



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
HOSPITAL GENERAL GAUDENCIO GONZALEZ GARZA
SERVICIO DE ONCOLOGÍA PEDIÁTRICA
REGISTRO R-2015-3502-128**

“VARIACIONES GENÉTICAS EN CITOCROMO P450 (CYP450) ASOCIADAS A EVENTOS ADVERSOS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS MEXICANOS CON TUMORES SÓLIDOS TRATADOS CON IFOSFAMIDA.”

**TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO DE SUBESPECIALIDAD
DE ONCOLOGÍA PEDIÁTRICA**

PRESENTA

DRA. ALEJANDRA JIMENA LOPEZ SANCHEZ*

INVESTIGADOR PRINCIPAL

DRA. SUSANA ELIZABETH ANAYA AGUIRRE.

INVESTIGADORES ASOCIADOS.

DRA CAROLINA BEKKER MENDEZ

DRA. SANDRA ALICIA SANCHEZ FELIX

DRA. LUZ MARIA TORRES ESPINDOLA

México, Distrito Federal a 05 de Noviembre del 2014.

*Residente de 2do. Año de Oncología Pediátrica del HG CMN La Raza



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE FIRMAS

DRA. LUZ ARCELIA CAMPOS NAVARRO
DIRECTORA DE EDUCACION E INVESTIGACION EN SALUD
HG "DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA" UMAE LA RAZA

DRA. SANDRA ALICIA SÁNCHEZ FÉLIX
ENCARGADA DE LA DIVISION DE PEDIATRIA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE SUBESPECIALIDAD EN ONCOLOGIA PEDIATRICA
HG "DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA" UMAE LA RAZA

DRA. SUSANA ELIZABETH ANAYA AGUIRRE
ENCARGADA DE LA JEFATURA DEL SERVICIO DE ONCOLOGIA PEDIATRICA
HG "DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA" UMAE LA RAZA

DRA. LUZ MARIA TORRES ESPINDOLA
LABORATORIO FARMACOLOGIA INP
ASESOR METODOLOGICO

DRA. VILMA CAROLINA BEKKER MENDEZ
ENC. DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DEL CMN LA RAZA

DRA. ALEJANDRA JIMENA LÓPEZ SÁNCHEZ
MEDICO RESIDENTE DE 2º AÑO DE ONCOLOGIA PEDIATRICA



"2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón".

Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3502
HOSPITAL GENERAL DR. GAUDENCIO GONZALEZ GARZA, CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA, D.F. NORTE

FECHA 31/07/2015

DRA. SUSANA ELIZABETH ANAYA AGUIRRE

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

Variaciones genéticas en citocromo P450 (CYP450) asociadas a eventos adversos en pacientes pediátricos mexicanos con tumores sólidos tratados con Ifosfamida.

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2015-3502-128

ATENTAMENTE


DR.(A). GUILLERMO CAREAGA REYNA

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3502

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

IDENTIFICACION DE INVESTIGADORES

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Dra. Susana Elizabeth Anaya Aguirre

Enc. de la Jefatura de Oncología Pediátrica HG del CMN la Raza

E-mail: s311276@hotmail.com

Teléfono: 55 44 63 33 33

INVESTIGADORES ASOCIADOS

Dra. Vilma Carolina Bekker Mendez

Enc. de la Unidad de Investigación biomédica del CMN La Raza

E-mail: bekkermendez@yahoo.com

Teléfono: 55 16 45 92 45.

Dra. Sandra Alicia Sánchez Félix

Enc. de la División de pediatría HG del CMN la Raza

E-mail: polosan@infosel.net.mx

Teléfono: 555 451 0690

Dra. Luz María Torres Espíndola

Laboratorio de farmacología del INP

E-mail: luzmtorres@gmail.com

Teléfono: 55 40 15 67 34

Dra. Alejandra Jimena López Sánchez

Residente de segundo año de Oncología Pediátrica HG del CMN la Raza

E-mail: alekana_lopez@hotmail.com

Telefono: 552 951 9374

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por mandarme tantos angelitos disfrazados de pacientes, que me han enseñado tanto.

