la variante V88I redujo 1,7 veces los niveles de daunorubicinol⁷⁸. Las diferencias observadas en la actividad de CBR1 podrían estar relacionadas con una afinidad diferente en la unión del cofactor NADPH en la variante V88I⁷⁹, mientras que la variante P131S podría alterar las propiedades cinéticas de CBR1 o modificar la conformación del sitio activo⁷⁷. Pese a estas alteraciones PK/PD, estos SNPs no se asociaron a AIC en una cohorte caucásica de 185 pacientes con LMA⁸⁰.

Además, se han detectado polimorfismos *CBR1* en la región 3' no traducida, destacando 1096G>A (rs9024) y 627C>T (rs202572). El alelo variante de 1096G>A se asoció a una menor expresión de CBR1 y a una disminución de 1,5 veces en la síntesis de doxorubicinol en muestras de hígado de 96 donantes⁷⁹. Este efecto se reprodujo con los alelos variante de 1096G>A y 627C>T en una cohorte asiática de 60 pacientes con cáncer de mama, con niveles de exposición y aclaramiento de doxorubicina más bajos⁸¹. Sin embargo, no se detectaron relaciones entre estos polimorfismos de *CBR1*, la expresión y la actividad hepática de CBR1 en una cohorte de 80 donantes⁷⁵. El homocigoto salvaje GG de 1096G>A mostró una tendencia a mayor AIC con dosis bajas o moderadas de antraciclinas en la cohorte de cáncer pediátrico⁸², pero no en la cohorte completa o con dosis altas de antraciclinas. Este hallazgo fue consistente con otras grandes cohortes de cáncer pediátrico^{28,36}, TPH⁶³, LMA⁶⁰ y cáncer de mama⁶¹. Un estudio de PK de daunorubicina en LMA mostró mayor área bajo la curva (AUC) en portadores del alelo variante de *CBR1* rs25678⁴².

El SNP más estudiado de *CBR3* es 730G>A (rs1056892). El alelo variante de 730G>A codifica una isoforma CBR3 con mayor actividad catalítica que la isoforma de tipo salvaje⁸³. Se observaron resultados similares en una cohorte de 101 pacientes asiáticas con cáncer de mama, detectando un AUC de doxorubicinol 1,5 veces mayor y mayor expresión intratumoral de CBR3 en portadores de alelos menores de 730G>A⁸⁴. Se observaron resultados contrarios en pacientes con cáncer pediátrico, con una tasa de síntesis de doxorubicinol 2,6 veces mayor con el genotipo salvaje⁸⁵, y de manera similar se detectó *in vitro* una mayor actividad reductasa con doxorubicina y daunorubicina⁷⁶. El estudio de Blanco *et al.* obtuvo un riesgo 8 veces mayor de AIC con el genotipo salvaje de 730G>A, confirmado en una cohorte mayor, aunque solo con dosis bajas o moderadas de antraciclinas (1–250mg/m²)⁸². Un estudio posterior en 166 pacientes caucásicas de cáncer de mama también obtuvo un mayor riesgo de

disfunción sistólica tras la terapia con doxorubicina en portadores del genotipo GG⁶¹. Sin embargo, esta asociación no se confirmó en otras cohortes tratadas con antraciclinas de cáncer pediátrico^{28,36,64}, osteosarcoma⁶⁵, TPH⁶³ y LMA^{60,80}. Además, un estudio en 70 pacientes con cáncer de mama tratadas con antraciclinas encontró peores parámetros sistólicos y diastólicos en portadores del genotipo AA⁸⁶. No se detectaron asociaciones entre los polimorfismos de *CBR3* 730G>A y 277G>A (rs2835285) y la SLE en cáncer de mama⁸⁷.

Otro polimorfismo *CBR3* relevante es 11G>A (rs8133052). El genotipo salvaje se asocia con mayor conversión catalítica de doxorubicina a doxorubicinol por *CBR3*, detectando mayor AUC de doxorubicinol con el alelo G. Además, este estudio detectó con el genotipo salvaje mayor expresión tumoral de *CBR3* y mayor reducción tumoral, así como menor leucopenia⁸⁴. Un estudio *in vitro* reprodujo con el alelo variante de 11G>A una menor actividad de reductasa de doxorubicina y daunorubicina, así como con otros alelos variantes de SNPs de *CBR3* (rs283528 y rs4987121)⁷⁶. En cambio, en un estudio posterior en osteosarcoma no asoció el SNP 11G>A con la cardiotoxicidad⁶⁵.

En pacientes con LMA, la influencia de los polimorfismos de *CBR3* no está clara. El primer estudio de Lubieniecka *et al.* no observó asociaciones entre los polimorfismos *CBR* y *AKR* con la AIC en una cohorte de 185 pacientes con LMA⁸⁰. Sin embargo, este grupo de investigación relacionó la variante *CBR3* (rs10483032) con una caída en la FEVI⁶⁰. Desafortunadamente, esta asociación desapareció después de la corrección por comparaciones múltiples.

Las enzimas aldo-keto reductasas (*AKR*) catalizan la reducción de cetonas y aldehídos a alcoholes mediante una reacción dependiente de NADPH. De esta familia destacan las enzimas *AKR1C*, que metabolizan principalmente esteroides, así como *AKR1A1*, *AKR1C1*, *AKR1C2*, *AKR1C3* relacionadas con la desintoxicación de quimioterapia. De estas, *AKR1A1* y *AKR1C3* juegan un papel relevante en el metabolismo de doxorubicina y daunorubicina⁷⁵. Sin embargo, *CBR1* es la principal enzima reductasa hepática, con un nivel de ARNm 50 veces mayor que *AKR1C3* y una eficiencia catalítica 14 veces mayor⁷⁵. Además, se detectó una baja afinidad de las enzimas *AKR* con doxorubicina y daunorubicina⁸⁸, las antraciclinas más cardiotóxicas, mientras que idarubicina mostró una alta afinidad por las reductasas *AKR*⁸⁹.

2.8.1.2.2 Formación de la semiquinona: reducción de un electrón

La reducción de un electrón de antraciclinas para generar un radical semiquinona se lleva a cabo mediante diferentes oxidorreductasas (Figura 2)²⁷: la NADH deshidrogenasa [ubiquinona] Fe-S (NDUFS) en las mitocondrias, la NADPH deshidrogenasa (NQO1), la xantina oxidasa (XDH) y las óxido nítrico sintasas (NOS1, NOS2 y NOS3) en el citosol. El radical semiquinona intermedio que se forma podría reoxidarse a la forma original de antraciclina y generar ROS.

La NDUFS es la oxidorreductasa mitocondrial asociada con el complejo I de la cadena respiratoria, que participa en la formación de la semiquinona de antraciclina, especialmente en las membranas de las mitocondrias cardíacas, pero que está ausente en las mitocondrias hepáticas⁹⁰. Se desconoce si existen polimorfismos de *NDUFS* que influyan en la eficacia o la toxicidad de las antraciclina en LMA u otras neoplasias.

NQO1 participa en la formación de la semiquinona y también en la reducción de dos electrones de las antraciclinas a derivados de hidroquinona (deoxiaglicona), evitando así la formación de ROS. El metabolito semiquinona se produce en condiciones aeróbicas, mientras que la deoxiaglicona se forma en un entorno anaeróbico. El polimorfismo *NQO1* 609C>T (rs1800566) produce *in vitro* una pérdida completa de actividad enzimática⁹¹, pero este SNP no demostró asociarse con AIC en cohortes de cáncer pediátrico^{36,85}, TPH⁶³, LLA infantil⁶⁶ y osteosarcoma⁶⁵. En la LMA, la AIC aún no se ha estudiado, pero se vio que los portadores de alelos variantes de 609C>T mostraron menor RC^{92,93}, pero sin impacto en las tasas de supervivencia^{43,92-94}. En otras neoplasias malignas, rs1800566 se relacionó con la eficacia de las antraciclinas, como en mieloma múltiple⁹⁵, cáncer gástrico⁹⁶ y cáncer de mama⁹⁷, pero no con la supervivencia en otras cohortes de cáncer de mama^{87,98}. Un metaanálisis determinó que el alelo variante de *NQO1* 609C>T aumentaba riesgo de padecer cáncer⁹⁹.

La XDH ha sido implicada en la formación de la semiquinona y la deoxiaglicona. Por un lado, XDH podría estar involucrada en la generación de ROS, y sus polimorfismos estar relacionados con la AIC. Un análisis a gran escala en una cohorte de cáncer pediátrico mostró que los SNPs *XDH* rs4407290 y rs2236168 se asociaron a una menor cardiotoxicidad, probablemente relacionada con una menor expresión o actividad de XDH³⁶. Por otro lado, XDH también participa en la síntesis de deoxiaglicona, aunque XDH es menos eficaz que NQO1 y la oxidorreductasa P450 (POR)¹⁰⁰, y su papel en la deglicosilación está menos estudiado.

NOS3 es una enzima endotelial que cataliza la producción de óxido nítrico (NO) a partir de L-arginina. El NO está implicado en la regulación del tono vascular, la proliferación celular, la adhesión de los leucocitos y la agregación plaquetaria. Además, NOS3 participa en la reducción de un electrón de las antraciclinas. El polimorfismo *NOS3* 894G>T (rs1799983) da como resultado un reemplazo de Glu298Asp que afecta la producción de NO endotelial¹⁰¹. El efecto de los alelos variantes de 894G>T (rs1799983) y 786T>C (rs2070744) se asoció a niveles más bajos de NOS3, menor supervivencia y mayor riesgo de recurrencia en una cohorte de cáncer de mama⁸⁷. En cohortes pediátricas de LLA tratadas con doxorubicina, el genotipo TT de rs1799983 se relacionó con una mayor neurotoxicidad¹⁰² y un efecto protector en la cardiotoxicidad⁶⁶, mientras que no se observó influencia del SNP rs2070744. Un estudio GWAS no encontró asociaciones entre los polimorfismos de *NOS3* y la AIC en una cohorte de cáncer infantil⁶⁴. Un estudio en cáncer gástrico no obtuvo el impacto de los polimorfismos de *NOS3* en la eficacia de la epirubicina⁹⁶. La expresión de NOS3 en el tumor y en el tejido vascular circundante se ha asociado a un pronóstico favorable. Los estudios *in vitro* en LMA informaron que la generación de NO en altos niveles induce a la apoptosis¹⁰³. En una cohorte china de 225 pacientes con LMA el genotipo de tipo salvaje de *NOS3* rs1799983 se relacionó con mayor expresión de ARNm y mayor SG¹⁰⁴.

2.8.1.2.3 Formación de la deoxiaglicona: deglicosilación reductiva

La deglicosilación es la ruta metabólica menor, responsable de aproximadamente el 1-2% del metabolismo de la antraciclina. Son posibles dos procesos diferentes de deglicosilación, la reducción para formar la deoxiaglicona o la hidrólisis para formar la hidroxiaiglicona. Las enzimas implicadas en estas reacciones son POR, XDH y NQO1¹⁰⁵. Los SNPs de *XDH* y *NQO1* se describieron previamente.

POR es una flavoproteína que transfiere electrones de NADPH al CYP. Además de la deglicosilación de las antraciclinas, POR participa en la conversión al radical semiquinona y podría asociarse con AIC. En una gran cohorte de cáncer pediátrico, los polimorfismos POR (rs13240755 y rs4732513) no se correlacionaron con AIC²⁸. Sin embargo, en una cohorte de 91 pacientes con LMA tratados con daunorubicina, los alelos variante *POR* (rs2868177, rs13240755, rs4732513 y rs6953065) se asociaron a mayor cardiotoxicidad. Estos polimorfismos fueron responsables del 11,6% de la variabilidad en el descenso de la FEVI⁶⁰.

2.8.1.2.4 Otras enzimas con efecto minoritario en el metabolismo de las antraciclinas

Además de las enzimas de la vía metabólica de las antraciclinas, otras enzimas mostraron variabilidad genética en pacientes con LMA. Las enzimas del CYP están involucradas en el 75% del metabolismo total de los fármacos, aunque el CYP tiene una acción limitada en el metabolismo de las antraciclinas. En una cohorte de 97 pacientes con LMA, el alelo variante *CYP1A1*2A* (6235T> C, rs4646903) mostró tasas de supervivencia más bajas¹⁰⁶, pero este hallazgo no se reprodujo en otra cohorte de LMA⁹². El estudio de asociación de Lubieniecka *et al.* mostró que los alelos variante de tres polimorfismos de *CYP1A2* (rs2069522, rs2069526, rs4646427) se asociaron con AIC, mientras que con los SNPs de *CYP2B6*, *CYP2F1*, *CYP2B1* y *CYP4F11* esta asociación fue moderada⁶⁰. Los polimorfismos de *CYP1A1*2B*, *CYP1A1*4*, *CYP2B6*, *CYP3A4*1B* analizados en cohortes de LMA no se correlacionaron con la eficacia de la antraciclina^{93,106,107}. En una cohorte de 113 pacientes con LMA, el alelo menor de *CYP2D6* rs16947 se asoció a una menor tasa de RC y se obtuvieron resultados similares en RC cuando este alelo variante se combinó con el genotipo de tipo salvaje de *GSTO2* rs156697¹⁰⁸.

CYP2E1 metaboliza pequeñas moléculas polares, incluido el etanol y numerosos medicamentos, y sus SNPs están relacionados con la toxicidad de las antraciclinas. El alelo menor de *CYP2E1* rs2070673 ha demostrado *in vitro* un aumento de la expresión génica y la actividad enzimática¹⁰⁹, así como una mayor hepatotoxicidad en una cohorte de 94 pacientes con LMA⁴¹. Por otro lado, se observó un efecto protector en la toxicidad hepática con el alelo variante de *CYP2E1* (rs2515641)⁴¹. Otros SNPs de *CYP2E1* (rs3813867, rs2031920) no mostraron influencia en la RC y la SLE en otra cohorte de LMA⁹².

La enzima alcohol deshidrogenasa (*ADH*) cataliza la interconversión entre etanol y acetaldehído, que posteriormente es metabolizado a acetato por las aldehído deshidrogenasas (*ALDH*). El acetaldehído también podría acumularse dentro de la célula, generando aductos con el ADN y las proteínas. La variabilidad genética de *ADH* y *ALDH* podría modificar las propiedades cinéticas de las enzimas, creando una acumulación anormal de acetaldehído¹¹⁰. En una cohorte caucásica de pacientes con LMA se observó que los alelos menores de dos polimorfismos de *ADH1A* (rs6811453 y rs1826909) estaban vinculados a una RC más baja. Se necesitan más estudios para dilucidar su papel de *ADH* en el metabolismo de las antraciclinas⁴¹.

2.8.1.3 Carcinógenos y enzimas neutralizantes de antineoplásicos

Las S-transferasas de glutatión (GST) son enzimas de fase II que catalizan la detoxificación de muchos compuestos endógenos o exógenos, incluidas las antraciclinas¹¹¹. La expresión de GST es inducida por la generación de ROS de los tratamientos con antraciclinas, con la finalidad de anular el estrés oxidativo celular. La familia GST incluye cuatro clases principales (α , μ , π , τ o A, M, P, T).

Las deleciones o genotipos nulos de *GSTM1* o *GSTT1* se han correlacionado con la ausencia de actividad enzimática, aunque la relevancia de estos polimorfismos en los resultados de LMA sigue siendo controvertida. En adultos, varios estudios han asociado estas deleciones con tasas de supervivencia más bajas^{69,92,94,112-115}, mientras que en otros estudios este efecto no se reprodujo^{43,93,116-121}. En pacientes pediátricos con LMA, el genotipo nulo *GSTT1* se asoció a mayor muerte en remisión y menor SG¹²², mientras que *GSTM1* no replicó estos resultados^{122,123}, con la excepción una mayor SLE con genotipo nulo *GSTM1*¹²². Además, los genotipos nulos de *GSTT1* y *GSTM1* se relacionaron con una menor tasa de RC en tres estudios¹¹²⁻¹¹⁴, aunque este hallazgo no se reprodujo en la mayoría de cohortes^{92,94,115,117-119}. Un metaanálisis de 11 estudios en pacientes con LMA mostró que el genotipo nulo *GSTT1* y el doble genotipo nulo *GSTT1-GSTM1* estaban significativamente relacionados con tasas de supervivencia más bajas y una menor respuesta a la quimioterapia, especialmente en la población asiática¹²⁴.

Se han estudiado otros SNPs de la familia de GST en cohortes de LMA, incluido *GSTM1* rs375446, correlacionado en pacientes caucásicos y no caucásicos con menor SLE, y el polimorfismo de *GSTT1* rs11090305, solo asociado menor SLE en caucásicos³⁵. Además, los polimorfismos de *GSTP1* (rs1695, rs1138272) se han correlacionado con una menor actividad de la enzima, lo que aumenta la exposición al fármaco y reduce el aclaramiento de antraciclinas¹²⁵. Voso *et al.* relacionaron el alelo variante de *GSTP1* rs1695 mayor SG y SLR, y menor toxicidad hematológica¹¹⁹, mientras que otros estudios no reprodujeron estos resultados^{43,118,120,121,126}. Además, *GSTP1* (rs1695) se ha correlacionado con AIC en dos estudios pequeños en cáncer de mama y osteosarcoma^{65,86}, pero no se pudo replicar en varios otros estudios, incluyendo pacientes oncológicos adultos y pediátricos^{28,62,64,127}. El polimorfismo *GSTT1* rs4630 se analizó en una cohorte española de 110 pacientes con LMA, sin asociaciones relevantes⁴⁴. El polimorfismo *GSTA1* rs3957357 no se correlacionó con la RC y la supervivencia, aunque el genotipo salvaje mostró una tendencia a mayor toxicidad cardiovascular¹¹⁸. Este SNP se asoció a un mayor SLE en el linfoma difuso

de células B grandes⁶². Finalmente, el alelo menor de un SNP de *GSTO2* raramente estudiado (rs156697) se relacionó con una mayor tasa de RC en una cohorte china de LMA¹⁰⁸.

Otras enzimas relacionadas con el estrés oxidativo fueron las sulfotransferasas (SULT), que catalizan la conjugación de sulfatos de varios neurotransmisores, hormonas y medicamentos, incluidas las antraciclinas. En tres grandes cohortes de pacientes con cáncer pediátrico, Visscher *et al.* observó que los alelos variantes de polimorfismos *SULT2B1* (rs10426377 y rs10426628) se correlacionaron con AIC^{28,29,36}. En los pacientes con LMA, el alelo menor de *SULT2B1* rs2302948 se asoció con menores reacciones infusionales tras la infusión de gemtuzumab ozogamicina⁴¹, mientras que los genotipos homocigotos del polimorfismo *SULT1C2* rs1402467 mostraron una mayor tasa de recaída y una reducción de la SLE⁴⁴.

La NADPH oxidasa cataliza la generación de ROS, que está implicada en el daño celular y la cardiotoxicidad relacionada con las antraciclinas¹²⁸. Los alelos menores de los SNPs de las subunidades de NADPH oxidasa *CYBA* (rs4673), *NCF4* (rs1883112) y *RAC2* (rs13058338) se asociaron mayor AIC en dos cohortes de linfoma no Hodgkin^{32,33}, mientras que otros 6 estudios no se detectaron esta asociación^{28,34,62,63,65}, dos de ellos incluyendo pacientes con LMA^{28,63}. Un estudio analizó histológicamente las AIC en pacientes con cáncer (41,7% con LMA) encontrando asociaciones entre *CYBA* rs4673 y la necrosis miocárdica parcheada, así como de *NCF4* rs1883112 y la fibrosis intersticial miocárdica¹²⁹. Estos resultados no se reprodujeron en pacientes con cáncer infantil (sólo el 5% de 440 pacientes tenían LMA)²⁸, mientras que en pacientes con TPH, los portadores del alelo menor de *RAC2* rs13058338 mostraron un mayor riesgo de AIC⁶³. No se observaron asociaciones entre los SNPs de NADPH oxidasa y AIC en grandes cohortes de cáncer de mama^{34,61}, pero el genotipo CT de *CYBA* se correlacionó con menor SG y SLR¹³⁰. Además, los alelos menores de *CYBA* rs4673 y *NCF4* rs1883112 se asociaron a un mayor SLE en el linfoma difuso de células B grandes⁶² y el linfoma no Hodgkin agresivo de células B¹³¹, respectivamente. En osteosarcoma, no se detectó influencia de los SNPs de *CYBA* y *NCF4* en las tasas de supervivencia y AIC, aunque el alelo variante de *CYBA* rs4673 se relacionó con un menor riesgo de anemia y mucositis⁶⁵.

El estrés oxidativo es un mecanismo importante de las antraciclinas para inducir la apoptosis de las células tumorales. Varias enzimas antioxidantes protegen las células contra el estrés oxidativo, incluida la enzima superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD), la catalasa (CAT) o la glutatión peroxidasa (GP). En teoría, una disminución en la actividad de las enzimas antioxidantes podría conducir a un mayor

estrés oxidativo y, por lo tanto, a una mayor citotoxicidad de las antraciclinas en las células cancerosas. La influencia de los polimorfismos de estas enzimas en la AIC se ha estudiado en el linfoma no Hodgkin³³, el cáncer infantil²⁸ y TPH⁶³ sin asociaciones significativas. La variante intrónica de *CAT* rs10836235 en una pequeña cohorte de LLA pediátrica se relacionó con AIC¹³², aunque un GWAS posterior en población pediátrica no reprodujo este resultado⁶⁴. En una cohorte de LMA de 89 pacientes, los portadores del alelo variante de *MnSOD* rs4880 mostraron una mayor SG y un menor riesgo de muerte, mientras que los SNPs de *CAT* (rs1001179) y *GPX1* (rs1050450) no influyeron en las tasas de supervivencia¹³³.

2.8.2 Polimorfismos que afectan a la vía metabólica de la citarabina

La citarabina es un análogo de nucleósido de desoxicitidina que interfiere con la síntesis de ADN. Se considera el agente quimioterapéutico más efectivo en el tratamiento de la LMA, y vamos a analizar en profundidad las distintas dianas de su vía metabólica que pueden ser responsables de su variabilidad genética (Figura 3)²⁶.

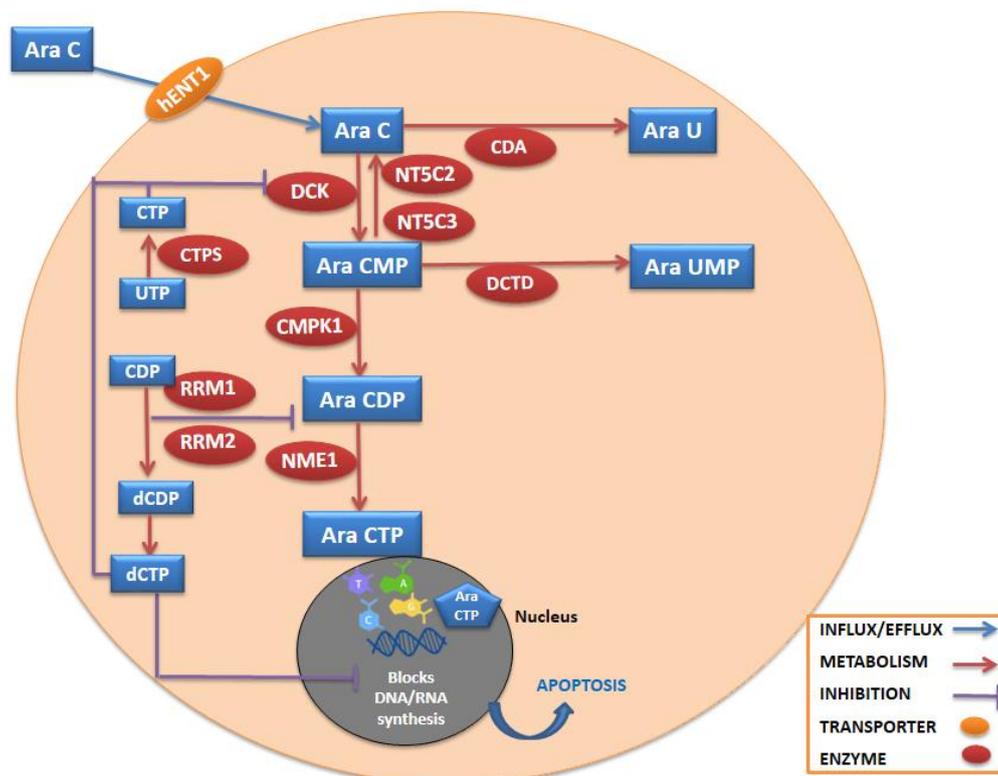


Figura 3. Genes candidatos involucrados en la vía metabólica de la citarabina

2.8.2.1 Transportadores de membrana

La absorción de citarabina en los blastos está mediada por el transportador de nucleósidos equilibrante humano (hENT1, codificado por el gen *SLC29A1*), responsable de hasta el 80% de la entrada de citarabina. Las dosis altas de citarabina (2-3 g/m² al día), empleadas en la terapia de consolidación o intensificación de LMA, producen concentraciones plasmáticas superiores a 10 µM y difusión libre a la célula. Sin embargo, a las dosis utilizadas en la terapia de inducción (200 mg/m²) la concentración intracelular depende de manera crítica de la absorción por hENT1¹³⁴. Se han observado diferentes niveles de expresión de ARNm de *SLC29A1* en pacientes con LMA, y aquellos pacientes con deficiencia de hENT1 al diagnóstico mostraban menor SG y SLE¹³⁵.

El primer informe sobre la caracterización funcional de las variantes genéticas de *SLC29A1* identificó dos polimorfismos no sinónimos y cuatro sinónimos, pero sin influencia en la captación de nucleósidos¹³⁶. Se ha sugerido que la expresión de *SLC29A1* podría verse afectada por factores de transcripción como HIF-α o PPARα^{111,137}. Todos los estudios publicados en pacientes con LMA fueron en población asiática, porque las frecuencias de los alelos menores de los polimorfismos de *SLC29A1* son más altas que en otras razas. La combinación entre alelos variantes de *SLC29A1* rs3734703 y *TYMS* rs2612100 se asoció a tasas de supervivencia más bajas¹³⁸. Los alelos variantes de otros polimorfismos de *SLC29A1* (rs9394992 y rs324148, solos o en combinación) se relacionaron con una menor expresión de ARNm, así como menor SG, SLE y una mayor tasa de recaída¹³⁹. En otro estudio no se reprodujo el efecto del SNP rs9394992 en la SG y la recaída. Sin embargo, el alelo variante de *SLC29A1* rs693955 se relacionó con un menor tiempo de recaída y menor duración de la neutropenia¹⁴⁰. También se han estudiado en LMA polimorfismos de otros transportadores de citarabina, como el transportador concentrado de nucleósidos humano 1 (hCNT1 codificado por el gen *SLC28A1*). El alelo variante del polimorfismo rs2242046 se asoció a un retraso en el tiempo de recuperación de neutrófilos¹⁴¹, mientras que el SNP rs2290272 se vio que no estaba relacionado con la SG⁶⁹.

2.8.2.2 Enzimas metabolizadoras de citarabina

La desoxicitidina quinasa (DCK) es la enzima que cataliza el primer paso de fosforilación que limita la velocidad en la activación de citarabina a citarabina monofosfato (Ara-CMP). Se detectó una variación de más de 30 veces en la expresión

de ARNm de DCK entre las células de LMA, que parece estar correlacionada con una mayor SLE, aunque no se ha observado correlación entre la expresión de ARNm de DCK y la actividad enzimática¹⁴².

Dos polimorfismos localizados en los promotores (360C>G y 201C>T, rs377182313 y rs2306744, respectivamente), más frecuentes en la población asiática, han sido ampliamente estudiados. El haplotipo de tipo salvaje de estos SNPs se asoció con un nivel más bajo de ARNm, una disminución de la actividad y menor SLE a 2 años¹⁴³. Un estudio en pacientes asiáticos no mostró influencia en la RC ni la supervivencia de rs2306744¹³⁹, mientras que un estudio en población hispana obtuvo con los alelos variante de ambos SNPs una mayor supervivencia y una tendencia a disminuir la resistencia *in vitro*¹⁴⁴. Los alelos variantes de otros polimorfismos de DCK se asociaron a una mayor SG, como rs4694362¹³⁸, así como a la aumentos en la respuesta a la quimioterapia y la RC (rs72552079 y rs11543896)¹⁴⁵. En pacientes caucásicos con LMA, varios SNPs de DCK (rs10805074, rs1684954, rs6842838, rs1385985 y rs7689093) mostraron un impacto significativo en la SLE³⁵. Sin embargo, otros SNPs de DCK estudiados en LMA no se asociaron con la eficacia o la toxicidad^{139,140,145-147}.

La citidina monofosfato quinasa (CMPK) es una enzima, codificada por *CMPK1*, que cataliza el segundo paso de fosforilación, después de DCK, convirtiendo ara-CMP en citarabina difosfato (Ara-CDP). No se han identificado los principales polimorfismos genéticos en esta enzima con aplicación clínica en LMA. Sólo un estudio en pacientes pediátricos con LMA relacionó polimorfismos de *CMPK1* con niveles de Ara-CTP, supervivencia libre de evento (EFS en inglés) y SG, pero los SNPs estudiados no fueron definidos¹⁴⁸.

La enzima nucleósido difosfato quinasa (NDPK, codificada por el gen *NME1*) cataliza la última fosforilación para generar el Ara-CTP activo. Se ha informado que la expresión del gen *NME1* y los niveles de NDPK-A son factores pronósticos en diversos tumores, incluida la LMA. Los niveles elevados de expresión de *NME1* están asociados con la resistencia a la quimioterapia (incluida la citarabina) y una reducción de la SG en pacientes con LMA¹⁴⁹. Un estudio en pacientes con LMA que analizó los SNPs de *NME1* en una cohorte de 360 pacientes, obtuvo una asociación entre el alelo menor de rs2302254 y un mayor riesgo de neurotoxicidad¹⁵⁰.

El equilibrio en la reserva de nucleótidos en las células se mantiene mediante 5'nucleotidasas, enzimas que catalizan la desfosforilación de los ribonucleósidos y desoxirribonucleósidos fosfato. De estas enzimas, la 5'nucleotidasa II citosólica

(NT5C2) se expresa en todos los tejidos humanos, y su función se opone a la DCK al desfosforilar el Ara-CMP, evitando así la producción de Ara-CTP^{70,151}. La sobreexpresión del gen *NT5C2* se ha asociado con la resistencia a los análogos de nucleósidos¹⁵², incluida la citarabina, así como con menores tasas de supervivencia en pacientes con LMA^{142,153}. Cuarenta polimorfismos fueron identificados después de secuenciar el gen *NT5C2*, y sólo tres de ellos no eran sinónimos, pero no tenían efecto en la actividad de NT5C2¹⁵⁴. Este estudio mostró diferencias en la expresión y la sensibilidad a la citarabina entre pacientes caucásicos y africanos. Un estudio posterior en pacientes con LMA mostró menor SLE con alelos menores de SNPs de *NT5C2* (rs10883841, rs11191547, rs11191549, rs11191553, rs10883836 y rs7095304), solo en el subgrupo caucásico³⁵. Sin embargo, otros estudios no obtuvieron resultados significativos en la LMA^{140,147}.

Otro miembro de la familia de las 5' nucleotidasas implicadas en el metabolismo de los análogos de citidina es la 5' nucleotidasa III citosólica (NT5C3). En un estudio de secuenciación, se identificaron 61 polimorfismos *NT5C3* (48 de los cuales eran nuevos). El alelo variante de G847C (Asp283His) y su combinación con el alelo variante de C276T (rs3750117) mostraron niveles disminuidos tanto de actividad como de proteína¹⁵⁵. La expresión de *NT5C3* se asoció a mayor SG en pacientes adultos con LMA, mientras que la expresión de *NT5C2* mostró resultados opuestos en las tasas de supervivencia. Solo unos pocos estudios analizaron los SNPs de *NT5C3* en pacientes con LMA¹⁵³ (ambos en la población asiática), sin resultados significativos para la mayoría de los polimorfismos analizados^{138,156}, aunque el alelo menor de rs3750117 se asoció a mayor expresión de NT5C3 y menor RC tras la primera inducción¹⁵⁶.