A mis padres, por darme la fortaleza necesaria día a día, acompañarme en este camino y compartir mis alegrías y preocupaciones, siempre demostrándome que lo que a veces lo que más trabajo nos da, también produce mayor satisfacción, los amo.

A mis hermanos, por acompañarme y compartir conmigo la palabra de aliento cuando la necesitaba.

A Javier, dos años más llenos de retos, gracias por estar a mi lado, ser mi hombro y la alegría cuando la necesitaba, por siempre estar ahí, por tu amor y comprensión.

A Claudia, por no rendirte, por enseñarme la pasión por la especialidad y por tu apoyo incondicional, por los buenos y malos momentos, sin tí no lo hubiera logrado, ¡¡gracias totales!!

A mis profesores Dra. Sánchez, Dr. Félix, Dra. Anaya, Dra. Amira y Lourdes Cortés, Dra. Rosas, Dr. Barajas y Dra. Aparicio, por compartirme la pasión por la Oncología y por compartir sus enseñanzas.

ÍNDICE

HOJA DE FIRMAS -----	2
DICTAMEN DE AUTORIZACION-----	3
IDENTIFICACION DE INVESTIGADORES-----	4
AGRADECIMIENTOS-----	5
RESUMEN-----	7
ANTECEDENTES-----	10
JUSTIFICACION-----	17
PREGUNTA DE INVESTIGACION-----	17
HIPOTESIS -----	17
OBJETIVO GENERAL-----	17
OBJETIVOS PARTICULARES-----	17
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL-----	18
DESCRIPCION DEL ESTUDIO-----	19
RESULTADOS-----	27
DISCUSION DE RESULTADOS-----	39
CONCLUSIONES-----	41
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS-----	43
ANEXOS	
HOJA DE RECOLECCION DE DATOS-----	46
CONSENTIMIENTO INFORMADO-----	49
TABLA DE TOXICIDAD OMS-----	52



TITULO DEL PROYECTO

“VARIACIONES GENÉTICAS EN CITOCROMO P450 (CYP450) ASOCIADAS A EVENTOS ADVERSOS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS MEXICANOS CON TUMORES SÓLIDOS TRATADOS CON IFOSFAMIDA.”

RESUMEN

ANTECEDENTES:

La neoplasia más común en población pediátrica mexicana es la leucemia aguda, seguida de los linfomas y posteriormente los tumores sólidos. Éstos son masas sólidas formadas por células neoplásicas que se ubican en cualquier sitio anatómico y representan el 60% del total de tumores malignos infantiles. Durante el 2009, en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), los tumores sólidos ocuparon el segundo lugar en prevalencia de las neoplasias, y estas, como grupo, ocuparon el segundo lugar de las 10 principales causas de atención hospitalaria y de mortalidad desde el 2012 a la fecha.

El tratamiento que se utiliza en la terapia oncológica incluye a la ifosfamida; un fármaco alquilante con éxito terapéutico para tumores sólidos y linfomas. Sin embargo, la ifosfamida a pesar de ser muy eficaz en el tratamiento también ocasiona serios eventos adversos como nefrotoxicidad, mielosupresión y neurotoxicidad como encefalopatía lo que puede ocasionar la muerte del paciente.

Cada individuo reacciona de manera diferente a los agentes quimioterapéuticos gracias, entre otros factores, a las enzimas metabolizadoras, de las cuales se han descrito polimorfismos genéticos que incluyen a varios citocromos P450 (CYP450).

Por lo que el conocimiento sobre la asociación entre las variantes genéticas de los CYP450 y los eventos adversos a la ifosfamida, permitirá en forma más precisa, identificar a los individuos susceptibles de desarrollar dichos eventos adversos.

Es importante estudiar dichas variaciones en nuestra población debido a la heterogeneidad genética que se presenta en el país, aunado a la importancia de los eventos adversos que genera el medicamento con el fin de reducir la toxicidad asociada.

JUSTIFICACION: Esta investigación busca un impacto directo en fortalecer el esquema de quimioterapia individualizada, ya que con los posibles hallazgos, se disminuiría la frecuencia de eventos adversos en pacientes tratados con ifosfamida, tras realizar un tamizaje de aquellos con polimorfismos en CYP450 que causen eventos adversos asociados a la administración de ifosfamida y de tal manera, generar una mejor calidad de vida en los pacientes, detectando a candidatos para proporcionar un tratamiento alternativo.

OBJETIVO: Determinar cuáles variantes genéticas de los genes CYP2B6, CYP2C9, CYP3A4 Y CYP3A5 están asociadas a eventos adversos en pacientes pediátricos mexicanos tratados con ifosfamida.

POBLACIÓN DE ESTUDIO: Se captarán pacientes del servicio de Oncología Pediátrica del Hospital General perteneciente a la Unidad Médica de Alta Especialidad “La Raza” del IMSS, que cuenten con diagnóstico de tumores sólidos, los cuales tengan como tratamiento ifosfamida y se encuentren recibiendo, alguno de los primeros 4 ciclos de tratamiento planeado por médico tratante.

DESCRIPCION DE ESTUDIO: Estudio observacional, prospectivo y longitudinal. El reclutamiento de la cohorte iniciará a partir del inicio del tratamiento con ifosfamida a aquellos pacientes que cumplan con los criterios de selección, el estudio tendrá una duración de 7 meses.

TAMAÑO DE LA MUESTRA: Se precisan de 16 sujetos en el grupo de expuestos y 16 en el de no expuestos (la exposición estará definida como presencia vs ausencia de cada una de las variantes polimórficas estudiadas en CYP2B6, CYP2C9, CYP3A4 Y CYP3A5).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO: Se obtendrán las frecuencias de polimorfismos y asumiendo que existe transmisión mendeliana, se analizará si existe equilibrio de Hardy-Weinberg mediante prueba de Chi² comparando los valores observados con los esperados. La comparación de la incidencia de eventos adversos entre expuestos (con polimorfismo en CYP450) y no expuestos (con variante normal en CYP450) se realizará mediante la prueba de razón de riesgos y su intervalo de confianza al 95% RR (IC95%) para conocer la magnitud de la asociación y su significancia estadística. Finalmente se realizará un análisis de regresión logística no condicional para determinar si existe asociación causal independiente de los diferentes polimorfismos con los eventos adversos.

- ANTECEDENTES

EPIDEMIOLOGIA DE LOS TUMORES SÓLIDOS EN MEXICO

Los tumores sólidos son masas sólidas formadas por células neoplásicas que se ubican en cualquier sitio anatómico. Dichos tumores, representan el 40% de los casos de cáncer en pediatría, mientras que el 60% restante, se conforma por leucemias y linfomas. En nuestro país la base de datos del Sistema Nacional en Salud reporta a los tumores sólidos como una de las principales causas de morbilidad (7069 egresos hospitalarios del 2009 al 2011)¹.

En el INP se registraron 5293 egresos hospitalarios por (neoplasias) del 2009 al 2012. Durante este periodo los tumores sólidos provocaron 200 defunciones aproximadamente. Debido a estas cifras se situaron en el 2012 en el primer lugar entre las 10 principales causas de egreso hospitalario (1586 casos) y el primer lugar en entre las 10 primeras causas de mortalidad hospitalaria (48 casos)². Los principales tumores sólidos de acuerdo a su frecuencia en el INP se anotan en la tabla 1.

Tumor	%
T. SNC	8.9%
Osteosarcoma	4.9%
Retinoblastoma	3.7%
T Wilms	3.5%

Tabla 1. Prevalencia de Tumores en el INP año 2009³.

Según el último censo de la población más de la mitad de los mexicanos tiene menos de 18 años de edad y el cáncer se considera un problema de salud debido a ocupa el segundo lugar como causa de mortalidad en personas de 4 a 15 años de edad⁴. En México la incidencia de todos los tipos de cáncer en la infancia representa el 5% de todos los padecimientos malignos de la población general, esta incidencia se ve más marcada en algunos estados de la República Mexicana, no se conoce la causa pero se nota una tasa mayor que la de los países industrializados.