La citidina desaminasa (CDA) es la principal enzima inactivadora en la vía metabólica de la citarabina, responsable de la desaminación irreversible a Ara-U. En pacientes con LMA, la sobreexpresión de CDA se ha asociado con resistencia a citarabina y recurrencia de la enfermedad, mientras que niveles más bajos de CDA con mayor duración de remisión^{157,158}. Los estudios de variabilidad genética de CDA en afroamericanos, caucásicos y japoneses, identificó tres polimorfismos no sinónimos (79A>C rs2072671, 208G>A rs60369023, 435T>C rs1048977)^{159,160}. El polimorfismo 79A>C cambia un residuo de lisina a glutamina, lo que resulta en una menor actividad enzimática, y la presencia del alelo menor se asoció a una mayor citotoxicidad *in vitro*¹⁶¹. El polimorfismo 208G>A demostró una actividad CDA significativamente menor y una mayor sensibilidad a citarabina en pacientes japoneses¹⁶⁰, pero esto no se reprodujo en caucásicos y africanos¹⁵⁹. Además, en caucásicos y afroamericanos

se identificó un haplotipo definido por tres SNPs de *CDA* (92A>G rs602950, 451C>T rs532545 y 897C>A rs10916823), que se asoció con niveles altos de actividad promotora y enzimática¹⁶¹.

Varios estudios analizaron estos SNPs de *CDA* y otros en pacientes con LMA^{48,138-140,144-147,163-165}. El alelo variante de 79A>C rs2072671 se relacionó con una menor RC¹⁶⁵ y supervivencia (especialmente en *FLT3*-ITD positivos)^{147,165}, así como una mayor mortalidad relacionada con el tratamiento (TRM) y mucositis¹⁶³. Sin embargo, otros estudios no mostraron ningún efecto^{128,146} o mayor SG con alelo menor¹⁴⁴, aunque este estudio se realizó en una pequeña cohorte pediátrica de México, utilizando diferentes esquemas de quimioterapia. Se ha analizado el impacto de otros polimorfismos de *CDA*, como los alelos variantes 435C>T, 451C>T y 33delC, asociados a menor tasa de RC y mayor toxicidad infecciosa grado ≥ 3 ¹⁶⁴, así como el alelo menor de 451C>T se relacionó con menor supervivencia^{146,147}. En la quimioterapia con gemcitabina, la baja actividad sérica de *CDA* se ha asociado a una mayor toxicidad¹⁶⁶. Se podría esperar un efecto similar con citarabina en los pacientes con polimorfismos que reduzcan la actividad de *CDA*, aumentando el riesgo de toxicidad, aunque esto aún no se ha demostrado.

Otra enzima inactivadora es la desoxicitidilato desaminasa (dCMP desaminasa), codificada por el gen *DCTD*, implicada en la desaminación de Ara-CMP a monofosfato de arabinósido de uracilo (Ara-UMP). A diferencia del *CDA*, se desconocen los efectos de los polimorfismos genéticos *DCTD*. El cribado de las regiones de codificación y el promotor proximal de *DCTD* en grupos étnicos caucásicos y africanos identificaron un polimorfismo no sinónimo (Asn58Asp, rs35932500) relacionado con una menor actividad *in vitro*¹⁵⁹. Un estudio de este SNP en una cohorte de 360 pacientes caucásicos con LMA no obtuvo asociaciones con la supervivencia o la toxicidad¹⁴⁶. Sin embargo, otros estudios en LMA mostraron influencia de los polimorfismos de *DCTD* en la supervivencia¹⁴⁸, menor tiempo de recaída y menor duración de la neutropenia con alelo menor de rs9990999¹⁴⁰. Curiosamente, la combinación SNP-SNP entre el alelo menor de *DCTD* rs17331744 y el genotipo de tipo salvaje de *CDA* rs10916827 se asoció a menor SG¹³⁸. Ambas son enzimas clave en la degradación de citarabina.

Además, las reservas intracelulares de CTP/dCTP están reguladas por las enzimas citidina-5'-trifosfato sintetasa (gen *CTPS1*) y la enzima ribonucleótido reductasa (RR). El agotamiento de las reservas de CTP/dCTP reduce la señal de retroalimentación inhibitoria de DCK, promoviendo la fosforilación de citarabina en Ara-CTP y facilitando su incorporación en el ADN (Figura 3). El proyecto HapMap detectó

al menos 24 SNPs dentro del locus *CTPS*, y dos de ellos eran sinónimos (Gln167Gln y Val500Val). Solo un estudio analizó los polimorfismos de *CTPS* en pacientes con LMA (rs4132440 y rs12144160), sin ninguna asociación significativa¹⁴⁰.

La RR se compone de subunidades grandes M1 (gen *RRM1*) y M2 (gen *RRM2*) dimerizadas, y cataliza la reducción de ribonucleótidos a desoxirribonucleótidos para la síntesis de ADN. La RR regula los grupos intracelulares de dCTP, y por lo tanto, su actividad está directamente asociada con la sensibilidad o resistencia a citarabina. La secuenciación profunda de los genes *RRM1* y *RRM2* en los paneles de ascendencia europeos y africanos encontró 44 polimorfismos en *RRM1* y 15 en *RRM2*¹⁶⁷. Este estudio mostró, en una cohorte pediátrica de 276 pacientes con LMA, asociaciones significativas entre alelos menores de *RRM1* (rs1561876, rs1042919, rs2898950) y tasas más bajas de RC y menor supervivencia, y asociaciones similares con alelos menores de *RRM2* (rs1130609 y rs5030743) y *RRM2B* (rs1265138)¹⁶⁷. En otra cohorte de LMA, los alelos variantes de *RRM1* (rs4593998, rs7130539, rs11031136, rs2268166) y *RRM2B* (rs2853229 y rs2607662) mostraron menor SLE en el subgrupo caucásico³⁵. En cambio, el polimorfismo rs9937 de *RRM1* no se relacionó con los resultados de LMA¹⁴⁰.

2.8.3 Polimorfismos en genes reparadores del ADN

El daño al ADN inducido por la quimioterapia y los carcinógenos se corrige mediante sistemas de reparación del ADN. Polimorfismos en los genes reparadores del ADN pueden conducir a cambios en su eficiencia contribuyen a la resistencia a los medicamentos.

2.8.3.1 Reparación de escisión de nucleótidos

La vía de reparación por escisión de nucleótidos (NER) elimina una gran variedad de daños del ADN, incluidos los fotoproductos inducidos por los rayos UV, los enlaces cruzados, el daño oxidativo y los aductos voluminosos de ADN inducidos por la quimioterapia, incluido el tratamiento de LMA.

El gen de *xeroderma pigmentosum del grupo D* (*XPD* o *ERCC2*) codifica una helicasa de ADN, implicada en el inicio de la transcripción, el control del ciclo celular y la apoptosis. La eficiencia de reparación de *XPD* se ve afectada por el polimorfismo 751A>C (rs13181). Varios estudios demostraron que el alelo variante en el polimorfismo *XPD* estaba relacionado con menores tasas de RC¹⁶⁸, de

supervivencia^{169,170} y mayor resistencia a la inducción¹⁷¹, así como con un mayor riesgo de LMA [53,95] y mayor cardiotoxicidad inducida por fármacos¹⁶⁸. Sin embargo, otros estudios no reprodujeron esta influencia de *XPD* 751A>C en LMA^{44,51,172}. El polimorfismo 312G>A de *XPD* (rs1799793) reduce la capacidad de reparación del ADN, mostró en diversas cohortes que no modifica la eficacia del tratamiento^{126,168,171}, pero los pacientes que portaban el alelo variante aumentaban el riesgo de padecer toxicidad gastrointestinal y genitourinaria¹⁷¹.

Polimorfismos en otros genes de *xeroderma pigmentosum*, como *XPA* o *XPC*, han demostrado influir en los resultados clínicos en LMA. Las personas con el alelo menor del polimorfismo *XPA* del promotor A4G (rs1800975) tenían niveles más bajos de ARNm, menor SG y mayor frecuencia de recaídas y resistencia a la inducción⁴⁴. En el gen *XPC*, el alelo variante de 1385C>T (rs2228000) mostró una disminución en la SG, solo y en combinación con el alelo menor del polimorfismo *XPD* 751A>C¹⁷⁰.

El gen de *reparación por escisión de complementación cruzada 1* (*ERCC1*) se incluye en la vía NER y podría influir en la terapia de LMA. El alelo variante del polimorfismo intrónico 34C>A (rs3212961) se asoció con un menor riesgo de toxicidades metabólicas y pulmonares, una tendencia a disminuir la SG¹⁷¹ y una mayor quimiorresistencia⁴⁴.

2.8.3.2 Reparación de escisión de base

La reparación de la escisión de base (BER) consiste principalmente en la eliminación de pequeñas lesiones de bases nitrogenadas, no distorsionantes de la hélice del genoma. La proteína complementaria cruzada de reparación de rayos X (*XRCC*) es un componente de las enzimas BER que se ha analizado en varias cohortes de LMA. Específicamente, el alelo menor del polimorfismo sinónimo de *XRCC1* 1196A>G (rs25487) mostró menor RC^{43,171} y menor SG¹⁷³, y también se detectó una asociación similar con SG con un alelo menor de 580C>T (rs1799782)¹⁷³. El alelo variante del polimorfismo *XRCC3* 722C>T (rs861539) se asoció con menor riesgo de toxicidad hepática¹⁷¹. Otro estudio no obtuvo relación de este SNP con la toxicidad, aunque el genotipo heterocigoto se asoció con un aumento de SLE y SLR¹⁷⁴.

Otra enzima BER descrita en pacientes con LMA es la 8-oxoguanina glucosilasa (*OGG1*), una ADN glucosilasa. El genotipo heterocigoto de *OGG1* 977C>G (rs1052133) mostró una mayor tasa de recaída y una menor SLR en una cohorte asiática de LMA⁴³. Se analizaron otros polimorfismos de otras enzimas BER, como la

endonucleasa 1 apurínica/apirimidínica (APE1) y la metiltransferasa O-6-metilguanina-ADN (MGMT), sin ninguna asociación significativa^{43,126,171}.

2.8.3.3 Unión final no homóloga

La unión de extremos no homólogos (NHEJ) es una vía de reparación llamada "no homóloga" porque los extremos de rotura se ligan directamente sin la necesidad de una plantilla homóloga.

La ataxia telangiectasia mutada (ATM) es una proteína quinasa de serina/treonina que es reclutada y activada por roturas de la doble cadena de ADN. Fosforila varias proteínas clave que inician la activación del punto de control (checkpoint) del daño del ADN, lo que lleva a la detención del ciclo celular, la reparación del ADN o la apoptosis. El polimorfismo *ATM* 4138C>T (rs3092856) es un SNP con penetrancia relativamente baja en los europeos (0–2% en la base de datos *SNP database*). Sin embargo, en una cohorte asiática de LMA, el alelo variante de este SNP presentó una SG más baja en comparación con el genotipo de tipo salvaje¹²⁶. Se demostró que la proteína ATM con la variante 4138C> T era deficiente en la unión y activación de c-ABL, y podría interferir con la señalización pro-apoptótica en respuesta al daño de rotura de doble cadena de ADN [101]. Otros SNP de otras enzimas NHEJ (NBS1, RAD50, RAD51 y XRCC5) se estudiaron en LMA sin influencia en LMA^{43,126,174}.

2.8.3.4 Reparación de desajustes de ADN

La reparación de desajustes en el ADN es importante para corregir errores de replicación que escapan a la corrección de pruebas de ADN polimerasa. En humanos, los complejos MSH2/MSH6 y MSH2/MSH3 reconocen y se unen a desajustes de bases individuales y bucles de inserción/delección en el ADN¹⁷⁶. Un estudio en pacientes con LMA mostró una disminución de la SLE con los alelos variantes de los polimorfismos rs12515548 y rs6151816 de *MSH3*³⁵.

2.8.3.5 Regulación del checkpoint del ciclo celular

La *proteína tumoral p53 (TP53)*, un gen que juega un papel importante en la respuesta al daño del ADN y la apoptosis, y se ha implicado en la vía de antraciclina-

apoptosis. En condiciones normales, los niveles de p53 se mantienen bajos a través de la inhibición por MDM2. La p53 activada se une al ADN y activa la expresión de varios genes, incluida la codificación *WAF1/CIP1* para p21, un regulador de la fase S del ciclo celular. Varios estudios han demostrado que se produce una regulación positiva de TP53 con el tratamiento con antraciclinas¹⁷⁷. Un estudio encontró que los pacientes asiáticos con LMA con un genotipo GG de *TP53* 215C>G (rs1042522) se asociaron con una tasa más alta de LMA refractaria y menor SG a los 2 años¹²⁶. Sin embargo, dos estudios recientes mostraron diferentes efectos con este SNP. El genotipo GG mostró una tendencia a una mayor SG en una cohorte americana¹⁷⁸ y una SG significativamente mayor con el genotipo GG en población egipcia¹⁷⁹, aunque ambas cohortes eran pequeñas. También se analizó un polimorfismo de *p21*, 93C>A (rs1801270), sin ninguna influencia por sí solo, pero relacionado con la SG en combinación con *TP53* 215C>G¹⁷⁹. El alelo de variante del SNP *MDM2* (rs2279744) se asoció a una menor SG en un estudio posterior¹⁸⁰, mientras que dos estudios anteriores no observaron influencia^{126,179}.

2.8.4 Polimorfismos en genes relacionados con la respuesta a la quimioterapia

Se ha estudiado el impacto de los polimorfismos de algunos de los componentes críticos de la vía metabólica del folato, como la metileno tetrahidrofolato reductasa (MTHFR), la metionina sintasa (MTR) o la timidilato sintasa (TYMS/TS/ENOSF1), pero no se encontraron asociaciones significativas^{138,181}, excepto en combinaciones, como la combinación de alelos menores de *SLC29A1* rs3734703 y *TYMS* rs2612100 que se asoció a menor supervivencia¹³⁸.

El gen *mutado en los cánceres colorrectales (MCC)* es un gen supresor de tumores que actúa como un regulador transcripcional de la vía del factor nuclear κB (NF-κB) en las células colorrectales y que puede estar involucrado en el mecanismo de resistencia a la citarabina. Una explicación es que la citarabina aumenta la inducción del gen *MCC* causando la supresión de NF-κB y, en última instancia, una mayor sensibilidad a la citarabina¹⁸². Se realizó un estudio que analizó el genoma completo para detectar SNPs relacionados con la citotoxicidad inducida por citarabina¹⁸³. Varios polimorfismos del *MCC* se asociaron con la sensibilidad a la citarabina *in vitro*.

El gen *iroquois homeobox proteína 2 (IRX2)* codifica un regulador transcripcional. La expresión de *IRX2* en niños con LLA se correlacionó con un peor resultado¹⁸⁴. En el estudio de Gamazon *et al.* se descubrió un polimorfismo cerca del

gen *IRX2* (rs2897047) relacionado con menor SLR y EMR en el día 22¹⁸³. Además, los alelos variantes de 5 SNPs de genes desconocidos se asociaron con citotoxicidad inducida por citarabina y una mayor TRM, así como dos de ellos con menor SG (rs12036333 y rs10758713)¹⁸³.

2.8.5 Polimorfismos en genes relacionados con el pronóstico de la LMA

El gen del *tumor de Wilms 1* (*WT1*) codifica un factor de transcripción con dedos de zinc que regula la hematopoyesis normal y maligna. Inicialmente, *WT1* se identificó como un gen supresor de tumores, pero estudios posteriores mostraron un papel oncogénico asociado con él. La expresión genética de *WT1* estaba inversamente relacionada con la proliferación y la diferenciación de células madre¹⁸⁵. El polimorfismo rs16754 se encuentra en el “punto caliente” del exón 7, donde se producen la mayoría de las mutaciones de *WT1* relacionadas con la leucemia. Varias publicaciones han investigado el impacto pronóstico del SNP de *WT1* rs16754 en cohortes de LMA, obteniendo resultados no concluyentes o contradictorios. Los hallazgos de un metaanálisis realizado por nuestro grupo de investigación sugieren que los portadores del alelo variante tienen mayores SG y SLE a los 5 años, pero no se encontraron diferencias en la RC¹⁸⁶.

La enzima isocitrato deshidrogenasa 1 (codificada por *IDH1*) es una enzima del ciclo del ácido cítrico con un papel importante en la producción citoplasmática de NADPH. El principal polimorfismo *IDH1* es rs11554137 (frecuencia del 12% en LMA citogenéticamente normal), y consiste en una transversión entre GGC a GGT en el residuo de glicina 105. El genotipo GGT se correlaciona con una menor supervivencia en tres grandes cohortes de pacientes adultos con LMA¹⁸⁷⁻¹⁸⁹, pero este resultado no se reprodujo en pacientes pediátricos con LMA¹⁸⁸. En una cohorte posterior de 380 pacientes adultos de raza blanca se observó que los portadores del genotipo GGT mostraron mayor EFS, especialmente en pacientes mayores de 60 años¹⁹⁰. En otro estudio, el genotipo GGT se relacionó con una elevación del nivel plasmático de 2-hidroxiglutarato, y esta elevación se asoció con insuficiencia renal grave¹⁹¹.

El antígeno de linfocitos T citotóxicos 4 (CTLA-4) es una molécula homóloga a CD28 que después de la activación de las células T produce una señal negativa, que es responsable de la inactivación de las células T. Los polimorfismos *CTLA-4* más estudiados son +49A>G (rs231775) en el exón 1, y CT60 (rs3087243) ubicado en la región 3' no traducida del gen. Estos SNPs se relacionaron principalmente con la enfermedad de injerto contra huésped (EICH) tras TPH¹⁹². Además, en pacientes

adultos con LMA después de la primera RC, la variante AA de CT60 se asoció con una tasa de recaída más alta y menor SG y SLE¹⁹³.

El dominio que contiene la oligomerización de unión a nucleótidos 2 (NOD2 o CARD15) es una proteína implicada en el reconocimiento intracelular de patógenos que media en la activación consecutiva de NF-κB. La expresión de *NOD2* está restringida a células epiteliales intestinales, monocitos y macrófagos. Los polimorfismos sinónimos más comunes de *NOD2* son SNP 8 (Arg702Trp rs2066844), SNP 12 (Gly908Arg rs2066845) y SNP 13 (Leu1007Pro rs2066847). Varios estudios analizaron el efecto de estos SNPs en TPH alogénicos¹⁹⁴. En la inducción de LMA, la presencia de alelos variantes en cualquiera de los tres polimorfismos de *NOD2* se relacionó con una menor incidencia de enteritis y mucositis, así como con una mayor probabilidad de detección positiva de cultivos de *Streptococcus spp* en el torrente sanguíneo¹⁹⁵.

La transcriptasa inversa de la telomerasa (TERT) es la subunidad catalítica transcripcional para la actividad de la telomerasa y las mutaciones del promotor en este gen se identificaron en tumores sólidos pero no en neoplasias hematológicas. Un estudio en una cohorte caucásica de 226 pacientes adultos con LMA encontró una SG menor relacionada con el alelo menor de polimorfismo rs2853669 TERT, más pronunciada en los subgrupos FLT3-ITD o NPM1 no mutados de cariotipo normal LMA¹⁹⁶.

La TET metilcitosina dioxigenasa 2 (TET2) cataliza la conversión de metilcitosina en 5-hidroximetilcitosina y participa en la mielopoyesis. En una cohorte pediátrica de 403 pacientes con LMA, el genotipo salvaje de *TET2* rs24554206 mostró menor SG y mayor mortalidad sin recaída¹⁹⁷.

La apoptosis mediada por mitocondrias juega un papel crucial en la homeostasis de las células madre hematopoyéticas. Las proteínas principales en este proceso son la proteína de linfoma de células B 2 (*BCL2*) y la proteína X asociada a *BCL2* (*BAX*), que tienen funciones antiapoptóticas y proapoptóticas, respectivamente. El alelo variante de *BAX* 248G>A se asoció a menor RC en una cohorte india de 221 pacientes con LMA¹⁹⁸. Un estudio anterior no obtuvo asociaciones con el polimorfismo *BCL2* 938C>A, pero el genotipo salvaje de *BCL2* +21A>G (rs1801018) se relacionó con un mayor SG, EFS y SLE¹⁹⁹.

3.HIPÓTESIS

La LMA es tratada principalmente con combinaciones de citarabina y antraciclinas obteniendo tasas de RC del 60-80%, aunque cerca del 70% de estas recaen por baja eficacia de la quimioterapia para eliminar la EMR. Además, algunos pacientes mueren debido a la toxicidad severa de la quimioterapia, la resistencia inicial a los medicamentos o la recaída. Esta variabilidad en la respuesta interindividual se ha relacionado alteraciones citogenéticas y moleculares, así como por la variabilidad genética que existe entre pacientes. Nos vamos a centrar en analizar los polimorfismos que afectan a genes que participan en el transporte, metabolismo o mecanismo de acción de citarabina e idarubicina, así como de genes relacionados con el estrés oxidativo o la reparación del ADN, y de cómo condicionan de forma diferente la eficacia y seguridad de dichos tratamientos entre pacientes.

En este contexto, esta tesis desarrolla un estudio por genes candidatos que va a analizar los polimorfismos relacionados con las vías metabólicas de citarabina e idarubicina que han demostrado mayor relevancia clínica en la bibliografía. Se han analizado los SNPs seleccionados en una muestra de 225 pacientes con LMA *de novo* tratados en nuestro centro con el esquema de inducción 7+3 compuesto por citarabina e idarubicina. Nuestra hipótesis es que la variabilidad genética podría tener un impacto en los resultados terapéuticos de la LMA.

Tras validar dichas asociaciones, se pretende emplearlas en un futuro cercano como marcadores PGt en la práctica clínica, complementando la información aportada por los estudios *ex vivo* y las alteraciones citogenéticas y moleculares conocidas. Nuestro estudio pretende avanzar hacia la medicina personalizada, permitiendo seleccionar previamente el esquema de quimioterapia que mejor se adapta al perfil de polimorfismos de cada paciente.

4.OBJETIVOS

Partiendo de la hipótesis de que la variabilidad genética podría tener un impacto en los resultados terapéuticos de la LMA, los objetivos de este trabajo de tesis doctoral son:

- **Principal:** seleccionar los polimorfismos más importantes descritos en la bibliografía, genotipar a 225 pacientes tratados con LMA *de novo* en nuestro hospital y analizar si existe una relación causal entre el genotipo y los resultados obtenidos de efectividad y seguridad.
- **Traslacional:** validar las asociaciones entre polimorfismos genéticos y variables de efectividad y seguridad, para poder emplearlos en un futuro cercano como marcadores PGt en la práctica clínica, permitiendo seleccionar previamente el esquema de quimioterapia que mejor se adapta al perfil de polimorfismos de cada paciente.

5.MATERIAL Y MÉTODOS

5.1 Diseño

Estudio observacional retrospectivo de asociación entre variantes genéticas y parámetros clínicos de pacientes adultos con LMA *de novo* tratados con esquemas de quimioterapia de inducción basados en la combinación de citarabina e idarubicina en el Hospital Universitari i Politècnic la Fe (HUP La Fe).

5.2 Pacientes

Se han incluido pacientes adultos con LMA *de novo* que fueron tratados en el servicio de Hematología del HUP La Fe con esquemas terapéuticos de los ensayos clínicos del Programa Español de Tratamientos en Hematología (PETHEMA): LMA 99 (NCT00464217), LMA 2007 (NCT01041040) y LMA 2010 (NCT01296178). La terapia de inducción en pacientes con edades menores o iguales a 65 años consistió en 200 mg/m² de citarabina en los días 1-7 e idarubicina 12 mg/m² en los días 1-3 (esquema 7+3), con la misma intensidad y dosis en todos los diferentes esquemas. Los pacientes mayores de 65 años fueron tratados con citarabina 200 mg/m² los días 1-5 y idarubicina 12 mg/m² los días 1-2.

El número total de pacientes elegibles para el estudio entre septiembre de 1998 y junio de 2015 fue de 225 de los 380 pacientes mayores de 14 años diagnosticados con LMA no promielocítica *de novo* en una sola institución (HUP La Fe). Los criterios de exclusión del estudio fueron: LMA secundaria (41 pacientes), empleo de otros esquemas de quimioterapia de inducción (19 pacientes) o insuficiente muestra criopreservada disponible en el Biobanco obtenida en el momento del diagnóstico (95 pacientes).

5.3 Criterios de elegibilidad de los pacientes

De los pacientes con tratamiento de inducción basado en los esquemas PETHEMA (LMA-99, LMA-2007, LMA-2010), se excluyeron aquellos pacientes que presentaron cualquiera de los siguientes criterios:

1. LMA secundaria.
2. Leucemias promielocíticas
3. Empleo de otros esquemas de inducción.
4. Muestra criopreservada insuficiente.

5.4 Aspectos éticos

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica del Hospital Universitari i Politècnic la Fe (Proyecto de Investigación con Nº de Registro 2013/0331 e informe favorable del 10 de diciembre de 2013). El estudio se llevó a cabo de acuerdo con la declaración de Helsinki y sus posteriores actualizaciones.

Todos los pacientes incluidos en nuestra cohorte tenían más de 18 años de edad en el momento del diagnóstico inicial, con la excepción de dos pacientes de 16 y 17 años en el momento del diagnóstico. Al tratarse de un estudio observacional, la participación en el estudio no interfirió en el manejo clínico de las pacientes. Todas las pacientes incluidas dieron su Consentimiento Informado por escrito en el momento en el que se obtuvieron y criopreservaron las muestras biológicas. Tanto los datos genéticos como los datos clínicos fueron manejados de acuerdo con la normativa española para el anonimato del paciente y la protección de datos.

5.5 Resultados clínicos

5.5.1 Respuesta a la inducción

La respuesta al primer ciclo de inducción se clasificó como: remisión completa (RC, incluyendo la recuperación incompleta), remisión parcial (RP), resistencia o muerte por inducción. La eficacia del primer ciclo de inducción se evaluó comparando CR contra PR o resistencia (de acuerdo con los criterios revisados del grupo de trabajo internacional por Cheson *et al.*)²⁰⁰. Los pacientes que murieron durante la inducción se consideraron como no evaluables para la eficacia. La muerte por inducción se definió como pacientes que mueren durante la inducción contra RC, excluyendo a aquellos pacientes con PR o resistencia. Los pacientes que mostraron PR o resistencia en cualquier momento durante la inducción se consideraron PR/resistencia, incluso si murieron durante la fase de inducción.

5.5.2 Supervivencia

La supervivencia del paciente se evaluó principalmente con la supervivencia global (SG), que se definió como el tiempo desde la fecha de diagnóstico hasta la fecha de muerte debido a cualquier causa o último seguimiento. En algunos de los trabajos incluidos se analizó también la supervivencia libre de eventos (EFS) y la supervivencia libre de recaída (SLR). EFS se definió como el tiempo desde diagnóstico

hasta la muerte por cualquier causa, el fracaso del tratamiento o la recaída. SLR, se calculó a partir de la fecha de RC hasta la fecha de la recaída de la LMA, censurando las muertes ocurridas antes de la recaída.

5.5.3 Reacciones adversas

Las toxicidades provocadas por citarabina e idarubicina se agruparon como variables binarias (grado 0-1 versus grado 2-4). El grado de toxicidad asignado a cada grupo fue el grado máximo de todas las toxicidades específicas dentro de ese grupo. Las toxicidades renales y hepáticas también se evaluaron como función normal (grado 0) frente a la función alterada (grados 1-4). Siguiendo la escala de clasificación de la OMS²⁰¹, las toxicidades orgánicas evaluadas para las antraciclinas fueron las siguientes e incluyeron los siguientes signos y síntomas:

- **Toxicidad renal:** aumento de los valores de urea o creatinina.
- **Toxicidad hepática:** aumento de los valores de bilirrubina total.
- **Toxicidad cardíaca:** incluye alteraciones de la función cardíaca (isquemia, infarto, disfunción ventricular izquierda o derecha, pericarditis o cardiomiopatía) y alteraciones del ritmo cardíaco (arritmias, hipertensión, hipotensión, anomalías de conducción, palpitaciones, intervalo QTc prolongado).
- **Toxicidad pulmonar:** broncoespasmo agudo, tos, disnea, derrame pleural, insuficiencia respiratoria, hemorragia pulmonar, edema pulmonar o hipertensión pulmonar, excluyendo causas infecciosas.
- **Toxicidad gastrointestinal:** náuseas, vómitos, diarrea, estreñimiento.
- **Mucositis:** empleando la escala de Bearman.

Para los SNPs relacionados con la citarabina se analizaron las toxicidades comunes (renal, hepática, pulmonar, gastrointestinal y mucositis), excluyendo la toxicidad cardíaca propia de las antraciclinas, y se añadieron las siguientes toxicidades propias de la citarabina:

- **Toxicidad neurológica:** dolor de cabeza, alteración de la conciencia, confusión, desorientación, depresión, psicosis, ataxia, disartria, parestesia o neuropatía periférica.
- **Toxicidad ocular:** visión borrosa, conjuntivitis, hemorragia conjuntival, queratitis, ojo seco, dolor ocular, luces intermitentes.

- **Toxicidad cutánea:** eritema, exantema, prurito, erupción acneiforme, erupción maculopapular.

La **toxicidad hematológica** se midió con el tiempo de recuperación de neutropenia (TNR) y el tiempo de recuperación de trombocitopenia (TTR). Se midió la toxicidad hematológica, solo en pacientes que alcanzaron RC, con TNR y TTR desde el primer día de quimioterapia utilizando los criterios terminológicos comunes para eventos adversos (CTCAE) v4.0. En ambos casos medimos estas recuperaciones de toxicidades de grado 3, por lo tanto, valores de >1000 neutrófilos/mm³ para neutropenia, y >50.000 plaquetas/mm³ para trombocitopenia, clasificadas en menos de 27 días versus igual o más de 27 días (el valor medio de TNR y TTR).

5.6 Tratamiento de las infecciones

Por lo general, los pacientes permanecían hospitalizados durante la inducción hasta la resolución de la neutropenia. En todos los pacientes, la profilaxis antimicrobiana incluyó ciprofloxacino oral y azoles (fluconazol o voriconazol por vía oral o itraconazol por vía intravenosa), mientras que el tratamiento antimicrobiano empírico incluyó piperacilina/tazobactam seguido de un glucopéptido o incluso anfotericina B o caspofungina en el caso de fiebre neutropénica prolongada.

5.7 Recogida y registro de datos

Los pacientes diana se han seleccionado a partir de la base de datos de los protocolos PETHEMA, que tras aplicar los criterios de inclusión y la disponibilidad de muestras nos ha permitido establecer la selección definitiva.

Todas las variables clínicas requeridas para el estudio fueron extraídas de registros médicos electrónicos (Orion® Clinic, Mizar® y Farmis®) y en papel. Se revisaron todos los registros clínicos para relacionados con el tratamiento de inducción, incluyendo tanto hospitalización como los registros de consultas externas y hospital de día. Toda la información recogida fue introducida en una base de datos de Microsoft Access (Microsoft Office®) especialmente diseñada para este proyecto.

5.8 Selección de los polimorfismos

Para determinar los polimorfismos que vamos a estudiar en cada paciente se ha realizado una búsqueda y análisis exhaustivo de la bibliografía existente y de las

principales bases de datos de polimorfismos para determinar aquellos SNPs con mayor grado de evidencia en cuanto al efecto en pacientes con LMA, con esquemas de tratamiento con citarabina y antraciclinas, y de raza caucásica.

Para llevar a cabo esta búsqueda se han empleado los criterios de las revisiones sistemáticas y metaanálisis de las guías PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses)²⁰². Hemos realizado una búsqueda estructurada sin restricciones en las siguientes bases de datos: MEDLINE, Cochrane Central Register, EMBASE, LILACS, ProQuest Medical Library, and Science Citation Index Expanded (1981 al presente), sin restricción de idioma ni restricciones en el estado de publicación. Además, hemos realizado una búsqueda manual de las tablas de contenidos de las principales revistas científicas que estudian este campo: Blood, Leukemia, British journal of haematology, Journal of clinical oncology, Lancet, Lancet Oncology, Pharmacogenetics and Genomics, Pharmacogenomics and Pharmacogenomics Journal. También se han revisado los abstracts disponibles de los congresos y conferencias de las siguientes sociedades científicas: the American Society of Hematology (ASH), the European Hematology Association (EHA) y la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH). Esta búsqueda se ha completado con el estudio de las principales bases de datos de SNPs (PharmGKB, SNP Database, FDA, EMA), así como de las referencias reseñadas en los artículos ya seleccionados en la búsqueda primaria.