A continuación mostramos un reporte del número de casos de niños con cáncer en CMN La Raza en los últimos años:

Tabla 1 Número de casos de primera vez de niños con cáncer* atendidos en los servicios de Hematología y Oncología pediátricos del Centro Médico La Raza, durante el periodo de 2008 a 2012												
Grupos de cáncer	2008		2009		2010		2011		2012		Total	
	n	%	N	%	N	%	n	%	n	%	n	%
I. Leucemias	92	53.5	83	45.1	90	48.9	88	52.7	105	51.7	458	50.3
II. Linfomas	10.0	5.8	23.0	12.5	14.0	7.6	12.0	7.2	23.0	11.3	82.0	9.0
IIa. Linfomas Hodgkin	4	2.3	8	4.3	8	4.3	4	2.4	7	3.4	31	3.4
IIb. Linfomas No Hodgkin	6	3.5	15	8.2	6	3.3	8	4.8	16	7.9	51	5.6
III. Tumores del sistema nervioso central	14	8.1	20	10.9	20	10.9	20	12.0	16	7.9	90	9.9
IV. Neuroblastomas	3	1.7	3	1.6	1	0.5	4	2.4	3	1.5	14	1.5
V. Retinoblastoma	7	4.1	5	2.7	4	2.2	5	3.0	10	4.9	31	3.4
VI. Tumores renales	8	4.7	8	4.3	6	3.3	7	4.2	5	2.5	34	3.7
VII. Tumores hepáticos	2	1.2	4	2.2	5	2.7	3	1.8	2	1.0	16	1.8
VIII. Tumores óseos	5	2.9	8	4.3	10	5.4	10	6.0	8	3.9	41	4.5

IX. Sarcomas de tejidos blandos	16	9.3	8	4.3	10	5.4	6	3.6	12	5.9	52	5.7
X. Tumores de células germinales	11	6.4	21	11.4	18	9.8	9	5.4	15	7.4	74	8.1
XI. Carcinomas	1	0.6	1	0.5	0	0.0	2	1.2	2	1.0	6	0.7
XII. Inespecíficos	0	0.0	0	0.0	1	0.5	0	0.0	0	0.0	1	0.1
Histiocitosis	3	1.7	0	0.0	5	2.7	1	0.6	2	1.0	11	1.2
Total	172	100	184	100	184	100	167	100	203	100	910	100

*Agrupados según la Clasificación Internacional para Cáncer Infantil; n= Número de casos

Fuente: Registro de Cáncer en Niños, Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica, HP, CMN SXXI.

La mayoría de los tumores en edad pediátrica son de origen embrionario y son el producto de mutaciones genéticas en genes predisponentes, oncogenes o supresores de tumor se heredan o son esporádicos. Se ha documentado que el factor ambiental influye poco en su desarrollo, lo contrario sucede en el cáncer en el adulto. Su comportamiento es agresivo y son de crecimiento rápido. La respuesta que presentan estos tumores a los tratamientos de quimioterapia es mejor comparado a los tumores en los adultos pero al mismo tiempo presentan un mayor índice de aparición de eventos secundarios adversos en órganos y tejidos a corto o a largo plazo, e incluso segundas neoplasias debidas a los tratamientos utilizados para curar el tumor primario⁵.

TRATAMIENTO PARA LOS TUMORES SÓLIDOS EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA

Existen varios esquemas de tratamiento implementados para tratar los tumores sólidos; de acuerdo a los “Protocolos Técnicos para el Cáncer en Niños”³ estos tumores pueden tratarse con ifosfamida y se usa en combinación para muchos tumores sólidos y linfomas en adultos y niños. La dosis de ifosfamida utilizada para tratar a los tumores sólidos es 1.8 g/m²/día 5 días, en combinación con carboplatino 350 mg/ m²/ día por 1 día y etopósido 100 mg/ m²/ día por 5 días (ICE)³. Asimismo, se emplean otros esquemas que incluyen ifosfamida, en conjunto a otro fármaco, por ejemplo: Ifosfamida-Etopósido, VIP (VP-16, Ifosfamida, Cisplatino) e Ifosfamida-Doxorrubicina para sarcomas de tejidos blandos no rabdomiosarcomas.

Ifosfamida (IF): La ifosfamida es un fármaco alquilante (Figura 1) muy usado en la quimioterapia con éxito terapéutico para tumores sólidos como sarcomas y para neoplasias hematológicas como leucemia linfocítica aguda y linfoma no Hodgkin. En la actualidad existe controversia en cuanto a la eficacia antitumoral y los efectos adversos⁶ esto debido a que la mayoría de los fármacos son creados en base a las necesidades de la población caucásica y los resultados son extrapolados a otras poblaciones como la nuestra.

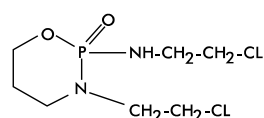


Figura 1. Estructura química de la Ifosfamida.

Mecanismo de acción y farmacocinética de la ifosfamida: El fármaco entra a la célula hepática mediante un transportador desconocido, en el interior de la célula el fármaco se metaboliza mediante la acción de las enzimas de la familia del citocromo p450 (CYP) isoformas CYP3A4, CYP3A5, también participan las isoformas CYP2A6, CYP2B6,

CYP2C8, CYP2C9. La ifosfamida se descompone en los metabolitos 2-dicloro etil-ifosfamida, 3-dicloro etil- ifosfamida y cloroacetaldehído (neurotóxico) mediante las enzimas CYP3A4, CYP2B6, CYP3A5 así como en los metabolitos 4 hidroxí -ifosfamida y aldo ifosfamida mediante las enzimas CYP3A5, 3A4, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9. Estos metabolitos difunden de manera pasiva fuera de las células hepáticas, circulan y entran pasivamente a otras células. El resultado de la alquilación directa del DNA (ácido desoxirribonucleico) de células blanco, provoca degradación del DNA y (ácido ribonucleico) RNA e inhibición de la síntesis de las proteínas y finalmente la apoptosis de las células no resistentes. También aumenta la eficacia de la respuesta inmunitaria contra el tumor y actúa en una capacidad antiangiogénica destruyendo las células progenitoras endoteliales circulantes⁷. La vida media de la ifosfamida tras administración a dosis baja (1.8g /m²) es de 4-7 horas, a dosis alta (3.8 a 5 g/m²), se incrementa de 11 a 15 horas; del 60-80% del fármaco, se excreta en la orina sin modificar y 20% como metabolitos ya mencionados. Los parámetros de vigilancia son: Biometría hemática completa con diferencial y plaquetas, diuresis, análisis de orina, pruebas de función hepática y renal; electrolitos séricos. La aplicación es en infusión varía de acuerdo al protocolo utilizado, generalmente se divide la dosis total del ciclo en 3 a 5 días, en infusiones diarias de una hora.

Farmacogenética de la ifosfamida: Cada individuo reacciona de manera diferente a los agentes quimioterapéuticos y puede ocurrir que un paciente reaccione favorablemente a la quimioterapia “respondedor” o que no presente respuesta al tratamiento “no respondedor”, que no experimenten ningún efecto adverso o que estos efectos varíen de intensidad a lo largo de todo el tratamiento, esto se atribuye a diversos factores tanto genéticos como no genéticos. Estos factores pueden afectar la absorción, y distribución del fármaco, su interacción con el sustrato (receptor y/o enzima), su metabolismo (función hepática) y su excreción (función renal).

La ifosfamida es metabolizada por CYP2B6, CYP3A4, CYP3A5, del 60-80 % de los fármacos de mayor uso son metabolizados por genes que pertenecen a la familia del citocromo P450 (CYP450) los genes *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP3A4/5*⁸. Los genes CYP pertenecen a una superfamilia de genes citocromo P450 (CYP 450), que está integrada por más de 200 genes que han evolucionado para protegernos de tóxicos del medio ambiente, así como de sustancias de otra naturaleza como por ejemplo algunos alimentos potencialmente peligrosos para la salud. Estos genes originan enzimas encargadas de biotransformar sustancias químicas que entran al organismo convirtiéndolas en metabolitos algunos terapéuticos, otros inocuos y otros tóxicos que finalmente se excretan por orina, heces o bilis.