Los SNP seleccionados se habían asociado previamente a la eficacia o toxicidad de la terapia de inducción estándar o a efectos potencialmente funcionales sobre la proteína codificada. De este modo, se seleccionaron 33 genes implicados en las vías de citarabina y antraciclinas, de los cuales se identificaron 49 polimorfismos genéticos previamente descritos en la literatura y/o con implicaciones funcionales potenciales. Los genes y polimorfismos incluidos se describen en la **Tabla 2**.

Como resultado de la revisión sistemática de la bibliografía se han publicado 2 meta-análisis^{58,59} sobre la influencia en pacientes con LMA de los polimorfismos de *ABCB1*, otro meta-análisis sobre *WT1*¹⁸⁶ y dos revisiones sistemáticas de la PGt en LMA²⁶ y otra más centrada en las antraciclinas²⁷. En los anexos se pueden encontrar todos estos artículos.

Tabla 2. Genes y polimorfismos incluidos en el estudio

PLACA HEMATOLOGÍA (LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA)					
MEDICAMENTO	GEN	POLIMORFISMO	MEDICAMENTO	GEN	POLIMORFISMO
GENES DE PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS			OTRAS GENES RELACIONADOS CON LMA		
Antraciclina	<i>ABCB1</i>	rs1045642	Antraciclina	<i>CYBA</i>	rs4673
	<i>ABCB1</i>	rs1128503		<i>NCF4</i>	rs1883112
	<i>ABCB1</i>	rs2032582		<i>RAC2</i>	rs13058338
Antraciclina	<i>ABCC1</i>	rs4148350	Citarabina, Antraciclina	<i>NOD2</i>	rs2066844
	<i>ABCC2</i>	rs8187710	Antraciclina	<i>GSTP1</i>	rs1695
Antraciclina	<i>ABCG2</i>	rs2231142	Antraciclina	<i>CYP2B6</i>	rs12721655
	<i>ABCG2</i>	rs2231137	Antraciclina	<i>CYP2E1/DUX1</i>	rs2070673
Antraciclina	<i>SLCO1B1</i>	rs4149056		<i>CYP2E1/DUX1</i>	rs2515641
Antraciclina	<i>SLC22A16</i>	rs714368		<i>ADH1A</i>	rs6811453
	<i>SLC22A16</i>	rs12210538		<i>ADH1A</i>	rs1826909
GENES DE ENZIMAS METABÓLICAS				<i>TP53</i>	rs1042522
Citarabina	<i>DCK</i>	rs2306744	Citarabina, Antraciclina	<i>ERCC2</i>	rs1799793
	<i>DCK</i>	rs11544786		<i>ERCC2</i>	rs13181
	<i>DCK</i>	rs4694362	Citarabina, Antraciclina	<i>CTLA4</i>	rs231775
		<i>CTLA4</i>		rs3087243	
Citarabina	<i>CDA</i>	rs2072671	Citarabina, Antraciclina	No descrito	rs12036333
	<i>CDA</i>	rs3215400		No descrito	rs10758713
	<i>CDA</i>	rs532545		<i>IRX2</i>	rs2897047
	<i>CDA</i>	rs602950		No descrito	rs9883101
	<i>RRM1</i>	rs9937		No descrito	rs6550826
	<i>NME1</i>	rs2302254		<i>MCC</i>	rs7729269
Antraciclina	<i>CBR3</i>	rs1056892	Citarabina, Antraciclina	<i>WT1*</i>	rs16754
	<i>CBR3</i>	rs8133052			
	<i>NQO1</i>	rs1800566			
	<i>NQO2</i>	rs1143684			
	<i>NOS3</i>	rs1799983			
	<i>NOS3</i>	rs2070744			
	<i>MnSOD2</i>	rs4880			

Cada SNP puede estar implicado en el transporte, metabolismo o mecanismo de acción de varios fármacos. En la placa se indican los fármacos en relación con la patología.

*Añadido en una revisión posterior.

5.9 Muestras y extracción de ADN

5.9.1 Obtención de las muestras

Se recogieron muestras de aspirado de MO o SP de los pacientes. Es extraída en tubos con anticoagulante, requiriéndose un volumen 1-2 ml por muestra. Si el análisis de la sangre no era inmediato, la muestra se congelaba de inmediato a -20°C hasta la extracción del ADN. Todas las muestras se correspondían al momento del diagnóstico de la LMA.

5.9.2 Obtención de ácidos nucleicos

El ADN es extraído mediante un protocolo estándar basado en kits comerciales con mini columnas y procesos de centrifugación (*UltraClean® BloodSpin® DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, Inc, Carlsbad, CA, USA)*). Al final del proceso se obtiene el ADN que queda resuspendido en tampón TE (Tris-EDTA) hasta una concentración final de 10 ng/μl.

5.9.3 Control de calidad

Se llevó a cabo cuantificando la concentración y pureza del mismo mediante el espectrofotómetro NanoDrop® (*NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, DE, USA*). Las muestras se almacenaron congeladas a -20° C hasta el momento de su uso. El Biobanco nos facilitó parte de las muestras necesarias, con el ADN extraído en la mayoría de los casos. En estos casos nosotros nos encargamos de alicuotar las muestras a una concentración de 10 ng/μl y preparar la placa de genotipado para su análisis. El Biobanco del Hospital La Fe cuenta con la licencia requerida por el Real Decreto 1716/2011 de 18 de noviembre (Ref: PT13 / 0010/0026).

5.10 Genotipado

El estudio de los polimorfismos se ha realizado mediante genotipado por espectroscopia de masas (MALDI-TOF) utilizando el equipo Sequenom MassArray Analyzer (*SEQUENOM Inc., San Diego, CA Fannon WR, Proc Am Assoc Cancer Res 43: 53, 2002*). Partiendo de 200 ng de una muestra de ADN de cada uno de los pacientes del estudio, se está realizando su genotipado mediante esta plataforma, localizada en la Unidad Central de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia.

Para el diseño de la placa de genotipado se empleó el software propio del fabricante, Assay Design (www.mysequenom.com/tools). En el diseño de la placa de genotipado y de los primers necesarios se buscó que se incluyera el mayor número de los polimorfismos que han demostrado su interés en la bibliografía y que a su vez fueran compatibles, es decir, que sus primers no fueran complementarios. Finalmente la placa diseñada incluyó un total de 49 SNPs distribuidos en 3 plexes y ha permitido analizar un total de 40 muestras de pacientes por placa.

Para el genotipado, se siguieron las instrucciones del fabricante para todos los marcadores (Sequenom, San Diego, CA, USA). Las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) se llevaron a cabo en 5 μ L de volumen en una placa estándar de 384 pocillos de acuerdo a las especificaciones proporcionadas por Sequenom. El producto de la amplificación se lavó utilizando fosfatasa alcalina para neutralizar todo desoxinucleótido (dNTPs) que no se hubiera incorporado a la reacción. Las reacciones de los ensayos de discriminación alélica se realizaron adicionando cebadores de extensión, ADN polimerasa y una mezcla de desoxinucleótidos (dNTPs) y didesoxinucleótidos (ddNTPs) a cada pocillo. Se añadieron resinas de limpieza MassExtend a la mezcla para quelar las sales exógenas que pudieran interferir en el análisis MALDI-TOF. La mezcla de reacción se vertió en el microarray SpectroCHIP II y se sometió a espectrometría de masas MALDI-TOF.

Todas las muestras se procesaron por triplicado para evitar errores de genotipado, y se incluyeron controles negativos para descartar contaminación y algunas muestras se procesaron dos veces para verificar la reproducibilidad. Los triplicados de los 49 SNPs genotipados en cada una de las muestras se revisaron uno a uno manualmente. Al ser la espectrometría de masas una técnica *gold-standard* las discrepancias entre los triplicados son muy poco frecuentes, pero en los casos en los que ocurrieron se eligió el genotipo mayoritario y, en caso de discrepancia total entre los tres resultados, se excluyó la muestra de dicho paciente para el análisis de dicho polimorfismo.

Hemos llevado a cabo el genotipado de 230 pacientes, correspondientes a 6 placas. Con los resultados obtenidos con el genotipado hemos podido determinar cuál de las posibles variantes de cada polimorfismo está presente en la muestra original de cada paciente. Para cada polimorfismo hemos valorado la frecuencia alélica de dichos polimorfismos en la población estudiada en base al equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE) y la información de frecuencias de las bases de datos públicas, así como la tasa de genotipado, verificando que la técnica se está realizando de la forma adecuada. Previo al análisis estadístico, hemos agrupado los genotipos obtenidos en

nuestra población siguiendo los modelos dominantes (homocigoto salvaje vs heterocigoto/homocigoto variante), recesivo (homocigoto variante vs heterocigoto/homocigoto salvaje) y codominante (homocigoto salvaje vs heterocigoto vs homocigoto variante).

5.11 Análisis estadístico

El número de pacientes necesario, es difícil de establecer *a priori* debido al amplio número de polimorfismos a estudiar en cada paciente y a la diferente frecuencia de cada uno de los polimorfismos en la población general. Se calculó el tamaño muestral tomado en consideración que para los polimorfismos de mayor relevancia se requiere aproximadamente 164 pacientes para poder observar variaciones estadísticamente significativas (error alfa 0,05; potencia 0,95). Ampliamos el número de pacientes incluidos a 225 para dotar de mayor potencia estadística a nuestros resultados, especialmente para poder evaluar SNPs con menor frecuencia alélica en población caucásica, pero que pueden tener relevancia clínica.

Las variables continuas se describieron como la mediana (rango) y las variables categóricas como frecuencias absolutas o relativas. El equilibrio de HWE se evaluó mediante la prueba de χ^2 para cada polimorfismo. Además, se calcularon la frecuencia de alelos menores (MAF) y la tasa de genotipado (exitosa si se obtuvieron el 95% de todas las llamadas de genotipado posibles para ese SNP o muestra). Se excluyeron los SNPs o muestras individuales que no alcanzaron el 95% de éxito en el genotipado.

Los genotipos se estudiaron con un modelo co-dominante, que compara homocigotos de tipo salvaje frente a heterocigotos y homocigotos variantes por separado, con la excepción de los análisis de supervivencia, en los que también se emplearon modelos dominantes y recesivos. Las comparaciones entre las distribuciones de genotipos y las variables continuas y categóricas se realizaron mediante pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis o Mann Whitney en los SNPs) y la prueba χ^2 con la corrección de Yates. Las variables continuas también se clasificaron dicotómicamente para encontrar posibles asociaciones con los genotipos. Se empleó el método de Kaplan-Meier para las estimaciones de SG, EFS y SLR utilizando las pruebas de log-rank y los modelos de regresión de riesgos proporcionales de Cox para detectar asociaciones entre los genotipos y las tasas de supervivencia.

Las asociaciones entre variables se evaluaron mediante regresión lineal y logística ajustando por edad, sexo, riesgo citogenético, escala Eastern Cooperative

Oncology Group (ECOG), recuento de leucocito, de plaquetas y nivel de hemoglobina al diagnóstico. Además, el nivel de creatinina sérica, bilirrubina total, albúmina y lactato deshidrogenasa (LDH) en el momento del diagnóstico se evaluaron utilizando como referencia los valores por encima de la normalidad establecidos por el laboratorio para establecer las categorías dicotómicas²⁰³. La mutación *FLT3*-ITD también se incluyó en la regresión logística de las variables de eficacia. El método multivariable incluyó los tres polimorfismos simultáneamente en un solo análisis (análisis codominante). Los resultados para estos modelos se representan con el *odds ratios* (OR) y sus intervalos de confianza del 95% (IC95%). Para todos los análisis solo los valores de $p \leq 0,05$ se consideraron estadísticamente significativos. Los datos no disponibles fueron sustituidos por los valores medios de los pacientes en los que había datos disponibles. Los cálculos se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS® (IBM SPSS Statistics versión 19, NY, EE. UU.) y R® (R Development Core Team versión 3).

6.RESULTADOS

6.1 Genotipado

Todas las muestras (n=225) se genotiparon con éxito y todos los SNPs alcanzaron una tasa de genotipado de al menos el 95,0% (tasa promedio de genotipado 99,6%, rango: 96,9–100,0%; **Tabla 3**). Las distribuciones de genotipos estaban en HWE ($p > 0,05$; **Tabla 3**), excepto *SLCO1B1* rs4149056, *NOS3* rs2070744, *ADH1A* rs1826909, *CDA* rs2072671 y rs532545, *MCC* rs7729269, *ERCC2* rs1799793. También observamos que las frecuencias alélicas de nuestros pacientes fueron todas similares a las frecuencias de caucásicos de la base de datos NCBI SNP (dbSNP), así como las tasas de MAF (**Tabla 3**), excepto para *SLCO1B1* rs4149056, *CDA* rs2072671 y rs532545.

El SNP *SLCO1B1* rs4149056 muestra en nuestra cohorte la misma distribución de genotipos que se informó previamente para otras cohortes de pacientes no relacionados en nuestra área geográfica (MAF 0,21) que es mayor en comparación con los datos generales europeos (dbSNP y 1000 Genomes Project, Phase 3). Respecto a las frecuencias alélicas de *CDA* rs2072671 y rs532545 en nuestra cohorte (AA: 0,15; AC: 0,72; CC: 0,13; y GG: 0,36; GA: 0,62; AA: 0,02) fueron diferentes a las de la población CEU del mapa internacional Hapmap Proyecto (AA: 0,44; AC: 0,45; CC: 0,11; y GG: 0,48; GA: 0,43; AA: 0,09). La mayor proporción de portadores de genotipos heterocigotos fue analizada nuevamente por un biólogo con experiencia en el uso de la técnica Mass Array Sequenom®, y los resultados fueron confirmados. Además, los tres SNPs de *CDA* (79A>C rs2072671, 451G>A rs532545 y 92T>C rs602950) estaban en desequilibrio de ligamiento entre sí, reproduciendo los hallazgos anteriores¹⁴⁶ ($p < 0,0001$ para cada par posible), que se refleja en la distribución de combinaciones de variantes alélicas (D' 0,92, 0,84 y 0,99).

Tabla 3. Resultados del genotipado de 49 SNPs analizados en el estudio.

Gen	SNP	Variantes	Alelo variante	MAF	HWE	TG (%)
ABCB1	rs1045642	C>T	T	0,51	1,00	96,89
	rs1128503	C>T	T	0,40	0,68	100
	rs2032582	G>T/A	T/A	0,41	0,33	98,22
ABCC1	rs4148350	G>T	T	0,04	1,00	100
ABCC2	rs8187710	G>A	A	0,08	0,65	100
ABCG2	rs2231142	C>A	A	0,04	1,00	100
	rs2231137	G>A	A	0,04	1,00	99,56
SLCO1B1	rs4149056	T>C	C	0,21	<0,001*	99,56
SLC22A16	rs12210538	A>G	G	0,27	0,73	100
	rs714368	A>G	G	0,24	0,46	99,56
CBR3	rs1056892	G>A	A	0,30	0,08	100
	rs8133052	G>A	A	0,52	0,28	99,11
NQO1	rs1800566	C>T	T	0,24	0,58	100
NQO2	rs1143684	T>C	C	0,21	0,55	99,56
NOS3	rs1799983	G>T	T	0,39	1,00	100
	rs2070744	C>T	T	0,49	<0,001*	99,11
MnSOD	rs4880	T>C	C	0,50	0,59	99,56
CYBA	rs4673	C>T	T	0,38	0,48	99,56
NCF4	rs1883112	G>A	A	0,41	0,10	100
RAC2	rs13058338	T>A	A	0,23	0,85	100
NOD2	rs2066844	C>T	T	0,04	0,30	100
GSTP1	rs1695	A>G	G	0,32	0,54	100
CYP2B6	rs12721655	A>G	G	0,00	1	97,78
CYP2E1/DUX1	rs2070673	T>A	A	0,19	0,83	99,11
CYP2E1/DUX1	rs2515641	C>T	T	0,16	0,45	100
ADH1A	rs6811453	G>A	A	0,44	0,079	100
ADH1A	rs1826909	C>T	T	0,32	0,033	100
DCK	rs2306744	G>A	A	0,04	1	99,11
	rs11544786	C>T	T	0,09	1	99,56
	rs4694362	T>C	C	0,35	0,77	99,56
CDA	rs2072671	A>C	C	0,49	<0,0001*	99,56
	rs3215400	DEL>C	C	0,41	0,68	100
	rs532545	G>A	A	0,33	<0,0001*	100
	rs602950	T>C	C	0,40	1	99,56
NT5C2	rs11598702	T>C	C	0,30	0,87	99,56
RRM1	rs9937	A>G	G	0,52	0,14	99,56
NME1	rs2302254	C>T	T	0,21	0,84	100
No descrito	rs12036333	G>A	A	0,24	0,47	100
No descrito	rs10758713	G>A	A	0,13	0,25	100
No descrito	rs9883101	A>C	C	0,34	0,23	99,56
No descrito	rs6550826	G>A	A	0,32	0,29	99,56
IRX2	rs2897047	G>A	A	0,29	0,63	100
MCC	rs7729269	T>C	C	0,23	0,023	99,56
TP53	rs1042522	G>C	C	0,26	0,86	100
ERCC2	rs1799793	G>A	A	0,36	0,0024	98,67
ERCC2	rs13181	T>G	G	0,33	0,30	100
CTLA4	rs231775	A>G	G	0,29	1	99,56
CTLA4	rs3087243	A>G	G	0,47	0,23	99,56
WT1*	rs16754	A>G	G	0,11	1	100

Abreviaturas: MAF, Minor allele frequency (frecuencia del alelo menor); p HW: p resultado de la prueba de Hardy-Weinberg (χ^2); TG, Tasa de genotipado; SNP, single nucleotide polymorphism.

6.2 Pacientes incluidos

Las características basales de los pacientes, así como las tasas de respuesta y la frecuencia de toxicidades relacionadas con antraciclinas o citarabina se muestran en la **Tabla 4**. Todos los pacientes incluidos fueron de etnia caucásica. La duración media de la estancia hospitalaria de los pacientes en la primera inducción fue de 36,87 días (IC 95%: 34,58-39,15 días).

No se observaron diferencias significativas entre las características basales y los diferentes genotipos de polimorfismos analizados en la gran mayoría de casos, con algunas excepciones puntuales: la edad (mayor con el genotipo TT de *NT5C2* 175+1178T>C rs11598702), el género (más frecuente en hombres con el alelo variante de *ABCB1* 2677G>T/A), el recuento de leucocitos (menor con el genotipo TT de *NOS3* rs2070744, y mayor con el genotipo CA de *ABCG2* rs2231142), el recuento de plaquetas (menor para los genotipos GT de *NOS3* rs1799983 y CT de *NOS3* rs2070744, y mayor con el genotipo CT de *NME1* 835C> T rs2302254), el nivel de hemoglobina (significativamente menor para los genotipos CT de *ABCB1* 1236C>T rs1128503, GT de *ABCB1* 2677G>T/A rs2032582, CA de *ABCG2* rs2231142 y TT de *NT5C2* 175+1178T>C rs11598702), el nivel de albúmina (mayor con el genotipo GA de *NCF4* -368G>A rs1883112), el nivel de LDH (menor con el alelo menor de *NOS3* rs2070744), la mutación FLT3-ITD (mayor frecuencia con el genotipo TT de *CYBA* 242C>T rs4673).

Tabla 4. Características basales de los pacientes y resultados de eficacia y toxicidad de la cohorte completa de 225 pacientes

Variable	N (%)	Mediana (rango)
Edad (años)	225 (100,0)	52,5 (16 - 78)
<65 años	194 (86,2)	
≥65 años	31 (13,8)	
Sexo, n (%) varón	127 (56,4)	
Caucásico, n (%)	225 (100,0)	
Riesgo citogenético, n (%)	225 (100,0)	
<i>Favorable</i>	29 (12,9)	
<i>Intermedio</i>	27 (12,0)	
<i>Adverso</i>	46 (20,4)	
<i>Cariotipo normal</i>	97 (43,1)	
<i>No clasificado</i>	26 (11,7)	
FAB	225 (100,0)	
<i>M0</i>	13 (5,8)	
<i>M1</i>	55 (24,4)	
<i>M2</i>	51 (22,7)	
<i>M4</i>	44 (19,6)	
<i>M5</i>	29 (12,9)	
<i>M6</i>	12 (5,3)	
<i>M7</i>	2 (0,9)	
<i>Unclassified</i>	19 (8,5)	
WBC (x 10⁹/L)	225 (100,0)	14,8 (0,5 - 374)

Resultados

≤50	175 (77,8)	
>50	50 (22,2)	
Recuento de plaquetas (x 10⁹/L)	225 (100,0)	55,0 (5 - 508)
≤40	71 (31,6)	
>40	154 (68,4)	
Nivel hemoglobina (g/dL)	225 (100,0)	8,8 (5 - 14)
≤10	178 (79,1)	
>10	47 (20,9)	
Blastos periféricos (%)	216 (96,0)	60,6 (0,1 - 100)
≤30	71 (32,9)	
>30	145 (67,1)	
Blastos en médula ósea (%)	214 (95,1)	70,0 (2 - 100)
≤70	109 (50,9)	
>70	105 (49,1)	
Nivel creatinina (mg/dL)	225 (100,0)	0,82 (0,1 – 3,9)
≤1,4	214 (95,1)	
>1,4	11 (4,9)	
Nivel total bilirubina (mg/dL)	225 (100,0)	0,60 (0,2 – 3,8)
≤1,1	202 (89,8)	
>1,1	23 (10,2)	
Nivel albumina (g/dL)	225 (100,0)	3,6 (1,6 – 4,9)
≤3,5	102 (45,3)	
>3,5	123 (54,7)	
Nivel LDH (IU/L)	225 (100,0)	725,0 (47 – 9308)
≤600	93 (41,3)	
>600	132 (58,7)	
ECOG performance status, n (%)	225 (100,0)	
0	85 (37,8)	
1	91 (40,4)	
2	36 (16,0)	
3	10 (4,4)	
4	3 (1,3)	
FLT3-ITD, n (%)	225 (100,0)	
Positivo	47 (20,9)	
Negativo	159 (70,7)	
Desconocido	19 (8,4)	
NPM1, n (%)	225 (100,0)	
Mutated	72 (32,0)	
Wild-type	125 (55,6)	
Desconocido	28 (12,4)	
Response, n (%)	225 (100,0)	
Remisión completa	132 (58,7)	
Remisión parcial	24 (10,7)	
Resistencia	36 (16,0)	
Muerte inducción	33 (14,7)	
Esquema quimioterapia, n (%)	225 (100,0)	
Citarabina + idarrubicina (7+3)	200 (88,9)	
Citarabina + idarrubicina (5+2)	25 (11,1)	
Toxicidad renal, n (%)	225 (100,0)	
Grado 0	137 (60,9)	
Grado 1	59 (26,2)	
Grado 2	18 (8,0)	
Grado 3	7 (3,1)	
Grado 4	4 (1,8)	
Toxicidad hepática, n (%)	225 (100,0)	
Grado 0	86 (38,2)	
Grado 1	93 (41,3)	
Grado 2	28 (12,4)	
Grado 3	12 (5,3)	
Grado 4	6 (2,7)	

Toxicidad cardíaca, n (%)	225 (100,0)
<i>Grado 0</i>	150 (66,7)
<i>Grado 1</i>	30 (13,3)
<i>Grado 2</i>	20 (8,9)
<i>Grado 3</i>	11 (4,9)
<i>Grado 4</i>	14 (6,2)
Toxicidad pulmonar, n (%)	225 (100,0)
<i>Grado 0</i>	165 (73,3)
<i>Grado 1</i>	21 (9,3)
<i>Grado 2</i>	13 (5,8)
<i>Grado 3</i>	16 (7,1)
<i>Grado 4</i>	10 (4,4)
Toxicidad gastrointestinal, n (%)	225 (100,0)
<i>Grado 0</i>	49 (21,8)
<i>Grado 1</i>	95 (42,2)
<i>Grado 2</i>	56 (24,9)
<i>Grado 3</i>	22 (9,8)
<i>Grado 4</i>	3 (1,3)
Mucositis, n (%)	225 (100,0)
<i>Grado 0</i>	136 (60,4)
<i>Grado 1</i>	71 (31,6)
<i>Grado 2</i>	17 (7,6)
<i>Grado 3</i>	1 (0,4)
<i>Grado 4</i>	0 (0)
Toxicidad neurológica, n (%)	225 (100,0)
<i>Grado 0</i>	164 (72,9)
<i>Grado 1</i>	40 (17,8)
<i>Grado 2</i>	15 (6,7)
<i>Grado 3</i>	3 (1,3)
<i>Grado 4</i>	3 (1,3)
Toxicidad ocular, n (%)	225 (100,0)
<i>Grado 0</i>	205 (91,1)
<i>Grado 1</i>	16 (7,1)
<i>Grado 2</i>	4 (1,8)
<i>Grado 3</i>	0 (0,0)
<i>Grado 4</i>	0 (0,0)
Toxicidad cutánea, n (%)	225 (100,0)
<i>Grado 0</i>	67 (29,8)
<i>Grado 1</i>	82 (36,4)
<i>Grado 2</i>	70 (31,1)
<i>Grado 3</i>	5 (2,2)
<i>Grado 4</i>	1 (0,4)
Tiempo recuperación neutropenia (días) (Grado 3; >1000 neutrófilos)	132 (58,7)
<i>Media (DE)</i>	30,7 (10,1)
<i>Mediana (rango)</i>	27 (17 - 68)
Tiempo recuperación trombocitopenia (días) (Grado 3; >50.000 plaquetas)	132 (58,7)
<i>Media (DE)</i>	29,9 (8,9)
<i>Mediana (rango intercuartílico)</i>	27 (21 - 86)

Abreviaturas: DE, desviación estándar; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; FAB, French–American–British classification; FLT3-ITD, Internal tandem duplications of Fms-Related Tyrosine Kinase 3; LDH, Lactato deshidrogenasa; NPM1, Nucleophosmin; UI, unidades internacionales; WBC, recuento de leucocitos

6.3 Polimorfismos que afectan a la vía metabólica de las antraciclinas

6.3.1 Polimorfismos que afectan a transportadores de antraciclinas

La entrada de las antraciclinas al interior celular puede verse condicionada por las bombas de eflujo de la familia ABC. Se evaluó la influencia de 7 SNPs de genes ABC (*ABCB1*: rs1128503, rs1045642, rs2032582, y su haplotipo; *ABCC1*: rs4148350; *ABCC2*: rs8187710; *ABCG2*: rs2231142, rs2231137) en 225 pacientes adultos con LMA *de novo*.

Los alelos variantes de *ABCB1* reducen expresión de la glicoproteína P, reduciendo en consecuencia la expulsión de las antraciclinas, lo que mejora el éxito de la terapia de inducción y aumenta potencialmente la toxicidad. Tras realizar una regresión logística multivariable no se detectaron diferencias significativas en la RC, a diferencia de lo observado en otros estudios previos, aunque la muerte en inducción sí que se asoció con el haplotipo triple variante de *ABCB1* ($p=0,020$) (**Tabla 5**).

Tabla 5. Asociaciones significativas entre SNPs en genes ABC y variables de eficacia.

Variable	Gen/SNP	Genotipos	Muerte inducción n (%)	RC n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Muerte inducción	Haplotipo <i>ABCB1</i>	Otros genotipos TT/TT/TT	25 (17,2) 8 (40,0)	120 (82,8) 12 (60,0)	1 0,2 (0,05-0,8)	0,020	Edad: <65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L	17,1 (5,1-57,6); <0,001 0,1 (0,04-0,4); <0,001

Abreviaturas: *ABCB1*, ATP-binding cassette, subfamily B, member 1; IC, intervalo de confianza; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; RC, remisión completa; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos.

El haplotipo triple variante de *ABCB1* se relacionó con una mayor nefrotoxicidad ($p=0,016$) (**Tabla 6**), así como este haplotipo y el alelo variante de *ABCB1* rs1128503 y rs2032582 con mayor hepatotoxicidad ($p=0,001$; $p=0,049$; $p<0,001$) (**Tabla 6**). En ambos casos estas toxicidades se justifican por una menor expresión de *ABCB1*, reduciendo el aclaramiento de antraciclinas y aumentando su acumulación tisular. Además, el alelo variante de *ABCC1* rs4148350 estaba relacionado con mayor hepatotoxicidad grave ($p=0,044$), mientras que el alelo variante de *ABCG2* rs2231142 se asoció a mayor toxicidad cardíaca ($p=0,004$) (**Tabla 6**) y pulmonar ($p=0,038$) (**Tabla 6**), probablemente causado por la disminución de la expresión tisular de las bombas, lo que favorece su acumulación.

Tabla 6. Asociaciones significativas entre SNPs en genes ABC y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0-1 vs 2-4).

Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0-1 n (%)	Grado 2-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Renal	Haplotipo <i>ABCB1</i>	Otros genotipos TT/TT/TT	175 (89,3) 21 (72,4)	21 (10,7) 8 (27,6)	1 3,6 (1,3-10,4)	0,016	Edad: <65 años	0,2 (0,09-0,6); 0,004
Hepática	<i>ABCB1</i> rs1128503	CC CT TT	73 (86,9) 85 (81,7) 21 (56,8)	11 (13,1) 19 (18,3) 16 (43,2)	1 ND 6,9 (2,2-21,2)	NS 0,001	Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L RCit: Favorable RCit: Intermedi0 Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	0,4 (0,2-0,9); 0,033 2,8 (1,1-6,7); 0,025 5,6 (1,2-26,2); 0,29 6,1 (1,2-31,9); 0,033 4,8 (1,6-14,8); 0,006 4,0 (1,5-10,8); 0,006
Hepática	<i>ABCB1</i> rs2032582	CC CT TT	66 (82,5) 85 (85,0) 26 (63,4)	14 (17,5) 15 (15,0) 15 (36,6)	1 ND 2,9 (1,01-8,1)	NS 0,049	WBC: >50 x 10 ⁹ /L Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	3,3 (1,4-8,0); 0,007 6,0 (1,9-18,7); 0,002 3,3 (1,3-8,7); 0,013
Hepática	Haplotipo <i>ABCB1</i>	Otros genotipos TT/TT/TT	163 (83,2) 16 (55,2)	33 (16,8) 13 (44,8)	1 6,0 (2,1-16,3)	<0,001	Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	0,4 (0,2-0,9); 0,028 2,9 (1,2-6,7); 0,016 4,7 (1,6-13,8); 0,005 3,7 (1,4-9,5); 0,008
Hepática grave (grado 3-4)	<i>ABCC1</i> rs4148350	GG GT TT	Grade 0-2 192 (92,8) 15 (83,3) 0 (0)	Grade 3-4 15 (7,2) 3 (16,7) 0 (0)	1 5,3 (1,05-26,9) ND	0,044 ND	Bilirrubina: >1,1 mg/dL Albumina: >3,5 g/dL	6,8 (1,8-25,5); 0,005 0,3 (0,1-0,9); 0,025
Cardíaca	<i>ABCG2</i> rs2231142	CC CA AA	171 (83,0) 9 (47,4) 0 (0)	35 (17,0) 10 (52,6) 0 (0)	1 5,3 (1,7-16,5) ND	0,004 ND	Edad: <65 años Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L	0,3 (0,1-0,7); 0,005 0,4 (0,2-0,98); 0,044 2,5 (1,05-5,8); 0,038
Pulmonar	<i>ABCG2</i> rs2231142	CC CA AA	174 (84,5) 12 (63,2) 0 (0)	32 (15,5) 7 (36,8) 0 (0)	1 3,2 (1,1-9,6) ND	0,038 ND	Edad: <65 años	0,3 (0,1-0,7); 0,009

Abreviaturas: *ABCB1*, ATP-binding cassette, subfamily B, member 1; *ABCC1*, ATP-binding cassette, subfamily C, member 1; *ABCG2*, ATP-binding cassette, subfamily G, member 2; IC, intervalo de confianza; IU, International Unit; LDH, Lactato deshidrogenasa; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; RCit: riesgo citogenético; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos.