Las personas que cuentan con una secuencia normal de los genes *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP3A4/5* estarán en condiciones adecuadas de metabolizar fármacos en el hígado o en los tejidos donde se expresan las enzimas codificadas en el locus específico de cada gen. Aquellas personas que tienen variantes en estas secuencias de DNA en alguno de estos 4 genes tendrán diferencias en el metabolismo de los fármacos⁹. De manera que podemos encontrar en la población a personas con diferente metabolismo a fármacos.

Gen *CYP2B6* (Citocromo P450, familia 2, subfamilia B, polipéptido 6).

La isoforma CYP2B6 es responsable de la activación metabólica de fármacos antineoplásicos como la ifosfamida¹⁰; la capacidad de activación de esta enzima es variable entre individuos de 4 a 9 veces, ya que se ha reportado variabilidad interindividual e interétnica en la cantidad y actividad catalítica de CYP2B6 esta variabilidad puede deberse a polimorfismos genéticos en el gen¹¹, y con ello diferencias en la respuesta y/o toxicidad. El gen *CYP2B6* se localiza en el brazo largo del cromosoma 19 (19q13.3), en proximidad con el pseudogen *CYP2B7*, tiene un tamaño aproximado de 27.0 kb, está constituido por 9 exones, el mRNA de los 9 exones producen 6 transcritos (isoformas *1,*2,*3,*4,*5 y *6). El gen CYP2B6 codifica para una proteína de 491 aminoácidos (aa). La expresión extrahepática es en intestino y pulmón.

Tres polimorfismos en el gen *CYP2B6* (*CYP2B6**4, *5 y *6), se han estudiado ampliamente y todos se han asociado al metabolismo de diferentes fármacos.

Como ejemplo, el polimorfismo de nucleótido simple (Simple Nucleotide Polymorphism –SNP-) 516G>T en el exón 4 (Gln172His) que produce un empalmamento aberrante como resultado una baja expresión de *CYP2B6**6, se asoció a una alta concentración plasmática de Efavirenz (EFV) en pacientes con infección por Virus de Inmunodeficiencia Humana; pacientes que presentaron el genotipo 516TT se asoció a un incremento en la concentración de EFV en plasma hasta 3 veces y en sangre 2.3, además, pacientes con este genotipo experimentan además eventos adversos en Sistema Nervioso Central (SNC) comparado con individuos que carecen de este alelo $p = <0.001$ ^{12, 13, 14}. La intoxicación en SNC se presenta en el 54% de los pacientes que son tratados con EFV debido a bajo metabolismo hepático, los eventos adversos más comunes que se presentaron fueron la confusión, insomnio, sueños intensos, mareos y dolores de cabeza¹⁵. Otros estudios han buscado la relación de la concentración subterapéutica con el éxito o fracaso en el tratamiento y concentraciones supratapéuticas están asociadas con toxicidades de estos fármacos. Por ejemplo el SNP 516 TT se ha asociado a falla a tratamiento en pacientes con infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana¹⁶. Su frecuencia es de 0.267, para nuestra población se observó en una muestra de individuos residentes en los Ángeles con ascendencia mexicana una frecuencia de 0.29.

*CYP2B6**4. El SNP 785A>G ubicado en el exón 5 (Lys 262Arg) está asociado a metabolismo lento de EFV¹⁷, portadores del alelo G se ha asociado a mal respuesta a tratamiento con doxorrubicina y ciclofosfamida en pacientes con cáncer de seno¹⁸. La frecuencia de este SNP en población europea es de 0.38 y se observó en una muestra de individuos residentes en Los Ángeles (USA) con ascendencia mexicana con una frecuencia de 0.24.