Respecto a la toxicidad hematológica, TNR y TTR se categorizaron en menos de 30 días frente a ≥ 30 días (30 días es aproximadamente el valor medio de TNR y TTR, **Tabla 4**). Se observó un retraso en la recuperación de la neutropenia con la variante *ABCB1* rs2032582 ($p=0,047$) (**Tabla 7**), de manera similar a lo ya observado en cohortes de cáncer de mama por la acumulación de idarubicina en los neutrófilos.

Tabla 7. Asociaciones significativas entre SNPs en genes ABC y la toxicidad hematológica.

Variable	Gen/SNP	Genotipos	<30 días n (%)	≥ 30 días n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Tiempo de recuperación neutropenia	<i>ABCB1</i> rs2032582	GG/GT TT	73 (67,6) 11 (50,0)	35 (32,4) 11 (50,0)	1 3,0 (1,1-10,1)	0,047	Ninguna	-

Abreviaturas: *ABCB1*, ATP-binding cassette, subfamily B, member 1; IC, intervalo de confianza; OR, odds ratio; RC, remisión completa; SNP, single nucleotide polymorphism

Además, se compararon las funciones renales y hepáticas normales (grado 0) y alteradas (grados 1-4). En la función renal se reprodujo la asociación previa con el haplotipo de variante triple *ABCB1*, y se detectaron nuevas asociaciones con funciones renales alteradas con los alelos variante de los tres polimorfismos *ABCB1*

(rs1045642, rs1128503 y rs2032582) (**Tabla 8**). Respecto a la función hepática, se observó función hepática alterada con *ABCB1* rs1128503 (**Tabla 8**).

Tabla 8. Asociaciones significativas entre SNPs en genes *ABC* y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0 vs 1-4).

Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0 n (%)	Grado 1-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Renal	<i>ABCB1</i> rs1045642	CC	37 (71,2)	15 (28,8)	1	NS 0,008	Edad: <65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L	0,2 (0,1-0,5); 0,001 3,6 (1,6-8,3); 0,002
		CT	71 (64,5)	39 (35,5)	ND			
		TT	25 (44,6)	31 (55,4)	3,7 (1,4-9,6)			
Renal	<i>ABCB1</i> rs1128503	CC	62 (73,8)	22 (26,2)	1	0,020 0,006	Edad: <65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L LDH: >600 IU/L	0,2 (0,1-0,6); 0,001 3,1 (1,5-6,7); 0,003 2,0 (1,01-3,9); 0,047
		CT	58 (55,8)	46 (44,2)	2,4 (1,1-5,0)			
		TT	17 (45,9)	20 (54,1)	3,8 (1,5-9,7)			
Renal	<i>ABCB1</i> rs2032582	GG	58 (72,5)	22 (27,5)	1	0,028 0,001	Edad: <65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L	0,2 (0,1-0,5); 0,001 3,6 (1,6-8,2); 0,002
		GT	57 (57,0)	43 (43,0)	2,4 (1,1-5,1)			
		TT	18 (43,9)	23 (56,1)	5,1 (2,0-13,0)			
Renal	Haplotipo <i>ABCB1</i>	Otros genotipos	126 (64,3)	70 (35,7)	1	0,006	Edad: <65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L LDH: >600 IU/L	0,2 (0,1-0,6); 0,003 2,9 (1,3-6,2); 0,008 2,1 (1,1-4,3); 0,029
		TT/TT/TT	11 (37,9)	18 (62,1)	3,8 (1,5-9,7)			
Hepática	<i>ABCB1</i> rs1128503	CC	43 (51,2)	41 (48,8)	1	0,008 0,003	WBC: >50 x 10 ⁹ /L Bilirrubina: >1,1 mg/dL	2,8 (1,1-6,7); 0,025 10,5 (1,3-86,2); 0,028
		CT	35 (33,7)	69 (66,3)	2,5 (1,3-4,9)			
		TT	8 (21,6)	29 (78,4)	4,9 (1,7-14,1)			

Abreviaturas: *ABCB1*, *ATP-binding cassette, subfamily B, member 1*; IC, intervalo de confianza; IU, International Unit; LDH, Lactato deshidrogenasa; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos

La disposición de las antraciclinas en los blastos puede verse afectada por varios transportadores, incluidos los transportadores de entrada (*SLC22A16* y *SLCO1B1*) y las bombas de eflujo de la familia *ABC*. Se evaluó la influencia de 3 SNPs de genes transportadores de entrada de antraciclinas (*SLCO1B1*: rs4149056; *SLC22A16*: rs12210538, rs714368) en 225 pacientes adultos con LMA *de novo*.

Tras la regresión logística multivariable, no hubo diferencias estadísticamente significativas en las tasas de RC durante la terapia de inducción de LMA con los SNPs de los transportadores de entrada. Sin embargo, el genotipo salvaje TT de *SLCO1B1* se asoció a mayor muerte por inducción frente a la tasa de RC, probablemente relacionado con una mayor absorción tisular de idarubicina, aumentando la toxicidad potencial (**Tabla 9**). No se detectaron asociaciones significativas entre los SNPs de *SLCO1B1* y *SLC22A16* y las toxicidades orgánicas relacionadas con las antraciclinas, excepto el genotipo variante GG de *SLC22A16* rs12210538 que se asoció a mayor toxicidad renal grados 1-4 frente al grado 0 (**Tabla 9**), también asociada al mayor flujo de entrada de antraciclinas.

Tabla 9 Asociaciones significativas entre SNPs de los genes *SLC* y las variables de eficacia y toxicidades asociadas a antraciclinas.

Variable	Gen/SNP	Genotipos	Muerte inducción n (%)	RC n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Muerte inducción	<i>SLCO1B1</i> rs4149056	TT TC CC	29 (25,0) 2 (6,1) 2 (13,3)	87 (75,0) 31 (93,9) 13 (86,7)	1 5,5 (1,01-30,5) ND	0,049 NS	Edad: <65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L	23,3 (6,5-83,4); <0,001 0,2 (0,06-0,5); 0,002
Variable	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0 n (%)	Grado 1-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Renal	<i>SLC22A16</i> rs12210538	AA AG GG	75 (61,5) 56 (65,1) 6 (35,3)	47 (38,5) 30 (34,9) 11 (64,7)	1 ND 3,5 (1,1-10,8)	NS 0,034	Edad: <65 años Sexo: hombre WBC: >50x10 ⁹ /L LDH: >600 IU/L	0,2 (0,1-0,6); 0,001 0,5 (0,3-0,98); 0,042 2,8 (1,3-6,1); 0,008 2,1 (1,1-4,2); 0,031

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; LDH, Lactato deshidrogenasa; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; RC, remisión completa; *SLC22A16*, *Solute Carrier Organic cation family 22, member 16*; *SLCO1B1*, *Solute Carrier Organic Anion Transporter family, member 1B1*; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos.

También hemos analizado el impacto de las combinaciones de polimorfismos en los transportadores de influjo (*SLC22A16*, *SLCO1B1*) y las bombas de eflujo (*ABCB1*), que hasta la fecha permanecía desconocido. Se han estudiado las combinaciones de genotipos salvajes de *SLCO1B1* (rs4149056) o *SLC22A16* (rs12210538) con el triple haplotipo variante de *ABCB1* (rs1128503, rs1045642, rs2032582) en 225 pacientes adultos con LMA *de novo* tratados con citarabina e idarubicina en inducción.

No se detectaron diferencias respecto a la RC ni en la toxicidad hematológica. Sin embargo, la combinación entre el genotipo salvaje TT de *SLCO1B1* con el triple haplotipo variante TT/TT/TT de *ABCB1* presentó mayor muerte en la inducción (OR: 0,2; IC95%: 0,04-0,8; P=0,009; **Tabla 10**).

Tabla 10. Asociaciones significativas entre las combinaciones de SNPs de genes transportadores y las variables de eficacia.

Variable	Gen/SNP	Genotipos	RC n (%)	RP/RESIS n (%)	OR (IC95%)	P-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Muerte inducción	<i>ABCB1</i> haplotipo <i>SLCO1B1</i> rs4149056	Otros genotipos TT/TT/TT + TT	25 (17,0) 8 (44,4)	122 (83,0) 10 (55,6)	1 0,2 (0,04-0,6)	0,009	Edad: <65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L	20,2 (5,8-69,8); <0,001 0,1 (0,04-0,4); <0,001

Dicha combinación también se relacionó con mayor toxicidad renal (OR: 3,9; IC95%: 1,3-12,2; P=0,017; **Tabla 11**) y hepática (OR: 8,2; IC95%: 2,7-25,4; P<0,001; **Tabla 11**). La combinación del genotipo salvaje AA de *SLC22A16* con el triple haplotipo variante TT/TT/TT de *ABCB1* se asoció con mayor toxicidad renal (OR: 4,1; IC95%: 1,1-15,2; P=0,036; **Tabla 11**), hepática (OR: 5,0; IC95%: 1,4-18,2; P=0,015; **Tabla 11**) y mucositis (OR: 5,5; IC95%: 1,3-23,5; P=0,023; **Tabla 11**). Estas combinaciones de SNPs aseguran la entrada de idarubicina en las células e inhiben su expulsión por *ABCB1*, aumentando potencialmente la toxicidad tisular.

Tabla 11. Asociaciones significativas entre las combinaciones de SNPs de genes transportadores y las variables de toxicidad

Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0-1 n (%)	Grado 2-4 n (%)	OR (IC95%)	P- valor	Covariables significativas	OR (IC95I); p-valor
Renal	<i>ABCB1</i> haplotipo <i>SLCO1B1</i> rs4149056	Otros genotipos TT/TT/TT + TT	178 (89,0) 18 (72,0)	22 (11,0) 7 (28,0)	1 3,9 (1,3-12,2)	0,017	Edad: <65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L	0,4 (0,2-0,9); 0,027 3,0 (1,3-6,9); 0,011 4,9 (1,5-15,6); 0,008 3,4 (1,3-8,7); 0,012
Renal	<i>ABCB1</i> haplotipo <i>SLC22A16</i> rs12210538	Otros genotipos TT/TT/TT + AA	185 (88,5) 11 (68,8)	24 (11,5) 5 (31,3)	1 4,1 (1,1-15,2)	0,036	Edad: <65 años	-
Hepática	<i>ABCB1</i> haplotipo <i>SLCO1B1</i> rs4149056	Otros genotipos TT/TT/TT + TT	165 (82,5) 14 (56,0)	35 (17,5) 11 (44,0)	1 8,2 (2,7-25,4)	<0,001	Sexo: hombre WBC: >50 x 10 ⁹ /L RC: Favorable Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	3,0 (1,1-8,4); 0,035
Hepática	<i>ABCB1</i> haplotipo <i>SLC22A16</i> rs12210538	Otros genotipos TT/TT/TT + AA	170 (81,3) 9 (56,3)	39 (18,7) 7 (43,8)	1 5,0 (1,4-18,2)	0,015	Gender: men WBC: >50 x 10 ⁹ /L Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	0,4 (0,2-0,9); 0,020 2,8 (1,2-6,4); 0,015 4,3 (1,5-12,4); 0,007 3,6 (1,4-9,1); 0,008
Mucositis	<i>ABCB1</i> haplotipo <i>SLC22A16</i> rs12210538	Otros genotipos TT/TT/TT + AA	194 (92,8) 13 (81,3)	15 (7,2) 3 (18,8)	1 5,5 (1,3-23,5)	0,023	-	-

Este estudio revela que las combinaciones SNPs en genes de transporte de antraciclinas pueden tener un factor pronóstico en el tratamiento de la LMA en pacientes adultos. La mayor entrada de idarubicina esperada con esta combinación aumenta la exposición tisular y puede ser la causa de la mayor toxicidad y muerte en la inducción observada. Estudios confirmatorios que validen estas asociaciones pueden permitir su empleo como biomarcadores de la toxicidad de estos tratamientos.

6.3.2 Polimorfismos que afectan a enzimas metabolizadoras de antraciclinas

La ruta metabólica de las antraciclinas incluye tres vías: 1) la hidroxilación a un alcohol secundario (idarubicinol para idarubicina), es la ruta metabólica principal realizada por CBR; 2) la reducción de un electrón, en la que intervienen NQO1, NQO2 y NOS, entre otras; y 3) la desglicosilación, en la que participa NQO1. Se evaluó el impacto de 7 polimorfismos en 5 genes de la vía metabólica de las antraciclinas (*CBR3*: rs1056892, rs8133052, *NQO1*: rs1800566, *NQO2*: rs1143684, *NOS3*: rs1799983, rs2070744, *MnSOD*: rs4880) en 225 pacientes adultos con LMA *de novo*.

Tras aplicar el modelo multivariable se observaron mayores tasas de RC con el alelo salvaje T del polimorfismo *NQO2* rs1143684 (**Tabla 12**) tanto cuando se compara frente a RP y la resistencia, así como frente a cualquier resultado diferente de la RC. En estudios previos el alelo variante de *NQO2* rs1143684 se asoció con mayor exposición a los metabolitos alcohólicos de las antraciclinas, peor respuesta y mayor

resistencia a las antraciclinas, de acuerdo con nuestros resultados. No se detectaron diferencias en la RC con el resto de polimorfismos estudiados.

Tabla 12. Asociaciones significativas entre SNPs de genes de la vía metabólica de las antraciclinas y las variables de eficacia

Variable	Gen/SNP	Genotipos	RC n (%)	RP/RESIS n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
RC vs RP/RESIS	<i>NQO2</i> rs1143684	TT TC CC	87 (73,7) 41 (61,2) 4 (66,7)	31 (26,3) 26 (38,8) 2 (33,3)	1 0,4 (0,2-0,8) ND	0,014	RCit: Favorable RCit: Intermedio	0,2 (0,04-0,9); 0,037 0,5 (0,01-0,3); <0,001
Variable	Gen/SNP	Genotipos	RC n (%)	no RC n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
RC vs no RC	<i>NQO2</i> rs1143684	TT TC CC	87 (63,0) 41 (52,6) 4 (50,0)	51 (37,0) 37 (47,4) 4 (50,0)	1 0,5 (0,2-0,9) ND	0,025 NS	Edad: <65 años WBC: >50x10 ⁹ /L RCit: Favorable RCit: Intermedio	5,3 (2,1-13,5); 0,001 0,5 (0,2-0,9); 0,037 0,3 (0,1-0,99); 0,046 0,1 (0,03-0,3); <0,001

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; ND: no determinado; *NQO2*, *NAD(P)H deshydrogenase quinone*; NS, no significativo; OR, odds ratio; RC, remisión completa; RCit: riesgo citogenético; RP/RESIS: respuesta parcial/resistencia; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos.

Respecto a la toxicidad, se detectaron diversas asociaciones significativas (**Tabla 13**). El genotipo variante GG de *CBR3* rs8133052 se relacionó con menores tasas de hepatotoxicidad (OR: 0,16; IC95%: 0,03-0,8; P=0,028), polimorfismo asociado con una menor actividad de reductasa, no asociado previamente con la toxicidad. El genotipo variante TT de *NQO1* rs1800566 se relacionó con mayor mucositis (OR: 6,8; IC95%: 1,4-33,1; P=0,018), pero en cambio el heterocigoto CT mostró menor toxicidad gastrointestinal (OR: 0,5; IC95%: 0,3-0,9; P=0,028) y mayor tiempo de recuperación de la trombocitopenia (OR: 3,2; IC95%: 1,3-7,7; P=0,009). El alelo variante *NQO1* se relacionó con una pérdida completa de actividad enzimática, favoreciendo el acúmulo de antraciclinas tisular, consecuencia de la reducción del metabolismo. Por otro lado, la variante homocigota CC del polimorfismo *NQO2* rs1143684 se asoció con mayor toxicidad gastrointestinal (OR: 13,6; IC95%: 1,4-131,8; P=0,024), de acuerdo con estudios previos que detectaron mayor toxicidad.

Tabla 13. Asociaciones significativas entre SNPs de genes de la vía metabólica de las antraciclinas y las toxicidades relacionadas con las antraciclinas

Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 1-2 n (%)	Grado 3-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Hepática	<i>CBR3</i> rs8133052	AA AG GG	43 (75,4) 92 (76,7) 43 (93,5)	14 (24,6) 28 (23,3) 3 (6,5)	1 ND 0,16 (0,03-0,8)	NS 0,028	Sexo: varon WBC: >50 x 10 ⁹ /L Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	0,4 (0,2-0,9); 0,027 3,0 (1,3-6,9); 0,011 4,9 (1,5-15,6); 0,008 3,4 (1,3-8,7); 0,012
Gastrointestinal	<i>NQO1</i> rs1800566	CC CT TT	75 (58,6) 62 (72,1) 7 (63,6)	53 (41,4) 24 (27,9) 4 (36,4)	1 0,5 (0,3-0,9) ND	0,028 NS	Ninguna	-
Mucositis	<i>NQO1</i> rs1800566	CC CT TT	119 (93,0) 80 (93,0) 8 (72,7)	9 (7,0) 6 (7,0) 3 (27,3)	1 ND 6,8 (1,4-33,1)	NS 0,018	Ninguna	-
Gastrointestinal	<i>NQO2</i> rs1143684	TT TC CC	91 (65,9) 51 (65,4) 2 (25,0)	47 (34,1) 27 (34,6) 6 (75,0)	1 ND 13,6 (1,4-131,8)	NS 0,024	Edad: <65 años	3,0 (1,1-8,4); 0,035

Resultados

Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grade 0-1 n (%)	Grade 2-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Renal	NOS3 rs1799983	GG	45 (53,6)	39 (46,4)	1	0,006 NS	Edad: <65 años Sexo: varon WBC: >50 x 10 ⁹ /L LDH: >600 IU/L	0,2 (0,1-0,5); 0,001 0,5 (0,2-0,9); 0,020 3,4 (1,6-7,3); 0,002 2,1 (1,1-4,2); 0,027
		GT	71 (66,4)	36 (33,6)	0,4 (0,2-0,8)			
		TT	21 (61,8)	13 (38,2)	ND			
Hepática	NOS3 rs2070744	CC	19 (48,7)	20 (51,3)	1	NS 0,017	Sexo: varon Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	0,4 (0,2-0,8); 0,006 9,7 (1,2-76,6); 0,031 2,0 (1,02-3,8); 0,043
		CT	54 (36,2)	95 (63,8)	ND			
		TT	12 (34,3)	23 (65,7)	3,9 (1,3-11,9)			

Abreviaturas: *CBR3*, *Carbonyl Reductase 3*; IC, intervalo de confianza; LDH: lactato deshidrogenasa; ND: no determinado; *NQO1*, *NAD(P)H deshydrogenase quinone 1*; *NQO2*, *NAD(P)H deshydrogenase quinone 2*; *NOS3*, *Nitric Oxide Synthase 3*; NS, no significativo; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos.

Se asoció un efecto protector frente a la nefrotoxicidad con el genotipo heterocigoto de *NOS3* rs1799983 (OR: 0,4; IC95%: 0,2-0,8; P=0,006), así como tiempos de recuperación de la trombocitopenia más cortos con el alelo variante de ese mismo SNP (OR: 0,2; IC95%: 0,1-0,7; P=0,014; **Tabla 14**), ya había sido asociado previamente con un efecto protector frente a la cardiotoxicidad. En cambio, los pacientes portadores del alelo variante de *NOS3* rs2070744 sufren más hepatotoxicidad (OR: 3,9; IC95%: 1,3-11,9; P=0,017), así como mayor tiempo de recuperación de la trombocitopenia con el genotipo variante TT de *NOS3* rs2070744 (OR: 5,8; IC95%: 1,5-23,1; P=0,013; **Tabla 14**), quizá relacionado con la menor actividad de la enzima.

Tabla 14. Asociaciones significativas entre SNPs de genes de la vía metabólica de las antraciclinas y los tiempos de recuperación frente a la toxicidad hematológica

Variable	Gen/SNP	Genotipos	<27 días n (%)	≥27 días n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Tiempo recuperación trombocitopenia	<i>NQO1</i> rs1800566	CC	61 (78,2)	17 (21,8)	1	0,009 NS	Ninguna	-
		CT	28 (58,3)	20 (41,7)	3,2 (1,3-7,7)			
		TT	5 (83,3)	1 (16,7)	ND			
Tiempo recuperación trombocitopenia	<i>NOS3</i> rs1799983	GG	17 (32,1)	36 (67,9)	1	NS 0,014	WBC: >50 x 10 ⁹ /L Plaquetas: >40x10 ⁹ /L	0,3 (0,1-0,9); 0,032 0,4 (0,2-0,9); 0,036
		GT	25 (43,9)	32 (56,1)	ND			
		TT	12 (54,5)	10 (45,5)	0,2 (0,07-0,7)			
Tiempo recuperación trombocitopenia	<i>NOS3</i> rs2070744	CC	13 (61,9)	8 (38,1)	1	NS 0,013	Ninguna	-
		CT	36 (40,9)	52 (59,1)	ND			
		TT	5 (22,7)	17 (77,3)	5,8 (1,5-23,1)			

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; ND: no determinado; *NQO1*, *NAD(P)H deshydrogenase quinone 1*; *NQO2*, *NAD(P)H deshydrogenase quinone 2*; *NOS3*, *Nitric Oxide Synthase 3*; NS, no significativo; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos.

6.3.3 Carcinógenos y enzimas neutralizantes de antineoplásicos

La eficacia y la toxicidad del tratamiento con antraciclinas en la LMA están mediadas en parte por las especies reactivas de oxígeno (ROS). La enzima NADPH oxidasa es la principal fuente endógena de ROS y un mediador clave del daño cardíaco oxidativo. Se evaluó en 225 pacientes adultos con LMA *de novo* el impacto de los polimorfismos de la NADPH oxidasa (*CYBA*: rs4673, *NCF4*: rs1883112, *RAC2*: rs13058338).

El alelo variante *CYBA* se ha relacionado con una menor actividad de la enzima y una menor formación de ROS, y en nuestra cohorte la variante homocigota de *CYBA* mostró una menor supervivencia global con el modelo recesivo ($P=0,045$; **Figura 4**)

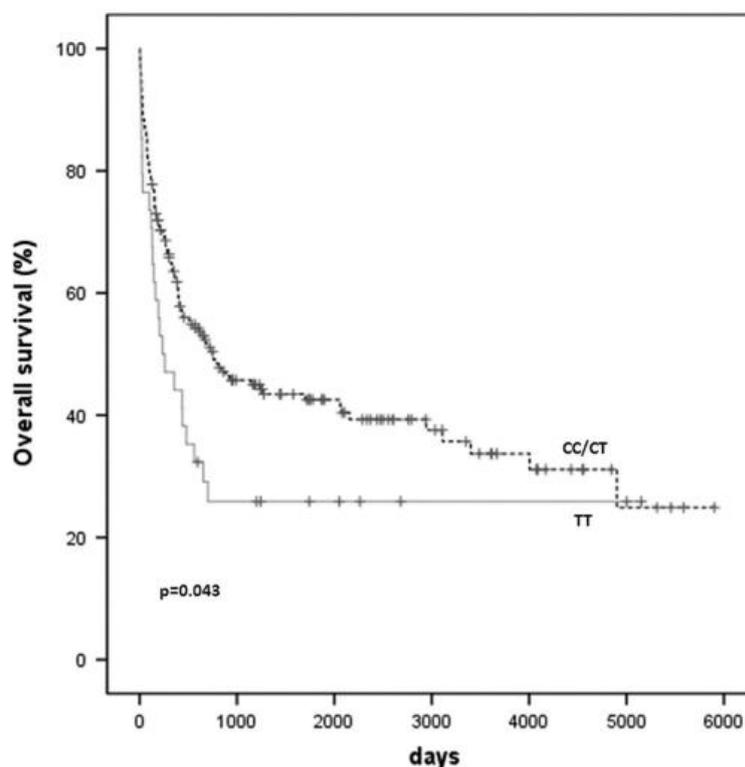


Figura 4. Curva de Kaplan Meier de supervivencia global en pacientes con LMA en función del genotipo de *CYBA* rs4673.

En cambio, el alelo variante de *RAC2* aumenta su expresión y la de *NCF4*, así como la generación de ROS, y los alelos variantes de *NCF4* y *RAC2* se relacionaron con una tasa de RC más alta ($P=0,035$, $P=0,016$; **Tabla 15**).

Tabla 15. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la NADPH oxidasa y variables de eficacia.

Variable	Gen/SNP	Genotipos	RC n (%)	RP/RESIS n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
CRvsPR/RESIS	<i>NCF4</i> rs1883112	GG	48 (65,8)	25 (34,2)	1	NS 0,035	RCit: Adverso	0,2 (0,1-0,5); <0,001
		GA	52 (63,4)	30 (36,6)	ND			
		AA	32 (86,5)	5 (13,5)	3,7 (1,1-12,8)			
CRvsPR/RESIS	<i>RAC2</i> rs13058338	TT	76 (63,3)	44 (36,7)	1	0,016 NS	RCit: Adverso	0,2 (0,1-0,5); <0,001
		TA	50 (79,4)	13 (20,6)	2,8 (1,2-6,5)			
		AA	6 (66,7)	3 (33,3)	ND			

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; *NCF4*, *Neutrophil cytosolic factor 4*; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; *RAC2*, *Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2*; RC: remisión completa; RCit: riesgo citogenético; RESIS, resistance; RP: respuesta parcial; SNP, single nucleotide polymorphism

Se asoció la cardiotoxicidad inducida por antraciclinas con la variante homocigota de *NCF4* (P=0,012; **Tabla 16**) y el genotipo heterocigoto de *CYBA* (P=0,027; **Tabla 16**), resultados consistentes con estudios previos. Se encontraron nuevas asociaciones con el alelo variante de *CYBA* y menor toxicidad pulmonar y gastrointestinal (P=0,040, P0=0,016; **Tabla 16**), y un efecto protector frente a la nefrotoxicidad con la variante homocigota *RAC2* (P=0,050; **Tabla 17**).

Tabla 16. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la NADPH oxidasa y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0-1 vs 2-4).

Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0-1 n (%)	Grado 2-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Cardíaca	<i>NCF4</i> rs1883112	GG	77 (91,7)	7 (8,3)	1	NS 0,012	Edad: <65 años Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L Creatinina:>1,4mg/dL	0,2 (0,1-0,6); 0,002 0,4 (0,1-0,96); 0,042 3,1 (1,2-8,2); 0,019 7,0 (1,4-35,6); 0,020
		GA	82 (84,5)	15 (15,5)	ND			
		AA	34 (77,3)	10 (22,7)	5,2 (1,4-18,9)			
Cardíaca	<i>CYBA</i> rs4673	CC	74 (82,2)	16 (17,8)	1	0,027 NS	Edad: <65 años Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L Creatinina:>1,4mg/dL	0,2 (0,1-0,6); 0,002 0,4 (0,1-0,96); 0,042 3,1 (1,2-8,2); 0,019 7,0 (1,4-35,6); 0,020
		CT	90 (90,0)	10 (10,0)	0,3 (0,1-0,9)			
		TT	28 (82,4)	6 (17,6)	ND			
Pulmonar	<i>CYBA</i> rs4673	CC	68 (75,6)	22 (24,4)	1	0,058 0,040	Edad: <65 años	0,3 (0,1-0,7); 0,005
		CT	86 (86,0)	14 (14,0)	0,5 (0,2-1,03)			
		TT	31 (91,2)	3 (8,8)	0,3 (0,06-0,9)			
Gastrointestinal	<i>CYBA</i> rs4673	CC	54 (60,0)	36 (40,0)	1	NS 0,016	Ninguna	-
		CT	61 (61,0)	39 (39,0)	ND			
		TT	28 (82,4)	6 (17,6)	0,3 (0,1-0,8)			

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; *CYBA*, *Cytochrome b-245, alpha polypeptide*; *NCF4*, *Neutrophil cytosolic factor 4*; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos

Tabla 17. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la NADPH oxidasa y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0 vs 1-4).

Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0-1 n (%)	Grado 2-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Renal	<i>RAC2</i> rs13058338	TT	76 (57,1)	57 (42,9)	1	NS 0,050	Edad: <65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L LDH: >600 IU/L	0,2 (0,1-0,6); 0,002 2,9 (1,3-6,3); 0,007 2,0 (1,0,2-4,0); 0,043
		TA	51 (64,6)	28 (35,4)	ND			
		AA	10 (76,9)	3 (23,1)	0,2 (0,03-0,99)			

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; LDH, Lactato deshidrogenasa; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; *RAC2*, *Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2*; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos

Además, la variante homocigota *RAC2* estaba relacionada con un menor tiempo de recuperación de la trombocitopenia ($P=0,026$; **Tabla 18**). Este estudio apoya el interés de los polimorfismos de la NADPH oxidasa con respecto a la eficacia y la toxicidad de la terapia de inducción en LMA, de una manera integrada y coherente.

Tabla 18. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la NADPH oxidasa y la toxicidad hematológica.

Variable	Gen/SNP	Genotipos	<27 días n (%)	≥27 días n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Tiempo de recuperación trombocitopenia	<i>RAC2</i> rs13058338	TT TA AA	28 (36,8) 22 (44,0) 4 (66,7)	48 (63,2) 28 (56,0) 2 (33,3)	1 ND 0,1 (0,02-0,8)	NS 0,026	WBC: >50 x 10 ⁹ /L Recuento plaquetas: >40x10 ⁹ /L	0,3 (0,1-0,9); 0,032 0,3 (0,1-0,9); 0,021

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; *RAC2*, *Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2*; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos

6.4 Polimorfismos que afectan a la vía metabólica de la citarabina

6.4.1 Polimorfismos que afectan a enzimas metabolizadoras de citarabina

La citarabina se considera el agente quimioterápico más efectivo en LMA. Se evaluó el impacto de 10 polimorfismos en los genes de la vía metabólica de la citarabina (*DCK*: rs2306744, rs11544786, rs4694362; *CDA*: rs2072671, rs3215400, rs532545, rs602950; *NT5C2*: rs11598702; *RRM1*: rs9937; *NME1*: rs2302254) en 225 pacientes adultos con LMA *de novo*.

La *DCK* es la enzima limitante en la activación de la citarabina, y su SNP se ha relacionado con mayor actividad enzimática y mayor supervivencia, y en nuestra cohorte el alelo variante de *DCK* rs2306744 obtuvo mayor tasa de RC ($P=0,024$; **Tabla 19**). Además los alelos menores de *DCK* rs2306744 y rs4694362 se asociaron con mucositis ($P=0,046$; **Tabla 20**) y trombocitopenia ($P=0,046$; **Tabla 21**), respectivamente.

Tabla 19. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la vía metabólica de la citarabina y las variables de eficacia.

Variable	Gen/SNP	Genotipos	RC n (%)	RP/RESIS n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
RC vs PR/RESIS	<i>DCK</i> rs2306744	GG GA	116 (66,7) 15 (88,2)	58 (33,3) 2 (11,8)	1 10,1 (1,2-85,5)	0,034	RCit: Adverso	0,2 (0,1-0,4); <0,001
Variable	Gen/SNP	Genotipos	RC n (%)	No RC n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
RC vs no-RC	<i>DCK</i> rs2306744	GG GA	116 (56,6) 15 (83,3)	89 (43,4) 3 (16,7)	1 6,2 (1,3-30,2)	0,024	Edad: ≥65 años RCit: Adverso	0,2 (0,1-0,5); <0,001 0,2 (0,1-0,5); <0,001
RC vs no-RC	<i>CDA</i> rs602950	TT TC CC	46 (57,5) 58 (53,7) 27 (75,0)	34 (42,5) 50 (46,3) 9 (25,0)	1 ND 3,0 (1,02-8,8)	NS 0,045	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L RCit: Adverso	0,2 (0,1-0,6); 0,002 0,4 (0,2-0,9); 0,023 0,1 (0,03-0,4); <0,001
Variable	Gen/SNP	Genotipos	Muerte inducción n (%)	RC n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Muerte inducción	<i>RRM1</i> rs9937	AA AG GG	3 (7,7) 23 (29,5) 7 (14,9)	36 (92,3) 55 (70,5) 40 (85,1)	1 0,2 (0,03-0,9) ND	0,033 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L	0,1 (0,02-0,2); <0,001 0,1 (0,03-0,4); <0,001

Resultados

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; *CDA*, *Cytidine deaminase*; *DCK*, *Deoxycytidine kinase*; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; RC: remisión completa; RCit: riesgo citogenético; RP: respuesta parcial; RESIS, resistance; *RRM1*, *Ribonucleotide reductase catalytic subunit M1*; SNP, single nucleotide polymorphism

Tabla 20. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la vía metabólica de la citarabina y la toxicidad inducida por antraciclinas (grado 0 vs 1-4 y grado 0-1 vs 2-4).

Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0 n (%)	Grado 1-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Cutánea	<i>CDA</i> rs532545	GG	29 (35,8)	52 (64,2)	1	0,031 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L Creatinina:>1,4mg/dL	0,3 (0,1-0,7); 0,003 0,5 (0,2-0,95); 0,036 0,2 (0,03-0,6) 0,011
		GA	35 (25,2)	104 (74,8)	2,0 (1,1-3,9)			
		AA	1 (20,0)	4 (80,0)	ND			
Cutánea	<i>CDA</i> rs602950	TT	29 (36,3)	51 (63,8)	1	0,056 0,049	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L Creatinina:>1,4mg/dL	0,3 (0,1-0,7); 0,004 0,5 (0,2-0,9); 0,035 0,2 (0,04-0,7) 0,012
		TC	29 (26,9)	79 (73,1)	1,9 (1,0-3,8)			
		CC	7 (19,4)	29 (80,6)	2,8 (1,0-7,6)			
Mucositis	<i>DCK</i> rs2306744	GG GA	128 (62,4) 7 (38,9)	77 (37,6) 11 (61,1)	1 2,8 (1,02-7,8)	0,046	Edad: ≥65 años	0,3 (0,1-0,8); 0,020
Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0-1 n (%)	Grado 2-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Pulmonar	<i>DCK</i> rs4694362	TT	75 (77,3)	22 (22,7)	1	0,031 NS	Edad: ≥65 años	3,0 (1,2-7,3); 0,016
		TC	88 (88,9)	11 (11,1)	0,4 (0,2-0,9)			
		CC	22 (78,6)	6 (21,4)	ND			
Hepática	<i>NT5C2</i> rs1159870 2	TT	88 (80,0)	22 (20,0)	1	NS 0,032	Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	0,4 (0,2-0,9); 0,028 3,3 (1,4-7,7); 0,006 5,7 (1,9-16,6); 0,002 3,5 (1,4-9,0); 0,01
		TC	76 (81,7)	17 (18,3)	ND			
		CC	15 (71,4)	6 (28,6)	4,1 (1,1-14,5)			

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; *CDA*, *Cytidine deaminase*; *DCK*, *Deoxycytidine kinase*; LDH, Lactato deshidrogenasa; ND: no determinado; NS, no significativo; *NT5C2*, *5'-Nucleotidase cytosolic II*; OR, odds ratio; RCit: riesgo citogenético; *RRM1*, *Ribonucleotide reductase catalytic subunit M1*; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos

Tabla 21. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la vía metabólica de la citarabina y la toxicidad hematológica.

Variable	Gen/SNP	Genotipos	<30 días n (%)	≥30 días n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Tiempo de recuperación trombocitopenia	<i>DCK</i> rs4694362	TT TC CC	38 (66,7) 45 (77,6) 10 (62,5)	19 (33,3) 13 (22,4) 6 (37,5)	1 0,4 (0,16-0,98) ND	0,046 NS	Ninguna	-

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; *DCK*, *Deoxycytidine kinase*; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism.

La *CDA* es la principal enzima responsable de la desaminación irreversible de la citarabina. Se observaron tasas de supervivencia más bajas para los alelos variantes de *CDA* rs2072671 (SG: P=0,015; EFS: P=0,045; SLR: P=0,032; **Tabla 22** y **Figura 5**), rs3215400 (SLR: P=0,033; **Tabla 22** y **Figura 6**), probablemente relacionado con una mayor actividad de *CDA*. En cambio el alelo variante de *CDA* rs602950 obtuvo mayor tasa de RC (P=0,045; **Tabla 19**), mayor supervivencia (SG: P=0,039; EFS: P=0,014; **Tabla 22** y **Figura 7**). Además, los alelos variantes de *CDA* rs532545 y rs602950 se relacionaron con toxicidad cutánea (P=0,031; P=0,049; **Tabla 20**).

Tabla 22. Asociaciones significativas entre SNPs en genes de la vía metabólica de la citarabina y las distintas tasas de supervivencia (SG, EFS, SLR).

Variable	Gen/SNP	Genotipos	No evento n (%)	Evento n (%)	HR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	HR (IC95%); p-valor
SG a los 5 años (Figura 5a)	<i>CDA</i> rs2072671	AA AC CC	12 (46,2) 26 (23,9) 9 (50,0)	14 (53,8) 83 (76,1) 9 (50,0)	1 2,2 (1,2-4,1) ND	0,015 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L RCit: Adverso	2,8 (1,7-4,5); <0,001 2,3 (1,5-3,8); <0,001 2,2 (1,4-3,5); 0,001
EFS a los 5 años (Figura 5b)	<i>CDA</i> rs2072671	AA AC CC	11 (42,3) 17 (15,6) 9 (50,0)	15 (57,7) 92 (84,4) 9 (50,0)	1 1,9 (1,01-3,4) ND	0,045 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L RCit: Adverso	2,7 (1,7-1,7); <0,001 2,1 (1,3-3,2); <0,001 2,0 (1,3-3,1); 0,003
SLR a los 5 años (Figura 5c)	<i>CDA</i> rs2072671	AA AC CC	11 (84,6) 17 (44,7) 9 (90,0)	2 (15,4) 21 (55,3) 1 (10,0)	1 9,1 (1,2-68,6) ND	0,032 NS	WBC: >50 x 10 ⁹ /L	2,9 (1,1-7,7); 0,029
SLR a los 5 años (Figura 6)	<i>CDA</i> rs3215400	DEL/DEL DEL/C CC	16 (72,7) 12 (48,0) 9 (64,3)	6 (28,3) 13 (52,0) 5 (35,7)	1 3,3 (1,1-9,9) ND	0,033 NS	Recuento plaquetas: >40 x 10 ⁹ /L ECOG: 2-4	0,4 (0,1-0,9); 0,032 3,1 (1,2-8,4); 0,026
SG a los 5 años (Figura 7a)	<i>CDA</i> rs602950	TT TC CC	20 (37,0) 14 (18,9) 13 (54,2)	34 (63,0) 60 (81,1) 11 (45,8)	1 1,7 (1,03-2,6) ND	0,039 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L RCit: Adverso Creatinina:>1,4mg/dL	2,5 (1,5-4,1); <0,001 2,0 (1,3-3,2); 0,004 1,8 (1,1-2,8); 0,019 2,4 (1,03-5,8); 0,043
EFS a los 5 años (Figura 7b)	<i>CDA</i> rs602950	TT TC CC	13 (24,1) 11 (14,9) 13 (54,2)	41 (75,9) 63 (85,1) 11 (45,8)	1 ND 0,4 (0,2-0,8)	NS 0,014	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L RCit: Adverso	2,7 (1,7-4,4); <0,001 1,9 (1,3-3,0); 0,003 1,7 (1,1-2,7); 0,019
SG a los 5 años (Figura 8a)	<i>RRM1</i> rs9937	AA AG GG	16 (44,4) 14 (21,5) 17 (32,7)	20 (55,6) 51 (78,5) 35 (67,3)	1 2,0 (1,1-3,5) ND	0,021 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L ECOG: 2-4 RCit: Adverso Creatinina:>1,4mg/dL	2,6 (1,6-4,3); <0,001 1,9 (1,2-3,0); 0,001 1,6 (1,04-2,6); 0,033 2,1 (1,3-3,3); 0,001 2,4 (1,02-5,7); 0,045
SLR a los 5 años (Figura 8b)	<i>RRM1</i> rs9937	AA AG GG	12 (75,0) 11 (47,8) 14 (63,6)	4 (25,0) 12 (52,2) 8 (36,4)	1 3,8 (1,02-14,3) ND	0,047 NS	Creatinina:>1,4mg/dL	7,4 (1,5-37,2); 0,015

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; *CDA*, *Cytidine deaminase*; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; EFS, supervivencia libre de evento; HR, hazard ratio; ND: no determinado; NS, no significativo; RCit: riesgo citogenético; *RRM1*, *Ribonucleotide reductase catalytic subunit M1*; SG, supervivencia global; SLR, supervivencia libre de recaída; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos

*El evento es la muerte en SG; el fallo de tratamiento, muerte o recaída en EFS; y la recaída en SLR.

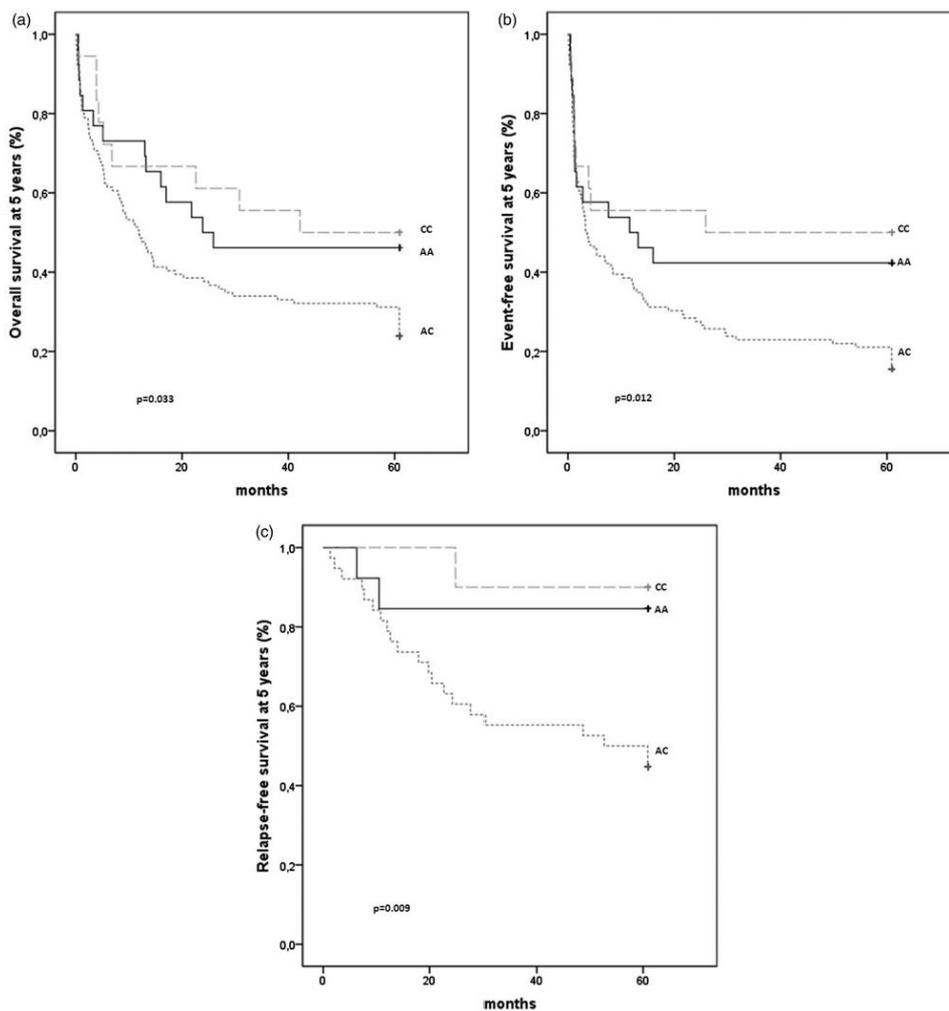


Figura 5. Curvas de Kaplan Meier de supervivencia a los 5 años (SG, EFS, SLR) en pacientes con LMA en función del genotipo de CDA 79A>C rs2072671.

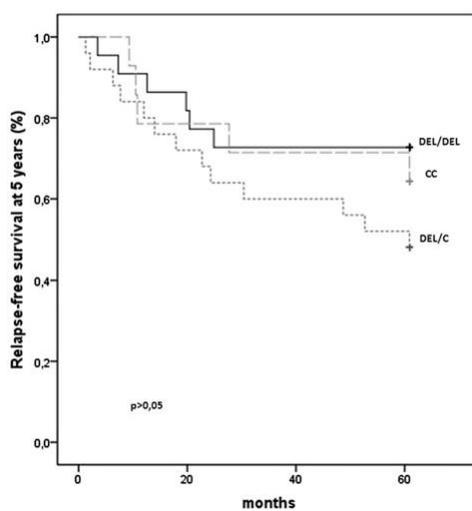


Figura 6. Curva de Kaplan Meier de supervivencia libre de recaída a los 5 años (SLR) en pacientes con LMA en función del genotipo de CDA 33DEL>C rs3215400.

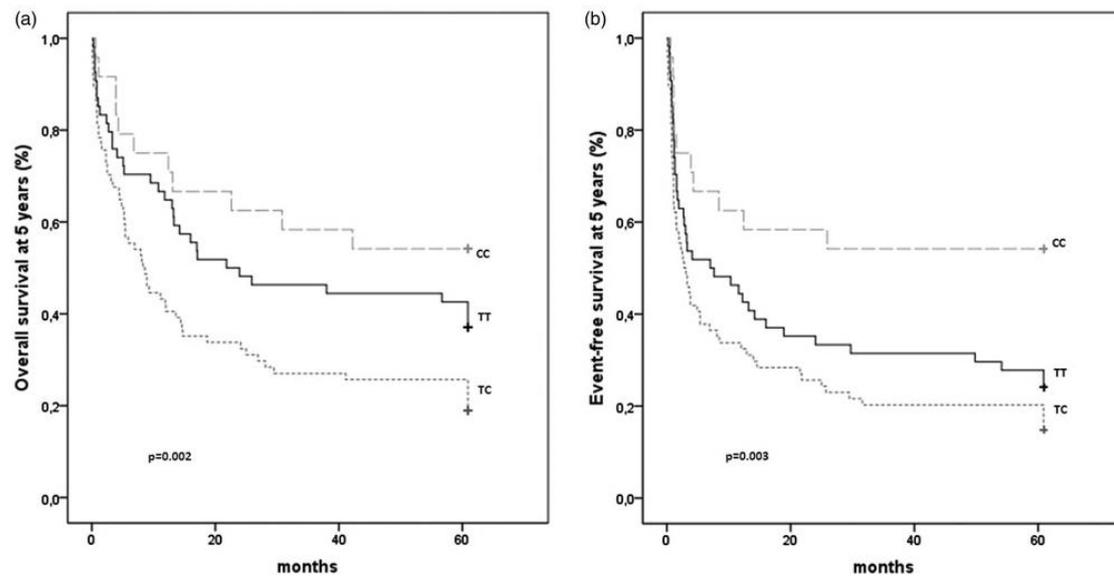


Figura 7. Curvas de Kaplan Meier de supervivencia a los 5 años (SG, EFS) en pacientes con LMA en función del genotipo de CDA 92T>C rs602950.

RRM1 cataliza la reducción de ribonucleótidos a desoxirribonucleótidos para la síntesis de ADN, y su actividad está directamente asociada con la sensibilidad o resistencia a citarabina. Se correlacionó el alelo variante de *RRM1* rs9937 con mayor muerte en inducción ($P=0,033$; **Tabla 19**) y las tasas de supervivencia más bajas (SG: $P=0,021$; SLR: $P=0,047$; **Tabla 22** y **Figura 8**), de acuerdo con resultados previos.

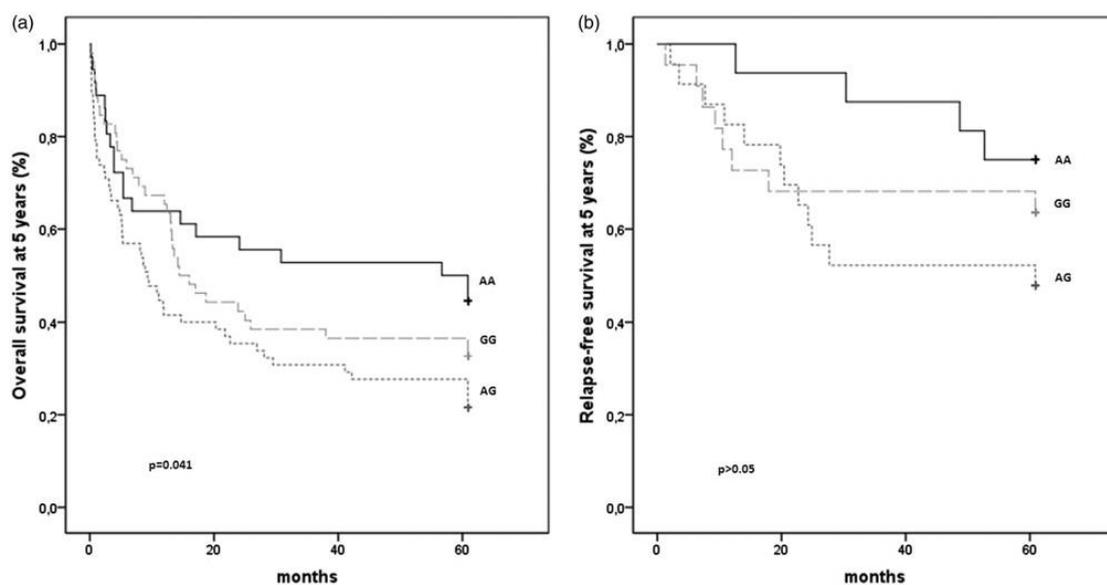


Figura 8. Curvas de Kaplan Meier de supervivencia a los 5 años (SG, SLR) en pacientes con LMA en función del genotipo de RRM1 2455A>G rs9937.

NT5C2 tiene una actividad opuesta a la de DCK al desfosforilar la citarabina trifosfato. El alelo variante de *NT5C2* rs11598702 se asoció con hepatotoxicidad ($P=0,032$; **Tabla 20**) y la toxicidad pulmonar ($P=0,031$; **Tabla 20**). Este estudio respalda el interés de los polimorfismos de la vía metabólica de la citarabina en relación con la eficacia y la toxicidad de la terapia de LMA de una manera integrada y coherente.

También se ha realizado un análisis multivariable incluyendo todos los SNPs y las covariables. Muchas de las asociaciones detectadas analizando los SNPs individualmente se mantienen tras este análisis (**Tabla 23**), lo que refuerza la influencia de estos SNPs sobre la eficacia y la toxicidad en LMA. Sin embargo, en algunas asociaciones con valores de p cercanos a 0,05 en análisis de asociación SNPs individuales, la significación estadística desapareció después tras el reanálisis. Además, se obtuvieron tres nuevas asociaciones con toxicidades inducidas por citarabina, incluyendo mayor hepatotoxicidad con el alelo variante de *DCK* rs4694362 ($p=0,010$; **Tabla 23**), mayor neurotoxicidad con el alelo variante de *NT5C2* rs11598702 ($p=0,040$; **Tabla 23**) y mayor TTR con el alelo variante de *CDA* rs602950 ($p=0,026$; **Tabla 23**).

Tabla 23. Asociaciones significativas entre las variables de eficacia y toxicidad tras el análisis multivariable incluyendo todos los SNPs.

Variable	Gen/SNP	Genotipos	RC n (%)	RP/RESIS n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
RC vs PR/RESIS	<i>DCK</i> rs2306744	GG GA	116 (66,7) 15 (88,2)	58 (33,3) 2 (11,8)	1 11,4 (1,2-112,8)	0,038	RCit: Adverso	0,2 (0,1-0,4); <0,001
Variable	Gen/SNP	Genotipos	RC n (%)	No RC n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
RC vs no-RC	<i>DCK</i> rs2306744	GG GA	116 (56,6) 15 (83,3)	89 (43,4) 3 (16,7)	1 6,3 (1,3-30,6)	0,023	Edad: ≥65 años RCit: Adverso	0,2 (0,1-0,5); 0,001 0,3 (0,1-0,5); <0,001
Variable	Gen/SNP	Genotipos	Muerte inducción n (%)	RC n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Muerte inducción	<i>RRM1</i> rs9937	AA AG GG	3 (7,7) 23 (29,5) 7 (14,9)	36 (92,3) 55 (70,5) 40 (85,1)	1 0,2 (0,03-0,9) ND	0,033 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L	0,1 (0,02-0,2); <0,001 0,1 (0,03-0,4); 0,001
Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0-1 n (%)	Grado 2-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Pulmonar	<i>DCK</i> rs4694362	TT TC CC	75 (77,3) 88 (88,9) 22 (78,6)	22 (22,7) 11 (11,1) 6 (21,4)	1 0,3 (0,1-0,8) ND	0,019 NS	Edad: ≥65 años	3,7 (1,5-9,4); 0,006
Hepática	<i>NT5C2</i> rs11598702	TT TC CC	88 (80,0) 76 (81,7) 15 (71,4)	22 (20,0) 17 (18,3) 6 (28,6)	1 ND 5,4 (1,4-20,7)	NS 0,014	Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	0,3 (0,1-0,8); 0,010 3,7 (1,5-9,2); 0,005 4,6 (1,5-14,3); 0,008 3,6 (1,3-9,6); 0,011
Hepática*	<i>DCK</i> rs4694362	TT TC CC	80 (82,5) 79 (79,8) 20 (71,4)	17 (17,5) 20 (20,2) 8 (28,6)	1 ND 5,1 (1,5-17,5)	NS 0,010	Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	0,3 (0,1-0,8); 0,010 3,7 (1,5-9,2); 0,005 4,6 (1,5-14,3); 0,008 3,6 (1,3-9,6); 0,011
Neurológica*	<i>NT5C2</i> rs11598702	TT TC CC	104 (94,5) 81 (87,1) 18 (85,7)	6 (5,5) 12 (12,9) 3 (14,3)	1 3,5 (1,1-11,6) 5,6 (1,1-29,1)	0,041 0,040	Ninguna	-
Variable	Gen/SNP	Genotipos	<27 días n (%)	≥27 días n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Tiempo de recuperación trombocitopenia*	<i>CDA</i> rs602950	TT TC CC	35 (76,1) 36 (62,1) 22 (81,5)	11 (23,9) 22 (37,9) 5 (18,5)	1 2,6 (1,1-6,2) NS	1 0,026	Ninguna	-

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; *CDA*, *Cytidine deaminase*; *DCK*, *Deoxycytidine kinase*; ND: no determinado; NS, no significativo; *NT5C2*, *5'-Nucleotidase cytosolic II*; OR, odds ratio; RC: remisión completa; RCit: riesgo citogenético; RP: respuesta parcial; RESIS, resistencia; *RRM1*, *Ribonucleotide reductase catalytic subunit M1*; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos.

* Nueva asociación después del análisis multivariante que incluye todas las variables de eficacia y toxicidad y todos los SNPs, no detectados previamente en análisis de asociación de los SNPs individuales.

6.4.2 Polimorfismos en genes relacionados con la respuesta a la citarabina

En una serie previa con 232 pacientes pediátricos con LMA se relacionaron varios nuevos SNPs implicados en la citotoxicidad de la citarabina con la respuesta al tratamiento¹⁸³. Nuestro estudio es el primero realizado en una cohorte de pacientes adultos con LMA que analiza la influencia de estos SNPs en la eficacia y toxicidad de la citarabina. Se analizaron los 6 polimorfismos que habían demostrado mayor importancia clínica en el estudio previo (gen no identificado: rs12036333, rs10758713, rs9883101, rs6550826, *IRX2*: rs2897047, *MCC*: rs7729269) en una cohorte de 225 adultos pacientes en el diagnóstico inicial de LMA y tratados con un esquema de inducción 7+3 de citarabina más idarubicina.

Con respecto a la respuesta, no hubo diferencias estadísticamente significativas en la RC con ninguno de los SNPs incluidos. Esta variable no se evaluó en la cohorte pediátrica previa¹⁸³ y hasta ahora no se ha detectado ninguna asociación entre estos polimorfismos y RC. Los alelos variante de rs12036333 y rs10758713 reprodujeron las asociaciones con menores tasas de supervivencia ya obtenidas anteriormente (**Tabla 24** y **Figura 9**). Los alelos variante de rs9883101 y rs6550826 también se relacionaron con menor supervivencia, en concordancia con la mayor citotoxicidad inducida por citarabina observada la cohorte de pacientes pediátricos (**Tabla 24**). Sin embargo, detectamos algunos hallazgos discordantes entre las cohortes de LMA en pacientes adultos y pediátricos. Se observó mayor supervivencia en pacientes con genotipo heterocigoto de *IRX2* rs2897047 (**Tabla 24**).

Tabla 24. Asociaciones significativas entre los nuevos SNPs relacionados con la citotoxicidad de la citarabina y las distintas tasas de supervivencia (SG, EFS, SLR).

Gen/SNP	Variable	Genotipos	No evento n (%)	Evento n (%)	HR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	HR (IC95%); p-valor	Resultados significativos del estudio Gamazon et al. ¹⁸³
rs12036333	SLE a los 5 años (Figura 8)	GG GA AA	26 (55,3) 11 (36,7) 0 (0)	21 (44,7) 19 (63,3) 5 (100,0)	1 2,2 (1,1-4,3) 35,6 (8,6-147,0)	0,024 <0,001	Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L Recuento plaquetas: >40 x 10 ⁹ /L	2,4 (1,2-4,8); 0,011 0,4 (0,2-0,8); 0,012 8,3 (2,3-30,1); 0,001	Genotipo variante AA mostró ↓SG (p=0,015), ↑TRM (p=0,0037) y ↑citotoxicidad de citarabina en LCL (p=1,31x10 ⁻⁶)
	SLR a los 5 años	GG GA AA	26 (65,0) 11 (61,1) 0 (0)	14 (35,0) 7 (38,1) 5 (100,0)	1 ND 83,0 (9,7-706,9)	NS <0,001	Edad: ≥65 años Recuento plaquetas: >40 x 10 ⁹ /L	3,8 (1,1-12,6); 0,032 0,3 (0,1-0,9); 0,029	
rs10758713	SLR a los 5 años	GG GA AA	33 (66,0) 4 (40,0) 0 (0)	17 (44,0) 6 (60,0) 1 (100)	1 2,8 (1,0-7,7) 9,8 (1,2-83,6)	0,050 0,037	Edad: ≥65 años	4,1 (1,2-14,4); 0,025	Genotipo variante AA mostró ↓SG (p=0,026) y ↑citotoxicidad de citarabina en LCL (p=3,25x10 ⁻⁶)
rs9883101	SG a los 5 años	AA AC CC	16 (23,9) 26 (39,4) 5 (26,3)	51 (76,1) 40 (60,6) 14 (73,7)	1 0,6 (0,4-0,9) ND	0,009 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L ECOG: 2-4 RCit: Adverso	3,0 (1,8-4,9); <0,001 1,8 (1,1-2,9); 0,011 1,6 (1,1-2,6); 0,031 2,0 (1,3-3,2); 0,002	Genotipo variante CC mostró ↑TRM (p=0,0014) y ↑citotoxicidad de citarabina en LCL (p=4,26x10 ⁻⁶)
	SLR a los 5 años	AA AC CC	14 (82,4) 19 (54,3) 4 (44,4)	3 (17,6) 16 (45,7) 5 (65,6)	1 ND 8,3 (1,8-39,7)	NS 0,008	Albumina: >3,5 g/dL	0,3 (0,1-0,8); 0,020	
rs6550826	SG a los 5 años	CC CG GG	17 (24,3) 26 (40,0) 4 (23,5)	53 (75,7) 39 (60,0) 13 (76,5)	1 0,6 (0,4-0,9) ND	0,011 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L ECOG: 2-4 RCit: Adverso	3,0 (1,9-5,0); <0,001 1,8 (1,1-2,8); 0,015 1,6 (1,04-2,6); 0,032 2,0 (1,3-3,2); 0,003	Genotipo variante GG mostró ↑TRM (p=0,0123) y ↑citotoxicidad de citarabina en LCL (p=5,4x10 ⁻⁶)
	SLR a los 5 años	CC CG GG	15 (78,9) 19 (54,3) 3 (42,9)	4 (21,1) 16 (45,7) 4 (57,1)	1 ND 6,3 (1,4-28,2)	NS 0,016	Albumina: >3,5 g/dL	0,4 (0,1-0,9); 0,029	
IRX2 rs2897047	SG a los 5 años	CC CT TT	19 (23,5) 22 (38,6) 6 (40,0)	62 (76,5) 35 (61,5) 9 (60,0)	1 0,6 (0,4-0,9) ND	0,019 NS	Edad: ≥65 años WBC: >50 x 10 ⁹ /L ECOG: 2-4 RCit: Adverso Creatinina:>1,4mg/dL	2,9 (1,8-4,7); <0,001 1,8 (1,1-2,8); 0,018 1,6 (1,04-3,6); 0,032 2,3 (1,4-3,6); 0,001 2,4 (1,02-5,7); 0,045	Genotipo variante TT mostró ↓SLR (p=0,043), ↑EMR el día 22 (p=0,021) y ↓citotoxicidad de citarabina en LCL (p=4,06x10 ⁻⁶)
MCC: rs7729269	No se obtuvieron asociaciones significativas entre este SNP y las tasas de supervivencia en nuestro estudio								Genotipo variante CC mostró ↑ Citotoxicidad de citarabina en LCL (p=3,67x10 ⁻⁷) y ↑sensibilidad <i>ex vivo</i> a citarabina (IC ⁵⁰) en blastos de LMA (p=0,039)

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; EFS, supervivencia libre de evento; EMR, enfermedad mínima residual; HR, hazard ratio; *IRX2*, *Iroquois homeobox 2*; LCL, Líneas celulares linfoblásticas; LMA: leucemia mieloide aguda; ND: no determinado; NS, no significativo; RCit: riesgo citogenético; SG, supervivencia global; SLE, supervivencia libre de enfermedad; SLR, supervivencia libre de recaída; SNP, single nucleotide polymorphism; TRM, mortalidad relacionada con el tratamiento; WBC, recuento de leucocitos

*El evento es la muerte en SG; el fallo de tratamiento, muerte o recaída en EFS y SLE; y la recaída en SLR.

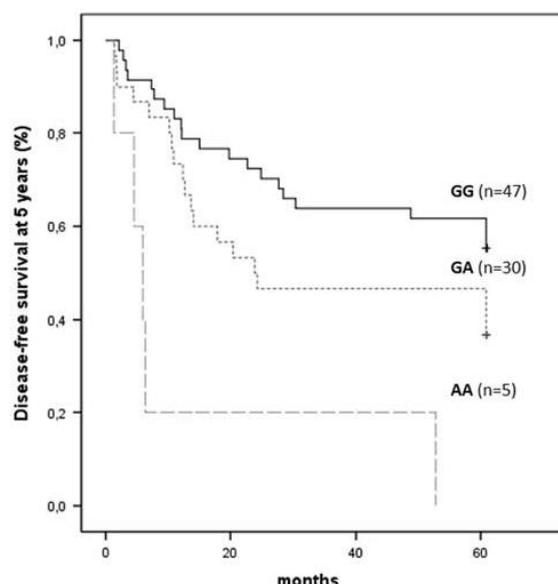


Figura 9. Curva de Kaplan Meier de supervivencia libre de enfermedad a los 5 años en pacientes con LMA en función del genotipo de rs12036333.

El genotipo heterocigoto de *MCC* rs7729269 se asoció con una mayor toxicidad inducida por citarabina (renal, hepática, pulmonar y cutánea; **Tabla 25**), mientras que el alelo variante se relacionó con una reducción en el tiempo de recuperación de la trombocitopenia (**Tabla 25**). Este estudio confirma la influencia en tasas de supervivencia de estos polimorfismos en pacientes adultos con LMA. Se detectaron nuevas asociaciones entre los SNPs de *MCC* y la toxicidad de citarabina, que deberían validarse con estudios prospectivos con mayor tamaño muestral.

Tabla 25. Asociaciones significativas entre nuevos SNPs relacionados con la citotoxicidad de la citarabina y la toxicidad (grado 0-1 vs 2-4).

Toxicidad	Gen/SNP	Genotipos	Grado 0-1 n (%)	Grado 2-4 n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Renal	<i>MCC</i> rs7729269	TT TC CC	125 (89,9) 55 (82,1) 15 (83,3)	14 (10,1) 12 (17,9) 3 (16,7)	1 2,8 (1,1-7,4) ND	0,033 NS	Edad: ≥65 años	5,4 (2,0-14,6); 0,001
Hepática	<i>MCC</i> rs7729269	TT TC CC	118 (84,9) 46 (68,7) 14 (77,8)	21 (15,1) 21 (31,3) 4 (22,2)	1 2,4 (1,1-5,5) ND	0,034 NS	Sexo: varón WBC: >50 x 10 ⁹ /L Bilirrubina: >1,1 mg/dL LDH: >600 IU/L	0,4 (0,2-0,8); 0,015 2,8 (1,2-6,4); 0,016 5,7 (1,9-17,4); 0,002 3,3 (1,3-8,2); 0,011
Pulmonar	<i>MCC</i> rs7729269	TT TC CC	123 (88,5) 49 (73,1) 13 (72,2)	16 (11,5) 18 (26,9) 5 (27,8)	1 2,7 (1,2-6,2) ND	0,019 NS	Edad: ≥65 años	3,7 (1,5-9,3); 0,005
Cutánea	<i>MCC</i> rs7729269	TT TC CC	101 (72,7) 35 (52,2) 12 (66,7)	38 (27,3) 32 (47,8) 6 (33,3)	1 2,9 (1,5-5,6) ND	0,002 NS	Albumina: >3,5 g/dL	2,0 (1,1-3,8); 0,031
Variable	Gen/SNP	Genotipos	<27 días n (%)	≥27 días n (%)	OR (IC95%)	p-valor	Covariables significativas	OR (IC95%); p-valor
Tiempo de recuperación trombocitopenia*	<i>MCC</i> rs7729269	TT TC CC	25 (32,9) 20 (46,5) 9 (75,0)	51 (67,1) 23 (53,5) 3 (25,0)	1 0,4 (0,2-0,9) 0,1 (0,02-0,5)	0,036 0,006	Edad: ≥65 años Recuento plaquetas: >40 x 10 ⁹ /L	0,1 (0,01-0,9); 0,038 0,3 (0,1-0,8); 0,017

Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; LDH, Lactato dehidrogenasa; *MCC*, mutated in colorectal cancers; ND: no determinado; NS, no significativo; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism; WBC, recuento de leucocitos

7.DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo de Tesis muestran que una estrategia de medicina personalizada basada en la PGt de antraciclinas y citarabina puede significar una mejoría en los resultados terapéuticos en LMA, permitiendo optimizar las pautas de quimioterapia con el objetivo de mejorar la eficacia y reducir o al menos controlar la toxicidad farmacológica en función de los SNPs de cada paciente. En este estudio se analizó el genotipo de una cohorte de 225 pacientes adultos con LMA, y se correlacionaron sus variantes genéticas de las vías metabólicas de idarubicina y citarabina con la efectividad y toxicidad del tratamiento de inducción. A continuación vamos a discutir los resultados obtenidos para los principales polimorfismos analizados en esta tesis.

El impacto de los polimorfismos *ABCB1* sobre la eficacia del tratamiento en pacientes con LMA ha sido ampliamente estudiado en la literatura^{46-48,50-55,58,59}. Los alelos variantes de los SNPs que hemos evaluado producen una menor expresión de la bomba y, en consecuencia, una menor expulsión de las antraciclinas, lo que mejora el éxito de la terapia de inducción y aumenta potencialmente la toxicidad. En nuestro estudio no encontramos asociaciones entre los SNPs de *ABCB1* y la RC, al igual que otros estudios^{46,48,50,54} y un metanálisis⁵⁸, pero en cambio otros estudios asociaron estos SNPs con aumentos^{55,59} o disminuciones⁴⁷ en la tasa de RC. En cambio, observamos que: a) el haplotipo de variante triple *ABCB1* se asoció a una mayor muerte por inducción; b) este haplotipo y las variantes aisladas de SNPs de *ABCB1* se asociaron con toxicidades orgánicas más altas (renal y hepática). Hasta la fecha ningún estudio ha analizado las causas de fracaso de la quimioterapia de inducción en relación con los SNPs de *ABCB1*, como la muerte por inducción y la resistencia leucémica. De igual modo, su relación con la toxicidad ha sido poco estudiada y sin resultados significativos en LMA^{48,51}. Los alelos variantes de los SNP de *ABCB1* se relacionaron previamente con una menor actividad de expulsión de fármaco por la P-gp en las células renales²⁰⁴ y, por lo tanto, con un menor aclaramiento de antraciclina, justificando que la mayor nefrotoxicidad está asociada a estos SNPs observada en nuestra cohorte. Respecto al aumento de la hepatotoxicidad asociada al alelo variante de *ABCB1* rs1128503, nuestro hallazgo es novedoso en pacientes con LMA, aunque estudios previos con inhibidores de la P-gp (ciclosporina y PSC-833), que tendrían un efecto similar al alelo variante de *ABCB1*, se asociaron a aumentos de la bilirrubina^{205,206}. Además en nuestra cohorte se asoció la variante homocigota de *ABCB1* rs2032582 a la recuperación tardía de neutrófilos empleando el modelo recesivo, probablemente relacionado con un menor flujo de salida de idarubicina en los glóbulos blancos y a una posible toxicidad. Estudios previos en cáncer de mama

relacionaron mayor neutropenia con alelos variantes de *ABCB1* rs203258240 y rs1045642^{207,208}.

Son menos conocidas otras bombas de eflujo de fármacos, como las codificadas por los genes *ABCC1* y *ABCG2*, que se expresa en un 30% de todas las líneas celulares de LMA²⁰⁹. La expresión de ***ABCC1*** fue un predictor de menor SLE en un estudio previo²¹⁰, pero en LMA los SNPs de *ABCC1* no se asociaron con cambios en la SG ni la toxicidad⁵¹. La asociación detectada en nuestra cohorte entre el alelo variante de *ABCC1* rs4148350 y la hepatotoxicidad grave no se había descrito antes, aunque otros miembros de la familia *ABCC*, como *ABCC2*, se han relacionado previamente con la hepatotoxicidad inducida por fármacos²¹¹. Respecto a ***ABCG2***, la expresión de esta proteína reduce la toxicidad de la antraciclina en los tejidos, aunque en las células madre leucémicas puede estar asociada a la resistencia a los medicamentos. Varios estudios de expresión en LMA han demostrado que la sobreexpresión de *ABCG2* empeora el resultado del tratamiento^{212,213}, y la coexpresión de dos o tres transportadores confiere un peor pronóstico²⁰⁹. El alelo variante del polimorfismo rs2231142 reduce la expresión de *ABCG2* y la resistencia a fármacos²¹⁴, y se han asociado en LMA a un mayor supervivencia y toxicidad^{51,72}, aunque otros estudios no reprodujeron estos resultados^{69,71}. Nuestro estudio obtuvo una mayor toxicidad cardíaca y pulmonar con el alelo variante de este SNP, probablemente causado por la disminución de la expresión de *ABCG2* en tejidos cardíaco²¹⁵ y pulmonar²¹⁶, lo que reduce la expulsión de antraciclinas favoreciendo su acumulación.

En relación con los transportadores de entrada de antraciclinas, sólo encontramos resultados destacables con ***SLCO1B1***, transportador involucrado en la absorción hepática de compuestos aniónicos orgánicos como las estatinas o la idarubicina. El alelo menor de T521C (rs4149056) se ha asociado a concentraciones circulantes elevadas de estatinas, lo que implica un acceso hepático reducido^{40,217}. De manera similar, los estudios en animales mostraron la importancia de *SLCO1B1* en la eliminación de antraciclinas como daunorrubicina²¹⁸ y doxorubicina²¹⁹. En estudios de LMA, el alelo variante de *SLCO1B1* T521C se ha relacionado con toxicidad hepática⁴¹, mientras que el alelo variante del polimorfismo rs2291075 se asoció a mayor SG y EFS. Este SNP está fuertemente vinculado con el polimorfismo de *SLCO1B1* (rs4149056) incluida en nuestro estudio. Aunque en nuestra cohorte no se encontraron asociaciones significativas del polimorfismo de *SLCO1B1* rs4149056 con la toxicidad y la RC, los pacientes que expresan el genotipo salvaje TT se asociaron a mayor muerte en la inducción. Este genotipo está relacionado con una mayor absorción en los tejidos de idarubicina, aumentando la toxicidad potencial.

Los polimorfismos en genes relacionados con el **metabolismo de antraciclinas** fueron analizados en nuestra cohorte. Para los SNPs de **CBR3** la única asociación significativa que detectamos fue una menor tasa de hepatotoxicidad con el genotipo variante de rs8133052. Este polimorfismo se había asociado con una menor actividad de reductasa^{76,84}, pero no se había descrito efectos relevantes con la toxicidad. Respecto al polimorfismo **NQO1** rs1800566, *in vitro* se relacionó con una pérdida completa de actividad enzimática⁹¹ y en diversas cohortes en LMA con menor RC^{92,93}. En nuestro estudio no detectó asociaciones con la tasa de RC pero relacionó el alelo variante con mayor mucositis, toxicidad gastrointestinal y mayor tiempo de recuperación de la trombocitopenia, posiblemente en relación con el mayor acúmulo de antraciclinas en los tejidos, consecuencia de la reducción del metabolismo. Sólo detectamos influencia en la efectividad de las antraciclinas con el alelo salvaje T para el polimorfismo **NQO2** rs1143684, asociado a una mayor RC. Además, el genotipo variante CC de este mismo SNP se asoció con mayor toxicidad gastrointestinal. NQO2 es un homólogo de NQO1, que también se ha asociado con la respuesta a los esquemas que contienen antraciclinas^{220,221}. En estudios en cáncer de mama asociaron el alelo variante de **NQO2** rs1143684 con una mayor exposición a los metabolitos alcohólicos de las antraciclinas²²², así como con peor respuesta y mayor resistencia a las antraciclinas²²¹. Todos estos estudios apoyan nuestros resultados, el alelo variante se relaciona con peor respuesta y mayor toxicidad, ya que el metabolito tiene una mayor vida media en el organismo y mayor potencial para generar toxicidad.

Los SNPs rs1799983 y rs2070744 de **NOS3** se han relacionado con niveles más bajos de la enzima^{83,104}, así como con menor supervivencia⁸³. En nuestra cohorte mostraron influencias contrapuestas en la toxicidad entre ambos polimorfismos, no descritas previamente. El alelo variante de **NOS3** rs1799983 se asoció a un efecto protector frente a la nefrotoxicidad y una recuperación más rápida de la trombocitopenia, que ya había sido asociado con un efecto protector frente a la cardiotoxicidad⁶⁶. En cambio, en nuestros pacientes el alelo menor de **NOS3** rs2070744 aumentaba la hepatotoxicidad y retrasaba la recuperación de la trombocitopenia, quizá relacionado con la menor actividad de la enzima.

También analizamos el impacto de los polimorfismos de la NADPH oxidasa (genes **CYBA**, **NCF4**, **RAC2**) en el tratamiento con antraciclinas, ya que es la principal fuente endógena de ROS y un mediador clave del daño cardíaco oxidativo. El polimorfismo **CYBA** rs4673 ha sido ampliamente estudiado, aunque con resultados contradictorios. El alelo variante se ha relacionado con una menor actividad de la enzima y una menor formación de ROS²²³⁻²²⁵, y en consecuencia menores tasas de

supervivencia^{34,62}, mientras que otros estudios relacionaron ese alelo variante con mayor producción de ROS²²⁶ y no vieron diferencias en la supervivencia^{65,131}. En nuestro estudio, el genotipo variante TT de *CYBA* rs4673 mostró una SG más baja, probablemente relacionado con una menor generación de ROS, que es uno de los mecanismos antitumorales de las antraciclinas. Por otro lado, la variante de *CYBA* rs1049255 también se ha asociado con una menor producción de superóxido^{227,228}, así como con menores tasas de supervivencia en el linfoma no Hodgkin²²⁸.

Las asociaciones entre el alelo variante de *CYBA* rs4673 y la toxicidad han sido ampliamente estudiadas en distintos tumores, especialmente AIC con resultados contradictorios. Mientras que dos estudios asociaron mayor AIC con el alelo variante T^{32,33}, en otros 6 estudios no se detectó asociación^{28,34,61,62,63,65}, dos de ellos incluyendo pacientes con LMA^{28,63}. Sin embargo, en nuestra cohorte AML, el genotipo heterocigoto de *CYBA* rs4673 se relacionó con una menor cardiotoxicidad, reproduciendo en parte el efecto protector del alelo T en la necrosis miocárdica focal que detectaron en un estudio de lesiones histológicas AIC en pacientes con cáncer (41,7% de ellos con leucemia aguda)¹²⁹. Además, detectamos por primera vez con el alelo variante un efecto protector frente a toxicidad pulmonar y gastrointestinal. Solo dos de las cohortes previas analizaron toxicidades diferentes de AIC^{34,65}, detectando con el alelo menor incidencia de anemia y mucositis grados 3-4⁶⁵. Nuestros hallazgos podrían estar relacionados con una menor actividad de NADPH oxidasa, reduciendo el daño tisular inducido por las antraciclinas.

El SNP -368G>A (rs1883112) de *NCF4* no afectaba la expresión de ARNm en granulocitos basales y estimulados, pero en cambio la variante rs13058338 de *RAC2* aumentaba la expresión de ARNm de *NCF4*²²⁷. Se encontró una mayor SLR y una tendencia a mayor SG con el genotipo variante AA en una cohorte de linfoma no Hodgkin¹³¹, aunque no se reprodujo en otras cohortes^{34,65,130}. El genotipo AA homocigoto variante se asoció a una RC más alta en nuestra cohorte, pero no se relacionó con la SG. Además, observamos un aumento de la AIC grado 2-4 en los portadores del alelo A, hallazgo es consistente con otros estudios en linfoma^{33,34} y cáncer (incluyendo LMA)¹²⁹, aunque no observado en otras cohortes^{28,32,62,63,65,128}. Sin embargo, no obtuvimos ninguna asociación entre el alelo variante de *NCF4* y la toxicidad hematológica, que se ha detectado previamente^{34,131}.

El gen *RAC2* codifica una subunidad oxidasa NADPH con función GTPasa¹²⁸. El alelo variante del polimorfismo *RAC2* 7508T>A (rs13058338) aumenta la expresión de ARNm en los granulocitos, así como una mayor expresión de ARNm de *NCF4*²²⁷. Este aumento en la actividad de la NADPH oxidasa podría estar asociado a una mayor

generación de ROS y puede inducir apoptosis. De acuerdo con esta hipótesis, observamos en nuestra cohorte una mayor tasa de RC con el genotipo heterocigoto, similar al efecto observado con el alelo variante de *NCF4* rs1883112. Que el resultado significativo se detecte solo con el genotipo heterocigoto podría explicarse por la baja frecuencia del genotipo homocigoto variante (solo 9 pacientes en nuestra cohorte) que impidieron mostrar la mayor actividad de NADPH oxidasa esperada. Además en diversos estudios se ha observado que los genotipos heterocigotos tienen una mayor influencia que el genotipo homocigoto variante, como el polimorfismo rs1537514 de *MTHFR* en cáncer de pulmón tratado con platinos²²⁹, o rs807212 y rs207712 en la región HLA clase I y III que confieren protección frente a la LLA²³⁰. Otra explicación para estos resultados paradójicos es que, en contraste con otros estudios, utilizamos un modelo codominante para evaluar el impacto de los SNPs, dividiendo las categorías de sujetos en grupos pequeños debido a una MAF baja. En consecuencia, estamos asumiendo que en algunos casos la distribución de eventos en grupos pequeños (generalmente homocigoto variante) podría ser inconsistente con la observada en el grupo mayoritario (generalmente heterocigoto). No encontramos diferencias en la SG, de acuerdo con estudios previos en linfoma y cáncer de mama^{34,130,131}. Se detectó una asociación de este SNP con la AIC en dos estudios en linfoma^{32,33} y otro en TPH¹³⁰. Sin embargo nosotros no detectamos esta asociación, al igual que otros estudios^{28,34,62,129,128}. En cambio, descubrimos dos nuevas asociaciones entre la variante homocigótica AA y menor nefrotoxicidad y el tiempo de recuperación de la trombocitopenia.

Estudiamos también los principales SNPs relacionados con la vía metabólica de la citarabina. La **DCK** es la enzima limitante en la activación de la citarabina, y presenta niveles de ARNm 30 veces mayores en los blastos¹⁴². Los polimorfismos más estudiados de *DCK* son 201C>T y 360C>G (rs2306744 y rs377182313), cuyo haplotipo salvaje se asoció con menor expresión de ARNm y actividad, así como menor EFS en una cohorte asiática¹⁴³. Se observaron resultados similares en SG y EFS con *DCK* rs2306744 en una cohorte hispana¹⁴⁴, aunque una cohorte asiática posterior no obtuvo diferencias significativas en supervivencia ni RC¹³⁹. En nuestra cohorte no observamos correlaciones entre los SNPs de *DCK* y la SG, pero el alelo variante de *DCK* rs2306744 estaba relacionado con una mayor RC y mucositis. Un estudio en LLA pediátrica encontró una mayor mucositis con citarabina en dosis bajas en portadores de alelos variantes de *DCK* rs377182313, pero no para rs2306744²³¹. Además, en nuestra cohorte el genotipo TC de *DCK* rs4694362 se asoció a una mayor toxicidad pulmonar y una recuperación tardía de la trombocitopenia, ambas

asociaciones relativamente novedosas en LMA. Este SNP se ha correlacionado previamente con la toxicidad hematológica en una población de LLA pediátrica caucásica²³², aunque en LMA no se ha asociado a una mayor toxicidad^{138,139}. Un informe posterior demostró que los pacientes con una alta ratio de expresión *DCK/CDA* son más susceptibles a las toxicidades derivadas de citarabina, incluida la toxicidad pulmonar²³³. Además, se identificó una asociación nueva entre el alelo variante de *DCK* rs4694362 y la hepatotoxicidad en el análisis multivariante con todos los SNPs. Nuestros hallazgos podrían estar asociados a un genotipo más activo de *DCK*, aumentando la activación de Ara-CMP y su eficacia en los blastos, y aumentando potencialmente el daño tisular.

CDA es la principal enzima responsable de la desaminación irreversible de la citarabina, y su sobreexpresión se ha relacionado con mayor resistencia y recaída, mientras que una menor expresión de *CDA* se ha asociado a una mayor duración de la RC^{157,158,234}. El polimorfismo de *CDA* 79A>C (rs2072671) reduce la actividad enzimática y aumenta la citotoxicidad *in vitro*^{161,235-239}, mientras que otro estudio asoció el alelo variante C con mayor actividad de *CDA*²⁴⁰. Nuestro estudio detectó con el genotipo heterocigoto AC de *CDA* 79A>C menor SG, EFS y SLR, resultados consistentes con cohortes previas de LMA en pacientes adultos caucásicos¹⁴⁷ y asiáticos¹⁶⁵, pero otros estudios no detectaron diferencias significativas^{44,146,164}, o detectaron menor SG con el alelo salvaje²³¹. El resultado significativo observado solo con el genotipo heterocigoto podría explicarse por una baja frecuencia de la variante del genotipo homocigoto (solo 18 pacientes, mientras que 109 pacientes eran portadores heterocigotos), lo que impidió detectar la menor actividad teórica de *CDA* con el alelo variante. Un estudio con análogos de citidina (5-azacitidina y decitabina)²⁴¹ detectó menor expresión y actividad de *CDA* con los genotipos homocigoto y heterocigoto variantes de rs2072671, apoyando nuestra teoría. Como ya vimos los resultados paradójicos con el genotipo heterocigoto *RAC2* 7508T>A, también se podrían explicar estos resultados con la mayor influencia del genotipo heterocigoto respecto al genotipo homocigoto variante^{229,230}, o con el empleo del modelo codominante, que divide a los pacientes en por sus genotipos en grupos pequeños debido a la MAF baja.

Otros polimorfismos de *CDA* obtuvieron resultados significativos en nuestra cohorte. El alelo variante de *CDA* 92T>C (rs602950), relacionado con una mayor actividad enzimática teórica¹⁶², se asoció en nuestra cohorte a mayor RC, SG y EFS. Este SNP ha sido poco estudiado en LMA, sin asociaciones significativas con RC, SG o toxicidad¹⁴⁶. Los genotipos DEL/DEL y DEL/C de *CDA* rs3215400 se han relacionado

con un aumento en la actividad enzimática de CDA^{239,242}, con mayor citotoxicidad *in vitro*¹⁶¹ y reacciones adversas^{239,242}, y con menor tasa de RC¹⁶⁴, resultados que concuerdan con la menor SLR a los 5 años observada en nuestra cohorte con el genotipo DEL/C. Además, los alelos variantes de *CDA* rs532545 y rs602950 mostraron una mayor incidencia de toxicidad cutánea, un hallazgo no descrito previamente en LMA, pero que se había correlacionado con el alelo menor de *CDA* rs532545 en los cánceres de mama y colorrectales tratados con capecitabina²⁴². En el análisis multivariante incluyendo todos los SNPs, se detectó un retraso en el TTR con alelo variante de *CDA* 92T>C rs602950, no detectado en los análisis previos. Un metaanálisis detectó tasas más altas de anemia grave con el alelo variante de *CDA* 79A>C rs2072671 en pacientes tratados con gemcitabina, pero no se observaron asociaciones respecto a la trombocitopenia²⁴³.

La sobreexpresión de ***RRM1*** en las células cancerosas se ha relacionado con resistencia a gemcitabina (otro análogo de nucleósido)^{244,245}, pero se ha asociado a mejor respuesta a la citarabina en LMA, tanto *ex vivo* como *in vivo*²³⁴. En dos cohortes de pacientes con LMA caucásicas^{35,167} los alelos variantes de polimorfismos de *RRM1* se correlacionaron con menores tasas de supervivencia y RC, de acuerdo con nuestros resultados con el alelo variante de *RRM1* rs9937 asociado a menor SG y SLR a los 5 años. Sin embargo, este mismo SNP no obtuvo asociaciones significativas con la eficacia o la toxicidad hematológica en dos cohortes de LMA^{140,167}. Además, detectamos una mayor muerte en la inducción en pacientes con genotipo heterocigoto de *RRM1* rs9937. Hasta la fecha, ningún estudio en LMA ha analizado el impacto de los polimorfismos *RRM1* sobre las causas del fracaso de la terapia de inducción, como la muerte por inducción y la resistencia. Sin embargo, Abraham *et al.* observó una tasa de mortalidad por inducción más alta en los pacientes con un índice de resistencia a la citarabina muy bajo, probablemente como consecuencia de mayor sensibilidad a la citarabina y mayor toxicidad potencial²³⁴. Este índice se calculó dividiendo la expresión de los genes activadores de citarabina (*DCK* y *hENT1*) por la expresión del gen desactivador de citarabina (*CDA*). Nuestra hipótesis es que pueda ocurrir un efecto similar en los portadores de alelos menores de *RRM1* rs9937.

Las 5'-nucleotidasas catalizan la desfosforilación de los fosfatos de nucleósidos; en consecuencia, la función ***NT5C2*** es opuesta a la de *DCK* al desfosforilar Ara-CMP. La sobreexpresión del gen *NT5C2* se ha relacionado con la resistencia los fármacos análogos a nucleósidos¹⁵² y una menor supervivencia en las cohortes de LMA^{142,153}. Se han estudiado varios SNPs de *NT5C2* en pacientes con LMA^{35,140,147}, pero solo un estudio los asoció a menores tasas de supervivencia³⁵. El

polimorfismo *NT5C2* rs11598702 no se ha analizado en pacientes con LMA, aunque dos estudios relacionaron este SNP con diferencias interindividuales en la PK de gemcitabina, mostrando un mayor aclaramiento con alelo variante^{246,247}. En nuestra cohorte detectamos una mayor toxicidad hepática con el alelo menor de *NT5C2* rs11598702. En humanos, la citarabina se metaboliza principalmente en el hígado, por lo tanto, un mayor aclaramiento podría explicar la toxicidad observada en nuestra cohorte. Además, después de incluir todos los SNPs en el análisis multivariante, obtuvimos una asociación nueva del alelo variante de *NT5C2* rs11598702 con mayor neurotoxicidad, asociación nunca antes descrita con *NT5C2*.

Analizamos 6 polimorfismos relacionados con la citotoxicidad de citarabina que habían sido descritos por primera vez por Gamazon *et al.* en un metaanálisis de GWAS en 523 líneas celulares linfoblastoides (LCL) que analizó su asociación con las variables clínicas en cohorte pediátrica de 232 niños con LMA¹⁸³.

El estudio previo¹⁸³ correlacionó con los alelos variantes de rs12036333 y rs10758713 menor SG y mayor citotoxicidad inducida por citarabina, así como mayor TRM con la variante rs12036333. Estos hallazgos se reprodujeron en nuestra cohorte, con tasas de supervivencia más bajas a los 5 años, específicamente menor SLE y SLR con rs12036333 y menor SLR con rs10758713. Los genes en los que se ubican estos SNPs continúan siendo desconocidos. Sin embargo, los resultados *in vitro* e *in vivo* de ambos estudios respaldan el papel relevante de estos polimorfismos en la eficacia de la citarabina.

El gen del receptor nuclear ***NR1D2*** está flanqueado por los polimorfismos rs9883101 y rs6550826. *NR1D2* codifica un represor transcripcional que influye en los ritmos circadianos y el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Gamazon *et al.* observó con estos SNPs una mayor citotoxicidad inducida por citarabina y una TRM más alta. En concordancia, los alelos menores de estos dos SNPs se relacionaron con menores tasas de SG y SLR en nuestra cohorte. El papel que podrían desempeñar estos SNPs en el pronóstico y la terapia de la LMA sigue siendo desconocido.

El SNP rs2897047 se encuentra cerca del gen ***IRX2***, que codifica para un regulador transcripcional. La expresión de *IRX2* en pacientes pediátricos con LLA se correlacionó con menor EFS a los 5 años¹⁸⁴. En el estudio original¹⁸³, el alelo variante de este SNP se relacionó con menor SLE y EMR en el día 22. El resultado con este polimorfismo en nuestra cohorte fue el único discordante en comparación con el estudio original, obteniendo mayor SG con el genotipo heterocigoto. El efecto del

genotipo heterocigoto en los resultados de LMA en adultos debe confirmarse con estudios adicionales.

El gen **MCC** es un supresor de tumores que actúa como un regulador transcripcional de la vía NF-κB en las células colorrectales. Además, este gen podría estar involucrado en la resistencia a la citarabina¹⁸². En el estudio previo, alelos variantes de polimorfismos del **MCC** se asociaron con la sensibilidad a la citarabina *in vitro* y con mayor citotoxicidad inducida por citarabina. Estos resultados se correlacionaron con toxicidades *in vivo* en nuestra cohorte. El polimorfismo de **MCC** rs7729269 se asoció a mayor toxicidad renal, hepática, pulmonar y cutánea. Con respecto a las toxicidades hematológicas, se observaron tiempos más bajos de recuperación de trombocitopenia con portadores de alelo menor de **MCC** rs7729269.

También estamos explorando el análisis de las **combinaciones de varios SNPs** que participan en la misma vía. Cabe destacar las combinaciones entre polimorfismos transportadores de antraciclinas, concretamente las combinaciones entre los genotipos homocigoto salvaje de los transportadores de entrada (*SLCO1B1*, *SLC22A16*), que codifican una proteína transportadora funcional, con los genotipos homocigoto variante de los genes *ABC*, que producen una forma defectuosa de las bombas de eflujo. Estas combinaciones de SNPs aseguran la absorción de idarubicina en los tejidos e inhiben su expulsión por parte de las bombas *ABCB1*. Como mostramos en el abstract 2, estas combinaciones se asociaron a mayor toxicidad y muerte en la inducción, efectos ya observados previamente en el artículo 1 con los SNPs de *ABCB1*. Las interacciones SNP-SNP entre las bombas de la familia *ABC* y *SLCO1B1* se han estudiado con otros medicamentos, como irinotecan^{248,249} o estatinas^{250,251}, pero nunca antes con antraciclinas. Sí que hay estudios similares en LMA analizando combinaciones SNPs en transportadores y enzimas metabólicas de la ruta de citarabina^{138,139} y la con reparadores del ADN por escisión de nucleótidos¹⁷⁰. En un futuro próximo, queremos realizar análisis similares incluyendo tanto transportadores como enzimas de las vías de idarubicina y citarabina. Creemos, que los efectos de los polimorfismos combinados podrían desempeñar un papel crucial en la caracterización de la ruta de transporte y metabolismo de ambos fármacos, que involucra mecanismos PK y PD complejos. Además, estas combinaciones podrían mejorar el poder de detección de los efectos genéticos cuando cada SNP individual solo muestra un efecto menor que podría verse aumentado al combinarlo con otros SNPs.

Respecto a la validación de los resultados obtenidos en nuestra tesis, una aproximación en la que estamos trabajando es analizar el efecto de esos mismos

polimorfismos en los pacientes que tras la inducción iniciaron tratamiento de consolidación o intensificación. Se incluirán a aquellos pacientes tratados con esquemas basados en el empleo de citarabina, en muchas ocasiones empleada en monoterapia a altas dosis, e idarubicina. También se contempla la adicción de fludarabina a estos esquemas, fármaco con un perfil de metabolismo y toxicidades muy similar a la citarabina. Todavía no se ha completado la fase de recogida de datos, pero esperamos poder analizar y publicar estos resultados en los próximos años. Somos conscientes de que no se trata de una cohorte independiente, pero actualmente es difícil poder acceder a una muestra de pacientes similar a la analizada que esté tratada únicamente con citarabina e idarubicina, debido a la aparición en los últimos años de nuevas terapias dirigidas (inhibidores de FLT3, de IDH1 e IDH2, de BCL-2, etc.).

Aunque por lo general los resultados de nuestro estudio están respaldados con hallazgos previos, hay varias **limitaciones** que deben discutirse. En primer lugar, el diseño retrospectivo, que podría introducir algún tipo de sesgo de información, como el registro de las RAMs en las historias clínicas. En segundo lugar, la validez externa de los resultados, porque los pacientes son predominantemente caucásicos y carecemos de una cohorte de validación externa. En tercer lugar, el esquema de quimioterapia fue el mismo en todos los pacientes, pero el hecho de no emplear un agente único sino la combinación de idarubicina y citarabina, cuyas toxicidades pueden solaparse en algunos casos, pueden añadir factores de confusión e impedir obtener series de replicación adecuadas. Sin embargo, los principales hallazgos relacionados con los polimorfismos de las vías metabólicas de idarubicina o citarabina en este estudio ya se habían asociados previamente a los tratamientos a estos tratamientos. En cuarto lugar, hay diferencias en las dosis de antraciclinas en función de la edad, de manera que los pacientes jóvenes fueron tratados con dosis más altas de idarubicina y, por lo tanto, podría esperarse un mayor riesgo de toxicidad. Sin embargo, se sabe que estas toxicidades son más frecuentes y graves en pacientes de edad avanzada, y este hecho respalda el empleo habitual de regímenes de menor intensidad que en pacientes más jóvenes. Finalmente, los hallazgos obtenidos en nuestra cohorte son relevantes y generan hipótesis innovadoras en pacientes con LMA, pero deben validarse en una cohorte independiente de pacientes antes de poder aplicarse en la práctica clínica. Lo ideal sería que los estudios futuros para probar la validez, confiabilidad y beneficio clínico de los polimorfismos realizar ensayos clínicos aleatorizados prospectivos en poblaciones más grandes y que involucren diferentes grupos étnicos y de edad. Desgraciadamente este tipo de ensayos son poco

habituales en PGt y requieren de un elevado número de muestras y muchos recursos económicos y materiales, a los que pocos grupos de investigación de carácter independiente tienen acceso.