*CYP2B6**5. El SNP 1459 C>T en el exón 9 (Arg487Cys). También se ha observado que homocigotos para el alelo T presentan altas dosis acumuladas de ciclofosfamida y doxorrubicina (indicador de alta toxicidad)¹⁸. En una cohorte de pacientes que recibieron Tiotepa (fármaco para tratar tumores sólidos), se observó que pacientes homocigotos para el genotipo TT presentaron menos exposición a sustratos de *CYP2B6*, lo que indica que presentaron fenotipo de metabolizadores rápidos¹⁹. Su frecuencia se ha analizado en una muestra de individuos residentes en los Ángeles con ascendencia mexicana de 0.12.

Los alelos *CYP2B6**2 (Arg22Cys), *CYP2B6**8 (Lys139Glu), y *CYP2B6**9 (Gln172His) se asociaron a mal pronóstico o baja respuesta a Doxorrubicina y Ciclofosfamida, en pacientes con cáncer de seno tratados con estos fármacos en población mexicana se desconoce su frecuencia y su efecto funcional.

CYP2C9. Otra enzima que metaboliza aproximadamente el 15% de los medicamentos, incluida la ifosfamida, presenta polimorfismos genéticos que repercuten en la alteración de su actividad. Se ubica en 10q24.2, el gen consta de 9 exones y codifica una proteína de 490 aa. Dos polimorfismos se han estudiado ampliamente y ambos se han asociado a una reducción de la actividad enzimática.

La variante *CYP2C9**2 ubicado en 430C>T (Arg144Cys), presenta un polimorfismo que provoca que la variante *2 presente alrededor de 8 veces menos actividad que la enzima normal. La asociación de las variantes *2 y *3 aumentan el riesgo de hemorragia gastrointestinal en pacientes que reciben fármacos antiinflamatorios no esteroideos que son metabolizados principalmente por el *CYP2C9* en comparación de los que no presentan estas variantes (OR=2.6)²⁰

En población caucásica la frecuencia alélica de *1/*2 es del 19%, en un estudio realizado en individuos sanos de origen México-americanos encontraron una frecuencia de 15% para los alelos *1/*2 IC 95% 0.095–0.24 y el del 10% para la forma *1/*3 IC95% 0.055–0.18 .

El otro SNP es el CYP2C9*3 ubicado 1075 A>C. Se ha observado que pacientes que portan los genotipos *1/*3 ó *3/*3 tienen un mayor tiempo de exposición al fármaco, y por lo tanto, un mayor riesgo de efectos secundarios, principalmente de tipo gastrointestinal o cardiovascular en pacientes tratados con inhibidores de la ciclo-oxigenasa (naproxeno, diclofenaco, ibuprofeno) la frecuencia del genotipo *1/*3 es del 12% en individuos blancos²¹.

Se ha observado que los portadores de alelos *3/*3 son metabolizadores lentos para (warfarina, acenocumarol, glipizida, y fenitoína) estos pacientes pueden experimentar severa toxicidad al fármaco así como riesgo de hemorragia durante el tratamiento con warfarina^{22, 23},

Gen CYP3A4. (Citocromo P450, familia 3, subfamilia A, polipéptido 4)

La familia de los CYP3 cobra suma importancia, ya que se encarga de metabolizar el 50% de los fármacos disponibles actualmente en el mercado y participan en la activación metabólica y metabolismo de fármacos anticancerígenos, se ha observado que la variabilidad interindividual tiene gran impacto en la farmacocinética y metabolismo de la mayoría de los medicamentos esta variabilidad en la expresión sobrepasa hasta las 30 veces en algunas poblaciones.

El gen se encuentra en una región de 231 kb, se localiza en el cromosoma 7q21–22.1. Está constituido por 11 exones y codifica para una proteína de 503 aa, que se expresa en hígado e intestino delgado.

De acuerdo a la base de datos “The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database”, actualmente se han encontrado 39 variantes alélicas en esta isoforma, aunque no todas tienen repercusiones funcionales, muy pocas se han correlacionado con cambios funcionales o con enfermedades.

El alelo **3A4*1B** ubicado en la región promotora en -392A>G se ha asociado con una baja hidroxilación de la quinina²⁴, así como con una mayor incidencia de cáncer de próstata²⁵ la frecuencia en población caucásica varía del 4-9%

En nuestro país se ha estudiado en 2 poblaciones (tepehuano y mestizos) con una frecuencia de 8% y 8.8% respectivamente.