El servicio de Hematología y Hemoterapia se encuentra inmerso en un gran proyecto para el estudio de la sensibilidad *ex vivo* de las células leucémicas a distintos tratamientos antineoplásicos y sus combinaciones, en el que también hemos colaborado. Hasta la fecha, se han publicado tres artículos en el campo de la LMA²⁰⁻²², el último de ellos incluido en el Anexo 6²², que han demostrado una buena sensibilidad y especificidad para predecir la respuesta a los fármacos. Estos estudios en un futuro se podrían complementar con los estudios de polimorfismos, que al analizar el transporte y metabolismo de los fármacos en los diferentes tejidos, efecto que se pierde al analizar únicamente los blastos de forma aislada.

También tenemos en marcha nuevos proyectos que implicaran el empleo de diferentes esquemas de quimioterapia en LMA, como la beca post-residencia concedida en 2019 a Antonio Solana, que dirige Pau Montesinos y en la que yo también participo, que busca identificar de biomarcadores asociados a la efectividad y toxicidad de los inhibidores de FLT3 en pacientes con LMA. En este proyecto va a analizar si existe una relación entre los SNPs de los genes *CYP3A4*, *CYP2C19*, *ABCC2*, y *ABCB1*, entre otros, y las concentraciones plasmáticas alcanzadas por los inhibidores de FLT3, así como su relación con la efectividad y toxicidad de estos tratamientos. De igual manera, actualmente estoy trabajando en diversos proyectos encaminados a fomentar la farmacoterapia personalizada en Hematología, concretamente en el campo de las coagulopatías congénitas. Estos trabajos incluyen tanto el estudio de la PK de los factores VIII y IX, el desarrollo de modelos PK poblacionales y el estudio de la influencia de la PGt en la PK del factor VIII.

8. CONCLUSIONES

Conclusión global:

Nuestros resultados soportan que la variabilidad genética en los genes implicados en el transporte y metabolismo de antraciclinas y citarabina influyen en la efectividad y seguridad del tratamiento de inducción estándar en pacientes adultos con LMA.

Conclusiones específicas:**A. Sobre la Farmacogenética de las ANTRACICLINAS**

1. Observamos correlaciones significativas entre los alelos variantes de *ABCB1* y mayor toxicidad inducida por antraciclinas y muerte en inducción, asociaciones descritas previamente.
2. Se describe por primera vez asociaciones entre *ABCG2* y las toxicidades cardíacas y pulmonares, y *ABCC1* y la toxicidad hepática grave, relaciones que son factibles, ya que los tejidos afectados expresan dichos genes.
3. Los polimorfismos en genes de enzimas metabolizadoras afectan principalmente a la toxicidad. Así, los polimorfismos de *NQO2* con menor RC y mayor toxicidad gastrointestinal, de *NQO1* con mucositis, toxicidad gastrointestinal y trombocitopenia, *CBR3* con toxicidad hepática, y *NOS3* con toxicidades renal, hepática y trombocitopenia.
4. La variabilidad genética de NADPH oxidasa (*CYBA*, *NCF4*, *RAC2*) demostró afectar tanto a la respuesta (RC y SG) como a la seguridad (toxicidad cardíaca) de las antraciclinas, afectando a la producción de ROS, el principal mecanismo antitumoral de las antraciclinas.

B. Sobre la Farmacogenética de la CITARABINA

5. Respecto a la eficacia, los polimorfismos de la vía metabólica de la citarabina mostraron una gran influencia la eficacia del tratamiento, destacando las asociaciones de SNPs de *CDA* con la RC y la supervivencia, de *DCK* con la RC y de *RRM1* con la supervivencia.
6. Respecto a la toxicidad, los SNPs de *DCK*, *CDA* y *NT5C2* se asociaron con toxicidades inducidas por el fármaco.
7. Confirmamos en población adulta con LMA los resultados previos obtenidos en población pediátrica con SNPs relacionados con la citotoxicidad de

citarabina (gen desconocido), sobretodo la influencia en la supervivencia. Además, se han detectado nuevas asociaciones con las toxicidades de citarabina.

Consideración General:

Todos los hallazgos obtenidos en nuestra cohorte deben validarse en una cohorte independiente con mayor número de pacientes que incluya distintas etnias y grupos de edad.

9. ANEXOS

DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Don Serafín Rodríguez Capellán, Secretario del Comité Ético de Investigación Biomédica del Hospital Universitario y Politécnico La Fe,

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado en su sesión de fecha **10 de diciembre de 2013**, el Proyecto de Investigación titulado **"ESTUDIO FARMACOGENÉTICO DE LOS POLIMORFISMOS DE TRANSPORTE Y METABOLISMO RELACIONADOS CON EL TRATAMIENTO DE LA LEUCEMIA MIELOBLÁSTICA AGUDA."**, con nº de registro **2013/0331**.

Que dicho proyecto se ajusta a las normativas éticas sobre investigación biomédica con sujetos humanos y es viable en cuanto al planteamiento científico, objetivos, material y métodos, etc, descritos en la solicitud, así como la Hoja de Información al Paciente y el Consentimiento Informado.

En consecuencia este Comité acuerda emitir **INFORME FAVORABLE** de dicho Proyecto de Investigación que será realizado en el Hospital Universitario y Politécnico La Fe por el/la **Dr. / Dra. MIGUEL ÁNGEL SANZ ALONSO** del servicio de **HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA** como Investigador Principal.

Miembros del CEIB:

Presidente:

Dr. JUAN SALOM SANVALERO (Unidad de Circulación Cerebral Experimental)

Vicepresidente:

Dr. JOSE VICENTE CERVERA ZAMORA (Hematología)

Secretario:

D. SERAFIN RODRIGUEZ CAPELLAN (Asesor jurídico)

Miembros:

Dr. SALVADOR ALIÑO PELLICER (Catedrático Farmacólogo Clínico)
Dra. BELEN BELTRAN NICLOS (Medicina Digestiva)
Dra. INMACULADA CALVO PENADES (Reumatología Pediátrica)
Dr. JOSE VICENTE CASTELL RIPOLL (Director de Investigación)
Dra. REMEDIOS CLEMENTE GARCIA ((Medicina Intensiva) (Miembro CBA))
Dra. MARIA JOSE GOMEZ-LECHON MOLINER (Investigadora del Grupo Acreditado en Hepatología Experimental)
Dr. RAMIRO JOVER ATIENZA (Doctor en biología-Universidad de Valencia- Unidad de Bioquímica y Biología Molecular)
Dr. FRANCISCO PEGAN GARCIA (Investigador del Grupo Acreditado multidisciplinar para el estudio de la infección Grave)
Dr. ALFREDO PERALES MARIN (Jefe de Servicio - Obstetricia)
Dr. JOSE LUIS PONCE MARCO ((Unidad de Cirugía Endocrino Metabólica)
Dr. JOSE LUIS VICENTE SANCHEZ (Jefe de sección-Unidad de Reanimación)



- Dra. PILAR SAENZ GONZALEZ (Neonatología)
- Dr. MELCHOR HOYOS GARCIA (Gerente del Departamento de salud nº 7-La Fe)
- Dra. BEGOÑA POLO MIQUEL ((Gastroenterología Pediátrica)
- Dr. ISIDRO VITORIA MIÑANA (Pediatria)
- Dra. EUGENIA PAREJA IBARS (Unidad de Cirugía y Trasplante Hepático)
- Dr. JAIME SANZ CABALLER (Investigador del Grupo Acreditado en Hematología y Hemoterapia)
- Dra. MARIA LUISA MARTINEZ TRIGUERO (Análisis Clínicos)
- Dra. MARIA TORDERA BAVIERA (Farmacéutica del Hospital)
- Dr. JESUS DELGADO OCHANDO (Diplomado en Enfermería) (Miembro Comisión de Investigación))
- Dr. JOSE MULLOR SANJOSE (Investigador del Grupo de Investigación Traslacional en Enfermedades Neurosensoriales)
- Dr. JOSE ANTONIO AZNAR LUCEA (Jefe de Unidad - Hemostasia y Trombosis)
- Dr. ENRIQUE VIOSCA HERRERO (Jefe de Servicio - Medicina Física y Rehabilitación)
- Dr. RAFAEL BOTELLA ESTRADA (Dermatología)

Lo que firmo en Valencia, a 10 de diciembre de 2013



Fdo.: Don Serafín Rodríguez Capellán
Secretario del Comité Ético de Investigación Biomédica

10. REFERENCIAS

1. Löwenberg B, Downing JR, Burnett A. Acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 1999;341(14):1051–1062.
2. Estey E, Döhner H. Acute myeloid leukaemia. *Lancet*. 2006;368(9550):1894–1907.
3. Parkin DM, Ferlay J, Whelan SL, Storm HH. *Cancer Incidence in Five Continents* Diamond Pocket Books. 2005 (P) Ltd.
4. Döhner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129(4):424-7.
5. O'Donnell MR, Tallman MS, Abboud CN, et al. Acute Myeloid Leukemia, Version 3.2017, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2017; 15:926-57.
6. Sanz MA, Montesinos P. Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA). Máster Propio en Oncología Farmacéutica (7ª edición). Unidad 10, apartado 2. 2018
7. Huntly B, Gilliland G. Pathobiology of acute myeloid leukemia. *Hematology. Basic principles and practice*. 4th edition 2005, Chapter 59:1057-1069.
8. Miller KB, Daoust PhR. Clinical manifestations of acute myeloid leukemia. *Hematology. Basic principles and practice*. 4th edition 2005, Chapter 60:1071-1097.
9. San Miguel JF, Vidriales MB, López-Berges C, et al. Early immunophenotypical evaluation of minimal residual disease in acute myeloid leukemia identifies different patient risk groups and may contribute to postinduction treatment stratification. *Blood*. 2001;98(6):1746–1751
10. Venditti A, Buccisano F, Del Poeta G, et al. Level of minimal residual disease after consolidation therapy predicts outcome in acute myeloid leukemia. *Blood*. 2000;96(12):3948–3952.
11. Fröhling S, Schlenk RF, Breitnick J, et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood*. 2002;100(13):4372–4380.
12. Falini B, Mecucci C, Saglio G, et al. NPM1 mutations and cytoplasmic nucleophosmin are mutually exclusive of recurrent genetic abnormalities: a

- comparative analysis of 2562 patients with acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2008;93(3):439–442.
13. Schlenk RF, Döhner K. Impact of new prognostic markers in treatment decisions in acute myeloid leukemia. *Curr Opin Hematol*. 2009;16(2):98–104.
 14. Schlenk RF, Döhner K, Krauter J, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2008;358(18):1909–1918.
 15. Pfizer SL. Citarabina, Ficha técnica. 2017. Disponible en AEMPS: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/49154/FichaTecnica_49154.html
 16. Pfizer SL. Zavedos, Ficha técnica. 2018. Disponible en AEMPS: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/60071/FT_60071.html
 17. Brennan TA, Leape LL, Laird NM, et al. Incidence of adverse events and negligence in hospitalized patients: results of the Harvard Medical Practice Study I. 1991. *Qual Saf Health Care* 2004;13(2):145-51; discussion 151-2.
 18. Aranaz-Andrés JM, Aibar-Remón C, Vitaller-Murillo J, Ruiz-López P, Limón-Ramírez R, Terol-García E. Incidence of adverse events related to health care in Spain: results of the Spanish National Study of Adverse Events. *J Epidemiol Community Health*. 2008;62(12):1022-9.
 19. Poveda Andrés JL, Bosó Ribelles V. La personalización de la farmacoterapia. En: *Medicina Personalizada. Aspectos científicos, bioéticos y jurídicos*. Madrid: Fundación Salud 2000; 2014. p. 190.
 20. Bennett TA, Montesinos P, Moscardo F, et al. Pharmacological profiles of acute myeloid leukemia treatments in patient samples by automated flow cytometry: a bridge to individualized medicine. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014; 14:305-318.
 21. Martínez-Cuadrón D, Gil C, Serrano J, et al. A precision medicine test predicts clinical response after idarubicin and cytarabine induction therapy in AML patients. *Leuk Res*. 2019;76:1-10.
 22. Megías-Vericat JE, Martínez-Cuadrón D, Martínez López J, et al. Differences in ex-vivo chemosensitivity to anthracyclines in first line acute myeloid leukemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2019; 1;11(1):e2019016.
 23. Daly AK. Pharmacogenetics and human genetic polymorphisms. *Biochem J*. 2010;429(3):435-49.

24. Arnedo M, Baiget M, Jané F, et al. Aplicacions de la Farmacogenètica en la prevenció d'efectes adversos i en l'optimització i millora de l'eficàcia terapèutica. Barcelona: 2013.
25. Deenen MJ, Cats A, Beijnen JH, Schellens JHM. Part 1: background, methodology, and clinical adoption of pharmacogenetics. *Oncologist* 2011;16(6):811-9.
26. Megías-Vericat JE, Montesinos P, Herrero MJ, Bosó V, Martínez-Cuadrón D, Poveda JL, Sanz MÁ, Aliño SF. Pharmacogenomics and the treatment of acute myeloid leukemia. *Pharmacogenomics*. 2016; 17(11):1245-1272.
27. Megías-Vericat JE, Martínez-Cuadrón D, Herrero MJ, Aliño SF, Poveda JL, Sanz MÁ, Montesinos P. Pharmacogenetics of metabolic genes of anthracyclines in acute myeloid leukemia. *Curr Drug Metab*. 2018;19(1):55-74.
28. Visscher H, Ross CJ, Rassekh SR, et al. Pharmacogenomic prediction of anthracycline-induced cardiotoxicity in children. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1422-1428.
29. Visscher H, Ross CJ, Rassekh SR, et al. Validation of variants in SLC28A3 and UGT1A6 as genetic markers predictive of anthracycline-induced cardiotoxicity in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2013;60(8):1375–1381
30. Zeller T, Wild P, Szymczak S, et al. Genetics and beyond--the transcriptome of human monocytes and disease susceptibility. *PLoS One*. 2010;5(5):e10693.
31. Dimas AS, Deutsch S, Stranger BE, et al. Common regulatory variation impacts gene expression in a cell type-dependent manner. *Science*. 2009, 325 (5945):1246-1250.
32. Reichwagen A, Ziepert M, Kreuz M, et al. Association of NADPH oxidase polymorphisms with anthracycline-induced cardiotoxicity in the RICOVER-60 trial of patients with aggressive CD20(+) B-cell lymphoma. *Pharmacogenomics* 2015; 16: 361-372.
33. Wojnowski L, Kulle B, Schirmer M, et al. NAD(P)H oxidase and multidrug resistance protein genetic polymorphisms are associated with doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Circulation* 2005; 112: 3754-3762.
34. Vulsteke C, Pfeil AM, Maggen C, et al. Clinical and genetic risk factors for epirubicin-induced cardiac toxicity in early breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2015; 152: 67-76

35. Yee SW, Mefford JA, Singh N, et al. Impact of polymorphisms in drug pathway genes on disease-free survival in adults with acute myeloid leukemia. *J. Hum. Genet.* 2013, 58 (6): 353-361.
36. Visscher H, Rassekh SR, Sandor GS, et al. Genetic variants in SLC22A17 and SLC22A7 are associated with anthracycline induced cardiotoxicity in children. *Pharmacogenomics.* 2015, 16 (10): 1–12.
37. Lal S, Wong ZW, Jada SR, et al. Novel SLC22A16 polymorphisms and influence on doxorubicin pharmacokinetics in Asian breast cancer patients. *Pharmacogenomics.* 2007, 8 (6): 567-575.
38. Bray J, Sludden J, Griffin MJ, et al. Influence of pharmacogenetics on response and toxicity in breast cancer patients treated with doxorubicin and cyclophosphamide. *Br J Cancer.* 2010;102(6):1003–1009
39. Lee HH, Leake BF, Kim RB, Ho RH. Contribution of Organic Anion-Transporting Polypeptides 1A/1B to Doxorubicin Uptake and Clearance. *Mol Pharmacol.* 2017;91(1):14–24.
40. Niemi M, Pasanen MK, Neuvonen PJ. Organic Anion Transporting Polypeptide 1B1: a Genetically Polymorphic Transporter of Major Importance for Hepatic Drug Uptake. *Pharmacol Rev.* 2011;63(1):157-181.
41. Iacobucci I, Lonetti A, Candoni A, et al. Profiling of drug-metabolizing enzymes/transporters in CD33+ acute myeloid leukemia patients treated with Gemtuzumab-Ozogamicin and Fludarabine, Cytarabine and Idarubicin. *Pharmacogenomics J.* 2012;13(4):335-341.
42. Varatharajan S, Panetta JC, Abraham A, et al. Population pharmacokinetics of Daunorubicin in adult patients with acute myeloid leukemia. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2016;78(5):1051–1058.
43. Kim YK, Bae SY, Kim HN, et al. Prognostic Impact of DNA Repair and MDR-1 Gene Polymorphisms In De Novo Acute Myeloid Leukemia with t(8;21) or Inv(16). *Blood.* 2010, 116 (21):1714.
44. Monzo M, Brunet S, Urbano-Ispizua A, et al. CETLAM. Genomic polymorphisms provide prognostic information in intermediate-risk acute myeloblastic leukemia. *Blood.* 2006;107(12):4871–4879.
45. van den Heuvel-Eibrink MM, Wiemer EA, de Boevere MJ, et al. MDR1 gene-related clonal selection and P-glycoprotein function and expression in relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood.* 2001;97(11):3605–3611

46. Illmer T, Schuler US, Thiede C, et al. MDR1 gene polymorphisms affect therapy outcome in acute myeloid leukemia patients. *Cancer Res.* 2002;62(17):4955-4962.
47. Kim DH, Park JY, Sohn SK, et al. Multidrug resistance-1 gene polymorphisms associated with treatment outcomes in de novo acute myeloid leukemia. *Int J Cancer.* 2006, 118 (9):2195-2201.
48. van der Holt B, Van den Heuvel-Eibrink MM, Van Schaik RH, et al. ABCB1 gene polymorphisms are not associated with treatment outcome in elderly acute myeloid leukemia patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2006, 80(5):427-439.
49. Kim YK, Kim HN, Lee IK, et al. Prognostic Significance of ABCB1 (MDR1) Gene Polymorphisms in De Novo Acute Myeloid Leukemia with t(8;21) or inv(16). *Blood.* 2007, 110 (11): 4271.
50. Hur EH, Lee JH, Lee MJ, et al. C3435T polymorphism of the MDR1 gene is not associated with P-glycoprotein function of leukemic blasts and clinical outcome in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Res.* 2008, 32 (10): 1601-1604.
51. Hampras SS, Sucheston L, Weiss J, et al. Genetic polymorphisms of ATP-binding cassette (ABC) proteins, overall survival and drug toxicity in patients with Acute Myeloid Leukemia. *Int J Mol Epidemiol Genet.* 2010, 1 (3): 201-207.
52. Gréen H, Falk IJ, Lotfi K, et al. Association of ABCB1 polymorphisms with survival and in vitro cytotoxicity in de novo acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Pharmacogenomics J.* 2012;12(2):111-118.
53. Scheiner MA, da Cunha Vasconcelos F, da Matta RR, et al. ABCB1 genetic variation and P-glycoprotein expression/activity in a cohort of Brazilian acute myeloid leukemia patients. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012, 138 (6): 959-969.
54. Jakobsen Falk I, Fyrberg A, Paul E, et al. Impact of ABCB1 single nucleotide polymorphisms 1236C>T and 2677G>T on overall survival in FLT3 wild-type de novo AML patients with normal karyotype. *Br J Haematol.* 2014;167(5):671-680.
55. He H, Yin J, Li X, et al. Association of ABCB1 polymorphisms with prognostic outcomes of anthracycline and cytarabine in Chinese patients with acute myeloid leukemia. *Eur J Clin Pharmacol.* 2015;71(3):293-302.
56. Seedhouse CH, Grundy M, White P, et al. Sequential influences of leukemia-specific and genetic factors on p-glycoprotein expression in blasts from 817 patients entered into the National Cancer Research Network acute myeloid leukemia 14 and 15 trials. *Clin Cancer Res.* 2007;13(23):7059–7066.

57. Lamba J, Strom S, Venkataramanan R, et al. MDR1 genotype is associated with hepatic cytochrome P450 3A4 basal and induction phenotype. *Clin Pharmacol Ther.* 2006;79(4):325–338.
58. Megías-Vericat JE, Rojas L, Herrero MJ, et al. Influence of ABCB1 polymorphisms upon the effectiveness of standard treatment for acute myeloid leukemia: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Pharmacogenomics J.* 2015, 15 (2), 109-118.
59. Megías-Vericat JE, Rojas L, Herrero MJ, et al. Positive impact of ABCB1 polymorphisms in overall survival and complete remission in acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenomics J.* 2016, 16 (1), 1-2.
60. Lubieniecka JM, Graham J, Heffner D, et al. A discovery study of daunorubicin induced cardiotoxicity in a sample of acute myeloid leukemia patients prioritizes P450 oxidoreductase polymorphisms as a potential risk factor. *Front Genet.* 2013;4:231.
61. Hertz DL, Caram MV, Kidwell KM, et al. Evidence for association of SNPs in ABCB1 and CBR3, but not RAC2, NCF4, SLC28A3 or TOP2B, with chronic cardiotoxicity in a cohort of breast cancer patients treated with anthracyclines. *Pharmacogenomics.* 2016;17(3):231–240.
62. Rossi D, Rasi S, Franceschetti S, et al. Analysis of the host pharmacogenetic background for prediction of outcome and toxicity in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP21. *Leukemia.* 2009;23(6):1118–1126.
63. Armenian SH, Ding Y, Mills G, et al. Genetic susceptibility to anthracycline-related congestive heart failure in survivors of haematopoietic cell transplantation. *Br J Haematol.* 2013; 163: 205-213.
64. Aminkeng F, Bhavsar AP, Visscher H, et al. A coding variant in RARG confers susceptibility to anthracycline-induced cardiotoxicity in childhood cancer. *Nat Genet.* 2015;47(9):1079–1084.
65. Windsor RE, Strauss SJ, Kallis C, Wood NE, Whelan JS. Germline genetic polymorphisms may influence chemotherapy response and disease outcome in osteosarcoma: a pilot study. *Cancer.* 2012; 118: 1856-1867.
66. Krajcinovic M, Elbared J, Drouin S, et al. Polymorphisms of ABCC5 and NOS3 genes influence doxorubicin cardiotoxicity in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pharmacogenomics J.* 2016;16(6):530–535.

67. Semsei AF, Erdelyi DJ, Ungvari I, et al. ABCC1 polymorphisms in anthracycline-induced cardiotoxicity in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Cell Biol Int*. 2012;36(1):79–86.
68. Wang X, Liu W, Sun CL, et al. Hyaluronan synthase 3 variant and anthracycline-related cardiomyopathy: a report from the children's oncology group. *J Clin Oncol*. 2014;32(7):647–653.
69. Müller P, Asher N, Heled M, et al. Polymorphisms in transporter and Phase II metabolism genes as potential modifiers of the predisposition to and treatment outcome of de novo acute myeloid leukemia in Israeli ethnic groups. *Leuk Res*. 2008, 32 (6), 919–929.
70. Tiribelli M, Geromin A, Michelutti A, et al. Concomitant ABCG2 overexpression and FLT3-ITD mutation identify a subset of acute myeloid leukemia patients at high risk of relapse. *Cancer*. 2011;117(10):2156–2162.
71. Wang F, Liang YJ, Wu XP, et al. Prognostic value of the multidrug resistance transporter ABCG2 gene polymorphisms in Chinese patients with de novo acute leukaemia. *Eur J Cancer*. 2011, 47(13):1990-1999.
72. Tiribelli M, Fabbro D, Franzoni A, et al. Q141K polymorphism of ABCG2 protein is associated with poor prognosis in adult acute myeloid leukemia treated with idarubicin-based chemotherapy. *Haematologica*. 2013, 98 (3), e28-9.
73. Edwardson DW, Narendrula R, Chewchuk S, Mispel-Beyer K, Mapletoft JP, Parissenti AM. Role of Drug Metabolism in the Cytotoxicity and Clinical Efficacy of Anthracyclines. *Curr Drug Metab*. 2015;16(6):412–426.
74. Lal S, Mahajan A, Chen WN, Chowbay B. Pharmacogenetics of target genes across doxorubicin disposition pathway: a review. *Curr Drug Metab*. 2010;11(1):115–128.
75. Kassner N, Huse K, Martin HJ, et al. Carbonyl reductase 1 is a predominant doxorubicin reductase in the human liver. *Drug Metab Dispos*. 2008;36(10):2113–2120.
76. Bains OS, Karkling MJ, Lubieniecka JM, Grigliatti TA, Reid RE, Riggs KW. Naturally occurring variants of human CBR3 alter anthracycline in vitro metabolism. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010;332(3):755–763.
77. Bains OS, Karkling MJ, Grigliatti TA, Reid RE, Riggs KW. Two nonsynonymous single nucleotide polymorphisms of human carbonyl reductase 1 demonstrate

- reduced in vitro metabolism of daunorubicin and doxorubicin. *Drug Metab Dispos.* 2009;37(5):1107–1114.
78. Gonzalez-Covarrubias V, Ghosh D, Lakhman SS, Pendyala L, Blanco JG. A functional genetic polymorphism on human carbonyl reductase 1 (CBR1 V88I) impacts on catalytic activity and NADPH binding affinity. *Drug Metab Dispos.* 2007;35(6):973–980.
 79. Gonzalez-Covarrubias V, Zhang J, Kalabus JL, Relling MV, Blanco JG. Pharmacogenetics of human carbonyl reductase 1 (CBR1) in livers from black and white donors. *Drug Metab Dispos.* 2009;37(2):400–407.
 80. Lubieniecka JM, Liu J, Heffner D, et al. Single-nucleotide polymorphisms in aldo-keto and carbonyl reductase genes are not associated with acute cardiotoxicity after daunorubicin chemotherapy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21(11):2118–2120.
 81. Lal S, Sandanaraj E, Wong ZW, et al. CBR1 and CBR3 pharmacogenetics and their influence on doxorubicin disposition in Asian breast cancer patients. *Cancer Sci.* 2008;99(10):2045–2054.
 82. Blanco JG, Sun CL, Landier W, et al. Anthracycline-related cardiomyopathy after childhood cancer: role of polymorphisms in carbonyl reductase genes--a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol.* 2012;30(13):1415–1421.
 83. Lakhman SS, Ghosh D, Blanco JG. Functional significance of a natural allelic variant of human carbonyl reductase 3 (CBR3). *Drug Metab Dispos.* 2005;33(2):254–257.
 84. Fan L, Goh BC, Wong CI, et al. Genotype of human carbonyl reductase CBR3 correlates with doxorubicin disposition and toxicity. *Pharmacogenet Genomics.* 2008;18(7):621–631.
 85. Blanco JG, Leisenring WM, Gonzalez-Covarrubias VM, et al. Genetic polymorphisms in the carbonyl reductase 3 gene CBR3 and the NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 gene NQO1 in patients who developed anthracycline-related congestive heart failure after childhood cancer. *Cancer.* 2008;112(12):2789–2795.
 86. Volkan-Salanci B, Aksoy H, Kiratli PÖ, et al. The relationship between changes in functional cardiac parameters following anthracycline therapy and carbonyl reductase 3 and glutathione S transferase Pi polymorphisms. *J Chemother.* 2012;24(5):285–291.

87. Choi JY, Barlow WE, Albain KS, et al. Nitric oxide synthase variants and disease-free survival among treated and untreated breast cancer patients in a Southwest Oncology Group clinical trial. *Clin Cancer Res.* 2009;15(16):5258–5266.
88. Hofman J, Malcekova B, Skarka A, Novotna E, Wsol V. Anthracycline resistance mediated by reductive metabolism in cancer cells: the role of aldo-keto reductase 1C3. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2014;278(3):238–248.
89. O'connor T, Ireland LS, Harrison DJ, Hayes JD. Major differences exist in the function and tissue-specific expression of human aflatoxin B1 aldehyde reductase and the principal human aldo-keto reductase AKR1 family members. *Biochem J.* 1999;343 Pt 2(Pt 2):487–504.
90. Nohl H, Gille L, Staniek K. The exogenous NADH dehydrogenase of heart mitochondria is the key enzyme responsible for selective cardiotoxicity of anthracyclines. *Z Naturforsch C J Biosci.* 1998;53(3-4):279–285.
91. Krajcinovic, M. Further insight into the role of NQO1 in childhood leukemia. *Haematologica.* 2005, 90 (11):1445.
92. Barragan E, Collado M, Cervera J, et al. The GST deletions and NQO1*2 polymorphism confers interindividual variability of response to treatment in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Res.* 2007;31(7):947–953.
93. Kim YK, Kim HJ, Min WS, et al. Prognostic Significance of NQO1 Polymorphism and GST-M1 Deletion in De Novo Acute Myeloid Leukemia. *Blood.* 2008; 112 (11): 4846.
94. Naoe T, Tagawa Y, Kiyoi H, et al. Prognostic significance of the null genotype of glutathione S-transferase-T1 in patients with acute myeloid leukemia: increased early death after chemotherapy. *Leukemia.* 2002;16(2):203–208.
95. Buda G, Maggini V, Galimberti S, Barale R, Rossi AM, Petrini M. NQO1*2 polymorphism and response to treatment in patients with multiple myeloma. *Leuk Res.* 2007;31(8):1029–1030.
96. Geng R, Chen Z, Zhao X, et al. Oxidative stress-related genetic polymorphisms are associated with the prognosis of metastatic gastric cancer patients treated with epirubicin, oxaliplatin and 5-fluorouracil combination chemotherapy. *PLoS One.* 2014;9(12):e116027.
97. Fagerholm R, Hofstetter B, Tommiska J, et al. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 NQO1*2 genotype (P187S) is a strong prognostic and predictive factor in breast cancer. *Nat Genet.* 2008;40(7):844–853.

98. Hubackova M, Vaclavikova R, Ehrlichova M, et al. Association of superoxide dismutases and NAD(P)H quinone oxidoreductases with prognosis of patients with breast carcinomas. *Int J Cancer*. 2012;130(2):338–348.
99. Lajin B, Alachkar A. The NQO1 polymorphism C609T (Pro187Ser) and cancer susceptibility: a comprehensive meta-analysis. *Br J Cancer*. 2013;109(5):1325–1337.
100. Cummings J, Allan L, Willmott N, Riley R, Workman P, Smyth JF. The enzymology of doxorubicin quinone reduction in tumour tissue. *Biochem Pharmacol*. 1992;44(11):2175–2183.
101. Sofowora G, Dishy V, Xie HG, et al. In-vivo effects of Glu298Asp endothelial nitric oxide synthase polymorphism. *Pharmacogenetics*. 2001;11(9):809–814.
102. Krajinovic M, Robaey P, Chiasson S, et al. Polymorphisms of genes controlling homocysteine levels and IQ score following the treatment for childhood ALL. *Pharmacogenomics*. 2005;6(3):293–302.
103. Siripin D, Fucharoen S, Tanyong DI. Nitric oxide and caspase 3 mediated cytokine induced apoptosis in acute leukemia. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2011;29(1):102–111.
104. He H, Xu YJ, Yin JY, et al. Association of nitric oxide synthase 3 (NOS3) 894 G>T polymorphism with prognostic outcomes of anthracycline in Chinese patients with acute myeloid leukaemia. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2014;41(6):400–407.
105. Niitsu N, Kasukabe T, Yokoyama A, et al. Anticancer derivative of butyric acid (Pivalyloxymethyl butyrate) specifically potentiates the cytotoxicity of doxorubicin and daunorubicin through the suppression of microsomal glycosidic activity. *Mol Pharmacol*. 2000;58(1):27–36.
106. Voso MT, D'Alo' F, Gumiero D, Guidi F, Hohaus S, Leone G. The CYP1A1*2a allele is an independent prognostic factor for acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2005;90(7):982–984.
107. Alazhary NM, Shafik RE, Shafik HE, Kamel MM. Prognostic Value of a CYP2B6 Gene Polymorphism in Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(11):4583–4587.
108. Wang N, Han JL, Mi YC, et al. [Relationships between the gene polymorphisms of drug metabolizing enzymes and the outcome of the first induction

- chemotherapy in patients with de novo acute myeloid leukemia]. [Article in Chinese]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2011, 19 (2): 327-331.
109. Zhang J, Yin L, Liang G, Liu R, Fan K, Pu Y. Detection of CYP2E1, a genetic biomarker of susceptibility to benzene metabolism toxicity in immortal human lymphocytes derived from the Han Chinese Population. *Biomed Environ Sci*. 2011;24(3):300–309.
 110. Birley AJ, James MR, Dickson PA, et al. ADH single nucleotide polymorphism associations with alcohol metabolism in vivo. *Hum Mol Genet*. 2009;18(8):1533–1542.
 111. L'Ecuyer T, Allebban Z, Thomas R, Vander Heide R. Glutathione S-transferase overexpression protects against anthracycline-induced H9C2 cell death. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286(6):H2057–H2064.
 112. Voso MT, D'Alo' F, Putzulu R, et al. Negative prognostic value of glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) deletions in adult acute myeloid leukemia. *Blood*. 2002;100(8):2703–2707.
 113. Zhang Y, Yang L, Li R, et al. [The effects of glutathione S-transferase (GSTT1 and GSTM1) genes polymorphisms on treatment efficacy and prognosis of acute myeloid leukemia]. [Article in Chinese]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. 2006, 45 (3): 213-216.
 114. Xiao Z, Yang L, Xu Z, et al. Glutathione S-transferases (GSTT1 and GSTM1) genes polymorphisms and the treatment response and prognosis in Chinese patients with de novo acute myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2008;32(8):1288–1291.
 115. Lee HS, Lee JH, Hur EH, et al. Clinical significance of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in younger patients with acute myeloid leukemia of intermediate-risk cytogenetics. *Leuk Res*. 2009;33(3):426–433.
 116. Autrup JL, Hokland P, Pedersen L, Autrup H. Effect of glutathione S-transferases on the survival of patients with acute myeloid leukaemia. *Eur J Pharmacol*. 2002;438(1-2):15–18.
 117. Mossallam GI, Abdel Hamid TM, Samra MA. Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in adult acute myeloid leukemia; its impact on toxicity and response to chemotherapy. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2006;18(3):264–273.
 118. Weiss JR, Kopecky KJ, Godwin J, et al. Glutathione S-transferase (GSTM1, GSTT1 and GSTA1) polymorphisms and outcomes after treatment for acute

- myeloid leukemia: pharmacogenetics in Southwest Oncology Group (SWOG) clinical trials. *Leukemia*. 2006;20(12):2169–2171.
119. Voso MT, Hohaus S, Guidi F, et al. Prognostic role of glutathione S-transferase polymorphisms in acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2008;22(9):1685–1691.
 120. Nasr AS, Sami RM, Ibrahim NY, Darwish DO. Glutathione S transferase (GSTP 1, GSTM 1, and GSTT 1) gene polymorphisms in Egyptian patients with acute myeloid leukemia. *Indian J Cancer*. 2015;52(4):490–495.
 121. Bănescu C, Iancu M, Trifa AP, et al. From Six Gene Polymorphisms of the Antioxidant System, Only GPX Pro198Leu and GSTP1 Ile105Val Modulate the Risk of Acute Myeloid Leukemia. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:2536705.
 122. Davies SM, Robison LL, Buckley JD, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and outcome of chemotherapy in childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2001;19(5):1279–1287.
 123. Bhatla D, Gerbing RB, Alonzo TA, et al. DNA repair polymorphisms and outcome of chemotherapy for acute myelogenous leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Leukemia*. 2008;22(2):265–272.
 124. Xiao Q, Deng D, Li H, et al. GSTT1 and GSTM1 polymorphisms predict treatment outcome for acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Ann Hematol*. 2014;93(8):1381–1390.
 125. Emadi A, Karp JE. The clinically relevant pharmacogenomic changes in acute myelogenous leukemia. *Pharmacogenomics*. 2012;13(11):1257–1269.
 126. Shi JY, Ren ZH, Jiao B, et al. Genetic variations of DNA repair genes and their prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia. *Int J Cancer*. 2011;128(1):233–238.
 127. Vivenza D, Feola M, Garrone O, et al. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system and the glutathione S-transferase Mu, Pi and Theta gene polymorphisms in cardiotoxicity after anthracycline chemotherapy for breast carcinoma. *Int J Biol Markers*. 2013;28(4):e336–e347.
 128. Deng S, Wojnowski L. Genotyping the risk of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol* 2007; 7: 129-134.
 129. Cascales A, Pastor-Quirante F, Sánchez-Vega B, et al. Association of anthracycline-related cardiac histological lesions with NADPH oxidase functional polymorphisms. *Oncologist*. 2013;18(4):446–453.

130. Vulsteke C, Pfeil AM, Schwenkglens M, et al. Impact of genetic variability and treatment-related factors on outcome in early breast cancer patients receiving (neo-) adjuvant chemotherapy with 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide, and docetaxel. *Breast Cancer Res Treat.* 2014;147(3):557–570.
131. Gustafson HL, Yao S, Goldman BH, et al. Genetic polymorphisms in oxidative stress-related genes are associated with outcomes following treatment for aggressive B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Am J Hematol* 2014; 89: 639-645.
132. Rajić V, Aplenc R, Debeljak M, et al. Influence of the polymorphism in candidate genes on late cardiac damage in patients treated due to acute leukemia in childhood. *Leuk Lymphoma.* 2009;50(10):1693–1698.
133. Koistinen P, Ruuska S, Saily M, et al. An association between manganese superoxide dismutase polymorphism and outcome of chemotherapy in acute myeloid leukemia. *Haematologica.* 2006;91(6):829–832.
134. Sundaram M, Yao SY, Ingram JC, et al. Topology of a human equilibrative, nitrobenzylthioinosine (NBMPR)-sensitive nucleoside transporter (hENT1) implicated in the cellular uptake of adenosine and anti-cancer drugs. *J Biol Chem.* 2001;276(48):45270–45275.
135. Galmarini CM, Thomas X, Calvo F, et al. In vivo mechanisms of resistance to cytarabine in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol.* 2002;117(4):860–868.
136. Osato DH, Huang CC, Kawamoto M, et al. Functional characterization in yeast of genetic variants in the human equilibrative nucleoside transporter, ENT1. *Pharmacogenetics.* 2003;13(5):297–301.
137. Montero TD, Racordon D, Bravo L, Owen GI, Bronfman ML, Leisewitz AV. PPAR α and PPAR γ regulate the nucleoside transporter hENT1. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;419(2):405–411.
138. Kim KI, Huh IS, Kim IW, et al. Combined interaction of multi-locus genetic polymorphisms in cytarabine arabinoside metabolic pathway on clinical outcomes in adult acute myeloid leukaemia (AML) patients. *Eur J Cancer.* 2013;49(2):403–410.
139. Wan H, Zhu J, Chen F, et al. SLC29A1 single nucleotide polymorphisms as independent prognostic predictors for survival of patients with acute myeloid leukemia: an in vitro study. *J Exp Clin Cancer Res.* 2014;33(1):90.

140. Amaki J, Onizuka M, Ohmachi K, et al. Single nucleotide polymorphisms of cytarabine metabolic genes influence clinical outcome in acute myeloid leukemia patients receiving high-dose cytarabine therapy. *Int J Hematol.* 2015;101(6):543–553.
141. Seeringer A, Yi-Jing H, Schlenk R et al. Pharmacogenetic factors in metabolism, transport and toxicity of cytarabine treatment in patients with AML. *EJC Supplements.* 2009; 7:572-573.
142. Galmarini CM, Thomas X, Calvo F, et al. Potential mechanisms of resistance to cytarabine in AML patients. *Leuk Res.* 2002;26(7):621–629.
143. Shi JY, Shi ZZ, Zhang SJ, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in deoxycytidine kinase and treatment response among acute myeloid leukaemia patients. *Pharmacogenetics.* 2004;14(11):759–768.
144. Medina-Sanson A, Ramírez-Pacheco A, Moreno-Guerrero SS, Dorantes-Acosta EM, Sánchez-Preza M, Reyes-López A. Role of Genetic Polymorphisms of Deoxycytidine Kinase and Cytidine Deaminase to Predict Risk of Death in Children with Acute Myeloid Leukemia. *Biomed Res Int.* 2015;2015:309491.
145. Xu PP, Chen BA, Feng JF, et al. Association of polymorphisms of cytosine arabinoside-metabolizing enzyme gene with therapeutic efficacy for acute myeloid leukemia. *Chin Med J (Engl).* 2012;125(12):2137–2143.
146. Mahlkecht U, Dransfeld CL, Bulut N, et al. SNP analyses in cytarabine metabolizing enzymes in AML patients and their impact on treatment response and patient survival: identification of CDA SNP C-451T as an independent prognostic parameter for survival. *Leukemia.* 2009;23(10):1929–1932.
147. Falk IJ, Fyrberg A, Paul E, et al. Decreased survival in normal karyotype AML with single-nucleotide polymorphisms in genes encoding the AraC metabolizing enzymes cytidine deaminase and 5'-nucleotidase. *Am J Hematol.* 2013;88(12):1001–1006.
148. Lamba J, Mitra A, Crews K et al. Pathway Based Pharmacogenomics of Cytarabine In Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Blood.* 2010;116:294.
149. Yokoyama A, Okabe-Kado J, Wakimoto N, et al. Evaluation by multivariate analysis of the differentiation inhibitory factor nm23 as a prognostic factor in acute myelogenous leukemia and application to other hematologic malignancies. *Blood.* 1998;91(6):1845–1851.

150. Braunagel D, Schaich M, Kramer M, Dransfeld CL, Ehninger G, Mahlkecht U. The T_T genotype within the NME1 promoter single nucleotide polymorphism - 835 C/T is associated with an increased risk of cytarabine induced neurotoxicity in patients with acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2012;53(5):952–957.
151. Dumontet C, Bauchu EC, Fabianowska K, et al. Common resistance mechanisms to nucleoside analogues in variants of the human erythroleukemic line K562. *Adv Exp Med Biol*. 1999;457:571–577.
152. Hunsucker SA, Mitchell BS, Sychala J. The 5'-nucleotidases as regulators of nucleotide and drug metabolism. *Pharmacol Ther*. 2005;107(1):1–30.
153. Galmarini CM, Cros E, Thomas X, Jordheim L, Dumontet C. The prognostic value of cN-II and cN-III enzymes in adult acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2005;90(12):1699–1701.
154. Mitra AK, Crews KR, Pounds S, et al. Genetic variants in cytosolic 5'-nucleotidase II are associated with its expression and cytarabine sensitivity in HapMap cell lines and in patients with acute myeloid leukemia. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011;339(1):9–23.
155. Aksoy P, Zhu MJ, Kalari KR, et al. Cytosolic 5'-nucleotidase III (NT5C3): gene sequence variation and functional genomics. *Pharmacogenet Genomics*. 2009;19(8):567–576.
156. Cheong HS, Koh Y, Ahn KS, Lee C, Shin HD, Yoon SS. NT5C3 polymorphisms and outcome of first induction chemotherapy in acute myeloid leukemia. *Pharmacogenet Genomics*. 2014;24(9):436–441.
157. Jahns-Streubel G, Reuter C, Auf der Landwehr U, et al. Activity of thymidine kinase and of polymerase alpha as well as activity and gene expression of deoxycytidine deaminase in leukemic blasts are correlated with clinical response in the setting of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-based priming before and during TAD-9 induction therapy in acute myeloid leukemia. *Blood*. 1997;90(5):1968–1976.
158. Schröder JK, Kirch C, Seeber S, Schütte J. Structural and functional analysis of the cytidine deaminase gene in patients with acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 1998;103(4):1096–1103.
159. Gilbert JA, Salavaggione OE, Ji Y, et al. Gemcitabine pharmacogenomics: cytidine deaminase and deoxycytidylate deaminase gene resequencing and functional genomics. *Clin Cancer Res*. 2006;12(6):1794–1803.

160. Yue L, Saikawa Y, Ota K, et al. A functional single-nucleotide polymorphism in the human cytidine deaminase gene contributing to ara-C sensitivity. *Pharmacogenetics*. 2003;13(1):29–38.
161. Abraham A, Varatharajan S, Abbas S, et al. Cytidine deaminase genetic variants influence RNA expression and cytarabine cytotoxicity in acute myeloid leukemia. *Pharmacogenomics*. 2012;13(3):269–282.
162. Fitzgerald SM, Goyal RK, Osborne WR, Roy JD, Wilson JW, Ferrell RE. Identification of functional single nucleotide polymorphism haplotypes in the cytidine deaminase promoter. *Hum Genet*. 2006;119(3):276–283.
163. Bhatla D, Gerbing RB, Alonzo TA, et al. Cytidine deaminase genotype and toxicity of cytosine arabinoside therapy in children with acute myeloid leukemia. *Br J Haematol*. 2009;144(3):388–394.
164. He H, Liu ZQ, Li X et al. The influence of cytidine deaminase -33delC polymorphism on treatment outcome with high-dose cytarabine in Chinese patients with relapsed acute myeloid leukaemia. *J Clin Pharm Ther*. 2015;40(5):555–560.
165. Hyo Kim L, Sub Cheong H, Koh Y, et al. Cytidine deaminase polymorphisms and worse treatment response in normal karyotype AML. *J Hum Genet*. 2015;60(12):749–754.
166. Ciccolini J, Dahan L, André N et al. Cytidine deaminase residual activity in serum is a predictive marker of early severe toxicities in adults after gemcitabine-based chemotherapies. *J Clin Oncol*. 2010; 28:160-165.
167. Cao X, Mitra AK, Pounds S et al. RRM1 and RRM2 pharmacogenetics: association with phenotypes in HapMap cell lines and acute myeloid leukemia patients. *Pharmacogenomics*. 2013;14,1449-1466.
168. El-Tokhy MA, Hussein NA, Bedewy AM, Barakat MR. XPD gene polymorphisms and the effects of induction chemotherapy in cytogenetically normal de novo acute myeloid leukemia patients. *Hematology*. 2014;19(7):397–403.
169. Allan JM, Smith AG, Wheatley K, et al. Genetic variation in XPD predicts treatment outcome and risk of acute myeloid leukemia following chemotherapy. *Blood*. 2004;104(13):3872–3877.
170. Strom SS, Estey E, Outschoorn UM, Garcia-Manero G. Acute myeloid leukemia outcome: role of nucleotide excision repair polymorphisms in intermediate risk patients. *Leuk Lymphoma*. 2010;51(4):598–605.

171. Kuptsova N, Kopecky KJ, Godwin J, et al. Polymorphisms in DNA repair genes and therapeutic outcomes of AML patients from SWOG clinical trials. *Blood*. 2007;109(9):3936–3944.
172. Mehta PA, Alonzo TA, Gerbing RB, et al. XPD Lys751Gln polymorphism in the etiology and outcome of childhood acute myeloid leukemia: a Children's Oncology Group report. *Blood*. 2006;107(1):39–45.
173. Bănescu C, Duicu C, Trifa AP, Dobreanu M. XRCC1 Arg194Trp and Arg399Gln polymorphisms are significantly associated with shorter survival in acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2014;55(2):365–370.
174. Bhatla D, Gerbing RB, Alonzo TA, et al. DNA repair polymorphisms and outcome of chemotherapy for acute myelogenous leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Leukemia*. 2008;22(2):265–272.
175. Takagi M, Tsuchida R, Oguchi K, et al. Identification and characterization of polymorphic variations of the ataxia telangiectasia mutated (ATM) gene in childhood Hodgkin disease. *Blood*. 2004;103(1):283–290.
176. Leone G, Fianchi L, Pagano L, Voso MT. Incidence and susceptibility to therapy-related myeloid neoplasms. *Chem. Biol. Interact*. 184, 39-45 (2010).
177. Penault-Llorca F, Cayre A, Bouchet Mishellany F, et al. Induction chemotherapy for breast carcinoma: predictive markers and relation with outcome. *Int J Oncol*. 2003;22(6):1319–1325.
178. Zeichner SB, Alghamdi S, Elhammady G, Poppiti RJ. Prognostic significance of TP53 mutations and single nucleotide polymorphisms in acute myeloid leukemia: a case series and literature review. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(4):1603–1609
179. Abdel Hamid TM, El Gammal MM, Eibeid GT, Saber MM, Abol Elazm OM. Clinical impact of SNP of P53 genes pathway on the adult AML patients. *Hematology*. 2015;20(6):328–335
180. Falk IJ, Willander K, Chaireti R, et al. TP53 mutations and MDM2(SNP309) identify subgroups of AML patients with impaired outcome. *Eur J Haematol*. 2015;94(4):355–362.
181. Lightfoot TJ, Johnston WT, Painter D, et al. Genetic variation in the folate metabolic pathway and risk of childhood leukemia. *Blood*. 2010;115(19):3923–3929.

182. Sigglekow ND, Pagon L, Brummer T et al. Mutated in colorectal cancer protein modulates the NFkB pathway. *Anticancer Res.* 2012;32, 73-79.
183. Gamazon ER, Lamba JK, Pounds S, et al. Comprehensive genetic analysis of cytarabine sensitivity in a cell-based model identifies polymorphisms associated with outcome in AML patients. *Blood.* 2013;121(21):4366–4376.
184. Kang H, Wilson CS, Harvey RC, et al. Gene expression profiles predictive of outcome and age in infant acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. *Blood.* 2012;119(8):1872–1881.
185. Ariyaratana S, Loeb DM. The role of the Wilms tumour gene (WT1) in normal and malignant haematopoiesis. *Expert Rev Mol Med.* 2007;9(14):1–17.
186. Megías-Vericat JE, Herrero MJ, Rojas L, et al. A systematic review and meta-analysis of the impact of WT1 polymorphism rs16754 in the effectiveness of standard chemotherapy in patients with acute myeloid leukemia. *Pharmacogenomics J.* 2016;16(1):30–40.
187. Wagner K, Damm F, Göhring G, et al. Impact of IDH1 R132 mutations and an IDH1 single nucleotide polymorphism in cytogenetically normal acute myeloid leukemia: SNP rs11554137 is an adverse prognostic factor. *J Clin Oncol.* 2010;28(14):2356–2364.
188. Ho PA, Kopecky KJ, Alonzo TA, et al. Prognostic implications of the IDH1 synonymous SNP rs11554137 in pediatric and adult AML: a report from the Children's Oncology Group and SWOG. *Blood.* 2011;118(17):4561–4566.
189. Willander K, Falk IJ, Chaireti R, et al. Mutations in the isocitrate dehydrogenase 2 gene and IDH1 SNP 105C>T have a prognostic value in acute myeloid leukemia. *Biomark Res.* 2014;2:18.
190. Fasan A, Haferlach C, Eder C, et al. Evaluation of IDH1G105 polymorphism as prognostic marker in intermediate-risk AML. *Ann Hematol.* 2015;94(12):1991–2001.
191. Wiseman DH, Small HF, Wilks DP, et al. Elevated plasma 2-hydroxyglutarate in acute myeloid leukaemia: association with the IDH1 SNP rs11554137 and severe renal impairment. *Br J Haematol.* 2014;166(1):145–148.
192. Pérez-García A, De la Cámara R, Román-Gómez J, et al. CTLA-4 polymorphisms and clinical outcome after allogeneic stem cell transplantation from HLA-identical sibling donors. *Blood.* 2007;110(1):461–467.

193. Pérez-García A, Brunet S, Berlanga JJ, et al. CTLA-4 genotype and relapse incidence in patients with acute myeloid leukemia in first complete remission after induction chemotherapy. *Leukemia*. 2009;23(3):486–491.
194. Zhao H, Jia M, Wang Z, et al. Association between NOD2 single nucleotide polymorphisms and Grade III-IV acute graft-versus-host disease: A meta-analysis. *Hematology*. 2015;20(5):254–262.
195. Yomade O, Spies-Weissbart B, Glaser A, Schnetzke U, Hochhaus A, Scholl S. Impact of NOD2 polymorphisms on infectious complications following chemotherapy in patients with acute myeloid leukaemia. *Ann Hematol*. 2013;92(8):1071–1077.
196. Mosrati MA, Willander K, Falk IJ, et al. Association between TERT promoter polymorphisms and acute myeloid leukemia risk and prognosis. *Oncotarget* 6, 25109-25120 (2015).
197. Kutny MA, Alonzo TA, Gamazon ER, et al. Ethnic variation of TET2 SNP rs2454206 and association with clinical outcome in childhood AML: a report from the Children's Oncology Group. *Leukemia*. 2015;29(12):2424–2426.
198. Cingeetham A, Vuree S, Dunna NR, et al. Influence of BCL2-938C>A and BAX-248G>A promoter polymorphisms in the development of AML: case-control study from South India. *Tumour Biol*. 2015;36(10):7967–7976.
199. Moon JH, Sohn SK, Lee MH, et al. BCL2 gene polymorphism could predict the treatment outcomes in acute myeloid leukemia patients. *Leuk Res*. 2010;34(2):166–172.
200. Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, et al. Revised recommendations of the International Working Group for Diagnosis, Standardization of Response Criteria, Treatment Outcomes, and Reporting Standards for Therapeutic Trials in Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Oncol*. 2003; 21: 4642-4649.
201. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 1981; 47: 207-214.
202. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ*. 2009;339:b2700.
203. Colovic N, Tomin D, Vidovic A, et al. Pretreatment prognostic factors for overall survival in primary resistant acute myeloid leukemia. *Biomed Pharmacother* 2012; 66: 578-582.

204. Siegsmund M, Brinkmann U, Schäffeler E, et al. Association of the P-glycoprotein transporter MDR1(C3435T) polymorphism with the susceptibility to renal epithelial tumors. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13(7):1847-1854.
205. Damiani D, Michieli M, Ermacora A, et al. Adjuvant treatment with cyclosporin A increases the toxicity of chemotherapy for remission induction in acute non-lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 1998;12(8):1236-1240.
206. van der Holt B, Löwenberg B, Burnett AK, et al. The value of the MDR1 reversal agent PSC-833 in addition to daunorubicin and cytarabine in the treatment of elderly patients with previously untreated acute myeloid leukemia (AML), in relation to MDR1 status at diagnosis. *Blood*. 2005;106(8):2646-2654.
207. Kim HJ, Im SA, Kearn B, et al. ABCB1 polymorphism as prognostic factor in breast cancer patients treated with docetaxel and doxorubicin neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Sci*. 2015;106(1):86-93.
208. Kim KP, Ahn JH, Kim SB, et al. Prospective evaluation of the drug-metabolizing enzyme polymorphisms and toxicity profile of docetaxel in Korean patients with operable lymph node-positive breast cancer receiving adjuvant chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2012;69(5):1221-1227.
209. Ross DD, Karp JE, Chen TT, Doyle LA. Expression of breast cancer resistance protein in blast cells from patients with acute leukemia. *Blood*. 2000;96(1):365-368.
210. Schaich M, Soucek S, Thiede C, et al. MDR1 and MRP1 gene expression are independent predictors for treatment outcome in adult acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2005;128(3):324-332.
211. Ulzurrun E, Stephens C, Ruiz-Cabello F, et al. Selected ABCB1, ABCB4 and ABCC2 polymorphisms do not enhance the risk of drug-induced hepatotoxicity in a Spanish cohort. *PLoS One*. 2014;9(4):e94675.
212. Benderra Z, Faussat AM, Sayada L, et al. Breast cancer resistance protein and P-glycoprotein in 149 adult acute myeloid leukemias. *Clin Cancer Res*. 2004;10(23):7896-7902.
213. Damiani D, Tiribelli M, Calistri E, et al. The prognostic value of P-glycoprotein (ABCB) and breast cancer resistance protein (ABCG2) in adults with de novo acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Haematologica*. 2006;91(6):825-828.

214. Imai Y, Nakane M, Kage K, et al. C421A polymorphism in the human breast cancer resistance protein gene is associated with low expression of Q141K protein and low-level drug resistance. *Mol Cancer Ther.* 2002;1(8):611-616.
215. Meissner K, Heydrich B, Jedlitschky G, et al. The ATP-binding cassette transporter ABCG2 (BCRP), a marker for side population stem cells, is expressed in human heart. *J Histochem Cytochem.* 2006;54(2):215-221.
216. Scheffer GL, Pijnenborg AC, Smit EF, et al. Multidrug resistance related molecules in human and murine lung. *J Clin Pathol.* 2002;55(5):332-339.
217. Oshiro C, Mangravite L, Klein T, Altman R. PharmGKB very important pharmacogene: SLCO1B1. *Pharmacogenet Genomics* 2010; 20: 211-216.
218. Drenberg CD, Paugh SW, Pounds SB, et al. Inherited variation in OATP1B1 is associated with treatment outcome in acute myeloid leukemia. *Clin Pharmacol Ther* 2016; 99: 651-660.
219. Durmus S, Naik J, Buil L, et al. In vivo disposition of doxorubicin is affected by mouse Oatp1a/1b and human OATP1A/1B transporters. *Int J Cancer* 2014; 135: 1700-1710.
220. Fagerholm R, Hofstetter B, Tommiska J, et al. NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 NQO1*2 genotype (P187S) is a strong prognostic and predictive factor in breast cancer. *Nat Genet.* 2018; 40:844–853
221. Jamieson D, Cresti N, Bray J, et al. Two minor NQO1 and NQO2 alleles predict poor response of breast cancer patients to adjuvant doxorubicin and cyclophosphamide therapy. *Pharmacogenet Genomics* 2011; 21:808–819
222. Jamieson D, Lee J, Cresti N, et al. Pharmacogenetics of adjuvant breast cancer treatment with cyclophosphamide, epirubicin and 5-fluorouracil. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014;74(4):667–674.
223. Guzik TJ, West NE, Black E, et al. Functional effect of the C242T polymorphism in the NAD(P)H oxidase p22phox gene on vascular superoxide production in atherosclerosis. *Circulation* 2000; 102: 1744 -1747.
224. Wyche KE, Wang SS, Griendling KK, et al. C242T CYBA polymorphism of the NADPH oxidase is associated with reduced respiratory burst in human neutrophils. *Hypertension* 2004; 43: 1246-1251.
225. Fang S, Wang L, Jia C. Association of p22phox gene C242T polymorphism with coronary artery disease: a meta-analysis. *Thromb. Res* 2010; 125: e197–201.

226. Shimo-Nakanishi Y, Hasebe T, Suzuki A, et al. Functional effects of NAD(P)H oxidase p22(phox) C242T mutation in human leukocytes and association with thrombotic cerebral infarction. *Atherosclerosis* 2004; 175: 109-115.
227. Schirmer M, Hoffmann M, Kaya E, Tzvetkov M, Brockmöller J. Genetic polymorphisms of NAD(P)H oxidase: variation in subunit expression and enzyme activity. *Pharmacogenomics J.* 2008;8(4):297–304.
228. Hoffman M, Schirmer M, Tzvetkov M, et al. A functional polymorphism in the NAD(P)H oxidase subunit CYBA is related to gene expression, enzyme activity, and outcome in non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Res.* 2010; 70: 2328-2338.
229. Li X, Shao M, Wang S, et al. Heterozygote advantage of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms on clinical outcomes in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients treated with platinum-based chemotherapy. *Tumour Biol.* 2014;35(11):11159-11170.
230. Morrison BA, Davis C, Ucisik-Akkaya E, Tefvik Dorak M. MHC associations in childhood leukemia: identification of heterozygote advantage. *Human Immunology.* 2008;69:S69.
231. Banklau C, Jindadamrongwech S, Sawangpanich R, et al. Effect of genetic alterations of cytarabine- metabolizing enzymes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2010;3(3):103-108.
232. Gabor KM, Schermann G, Lautner-Csorba O, et al. Impact of single nucleotide polymorphisms of cytarabine metabolic genes on drug toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2015;62(4):622-628.
233. Abraham A, Devasia AJ, Varatharajan S, et al. Effect of cytosine arabinoside metabolizing enzyme expression on drug toxicity in acute myeloid leukemia. *Ann Hematol.* 2015;94(5):883-885.
234. Abraham A, Varatharajan S, Karathedath S, et al. RNA expression of genes involved in cytarabine metabolism and transport predicts cytarabine response in acute myeloid leukemia. *Pharmacogenomics.* 2015;16(8):877-890.
235. Jordheim LP, Nguyen-Dumont T, Thomas X, et al. Differential allelic expression in leukoblast from patients with acute myeloid leukemia suggests genetic regulation of CDA, DCK, NT5C2, NT5C3, and TP53. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(12):2419–2423.

236. Gilbert JA, Salavaggione OE, Ji Y, et al. Gemcitabine pharmacogenomics: Cytidine deaminase and deoxycytidylate deaminase gene resequencing and functional genomics. *Clin Cancer Res.* 2006;12(6):1794–1803.
237. Kirch HC, Schroder J, Hoppe H, et al. Recombinant gene products of two natural variants of the human cytidine deaminase gene confer different deamination rates of cytarabine in vitro. *Exp Hematol.* 1998;26(5):421–425.
238. Carpi FM, Vincenzetti S, Ubaldi J, et al. CDA gene polymorphisms and enzyme activity: genotype-phenotype relationship in an Italian-Caucasian population. *Pharmacogenomics.* 2013;14(7):769-781.
239. Parmar S, Seeringer A, Denich D, et al. Variability in transport and biotransformation of cytarabine is associated with its toxicity in peripheral blood mononuclear cells. *Pharmacogenomics.* 2011;12(4):503-514.
240. Giovannetti E, Laan AC, Vasile E, et al. Correlation between cytidine deaminase genotype and gemcitabine deamination in blood samples. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2008;27(6):720–725
241. Mahfouz RZ, Jankowska A, Ebrahim Q, et al. Increased CDA expression/activity in males contributes to decreased cytidine analog half-life and likely contributes to worse outcomes with 5-azacytidine or decitabine therapy. *Clin Cancer Res.* 2013;19(4):938-948.
242. Caronia D, Martin M, Sastre J, et al. A polymorphism in the cytidine deaminase promoter predicts severe capecitabine-induced hand-foot syndrome. *Clin Cancer Res.* 2011;17(7):2006-2013.
243. Li H, Wang X, Wang X. The impact of CDA A79C gene polymorphisms on the response and hematologic toxicity in gemcitabine-treated patients: a meta-analysis. *Int J Biol Markers.* 2014;29(3):e224-e232.
244. Davidson JD, Ma L, Flagella M, et al. An increase in the expression of ribonucleotide reductase large subunit 1 is associated with gemcitabine resistance in non-small cell lung cancer cell lines. *Cancer Res.* 2004;64(11):3761–3766.
245. Nakahira S, Nakamori S, Tsujie M, et al. Involvement of ribonucleotide reductase M1 subunit overexpression in gemcitabine resistance of human pancreatic cancer. *Int J Cancer.* 2007;120(6):1355–1363.

246. Mitra AK, Kirstein MN, Khatri A, et al. Pathway-based pharmacogenomics of gemcitabine pharmacokinetics in patients with solid tumors. *Pharmacogenomics*. 2012;13(9):1009-1021.
247. Khatri A, Williams BW, Fisher J, et al. SLC28A3 genotype and gemcitabine rate of infusion affect dFdCTP metabolite disposition in patients with solid tumours. *Br J Cancer*. 2014;110(2):304-312.
248. Rhodes KE, Zhang W, Yang D, et al. ABCB1, SLCO1B1 and UGT1A1 gene polymorphisms are associated with toxicity in metastatic colorectal cancer patients treated with first-line irinotecan. *Drug Metab Lett* 2007; 1: 23-30.
249. Sai K, Saito Y, Maekawa K, et al. Additive effects of drug transporter genetic polymorphisms on irinotecan pharmacokinetics/pharmacodynamics in Japanese cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2010; 66: 95-105.
250. Peters BJ, Rodin AS, Klungel OH, et al. Pharmacogenetic interactions between ABCB1 and SLCO1B1 tagging SNPs and the effectiveness of statins in the prevention of myocardial infarction. *Pharmacogenomics*. 2010; 11: 1065-1076.
251. Neve EP, Artursson P, Ingelman-Sundberg M, Karlgren M. An integrated in vitro model for simultaneous assessment of drug uptake, metabolism, and efflux. *Mol Pharm* 2013; 10: 3152-3163.