Estos datos sugieren que estas dos poblaciones pueden presentar alteración del metabolismo de algunos fármacos y por consiguiente, estos sujetos pueden tener un riesgo elevado de efectos adversos de fármacos ya que se ha asociado con una reducida capacidad para metabolizar los fármacos, carcinógenos y endobióticos que son sustratos de CYP3A4²⁶.

La población mexicana tiene una gran variabilidad metabólica, se sabe que el 90% de la población mexicana se compone de mestizos que muestran una mezcla de amerindios, europeos y ascendencias africanas²⁷ y por lo tanto la individualización de los tratamientos es recomendable. Se ha reportado índices metabólicos combinados y se estima que el 14% podría necesitar una dosis mucho más baja y el 6% de una dosis mayor que la recomendada²⁸. Hay estudios que indican que el metabolismo de los mexicanos es más lento comparado que el de la población caucásica y más rápido que los asiáticos. Reportes previos en población mexicana han reportado un metabolismo lento de sustratos de CYP3A4 tal como dihidropiridinas²⁹, ciclosporinas³⁰, y midazolam³¹

CYP3A4*22 en el intrón 6 (15389C>T); portadores del genotipo TT presentaron metabolismo alterado de fármacos como tacrolimus y ciclosporina así como a nefrotoxicidad por estos fármacos³². También afecta la expresión hepática y la respuesta a las Estatinas (Atorvastatina, simvastatina, o lovastatina) y se observó que portadores del alelo T requieren dosis muy bajas de estos fármacos (0-2-0.6) p= 0.0019 comparado a los que portan el alelo C. Por lo que se propone este SNP como marcador para predecir respuesta a fármacos que son metabolizados por CYP3A4. Dicho SNP presenta una frecuencia del 5% en población caucásica, en nuestra población se desconoce su frecuencia³³.

CYP3A5. (Citocromo P450, familia 3, subfamilia A, polipéptido 5).

La isoforma CYP3A5 representa el 50% del contenido total de CYP3A en personas que portan el alelo CYP3A5*1 lo que sugiere que este alelo juega un importante papel en el metabolismo de los sustratos de CYP3A.

El gen CYP3A5 se localiza en la región 7q21.1 constituido por 13 exones, codifica para una proteína de 502 aa se expresa en hígado e intestino.

El SNP causante de la pérdida de expresión de este gen en el hígado es **CYP3A5*3** (22893 A>G) en el intrón 3, que causa un empalme alternativo del exón 3B y trunca la proteína, por lo tanto, hay una expresión muy baja de la proteína.

En un estudio realizado en pacientes mexicanos receptores de trasplante renal, el 6.2% presentaron el genotipo CYP3A5*1/*1, el 41.6% la forma CYP3A5*1/*3 y el 52.2% el genotipo CYP3A5*3/*3 y su relación con la dosis de tacrolimus (fármaco usado para prevenir rechazo en trasplante de órganos). Se observó que pacientes homocigotos para CYP3A5*1/*1 y heterocigotos CYP3A5*1/*3 requieren altas dosis de tacrolimus, comparado con los pacientes que expresan CYP3A5*3/*3, que requieren dosis bajas del fármaco. Las frecuencias genotípicas en población mexicana fueron significativamente diferentes que las reportadas para otros grupos étnicos; los genotipos CYP3A5*1/*1 y CYP3A5*1/*3 fueron más frecuentes que en caucásicos³⁴. Polimorfismos en CYP3A5*3 con una baja producción de mRNA conduce a toxicidad farmacológica y posterior daño al DNA. Sailaja, K y col 2010 observaron que en pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC), el 44.2% presentaron el genotipo CYP3A5*3/*3 comparado con controles con el 19.1% p=0.0001, pacientes con este genotipo no presentaron respuesta hematológica a Imatinib (fármaco usado para LMC)³⁵.

Este SNP también está asociado al metabolismo de vincristina en pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA), se observó que pacientes con baja expresión de CYP3A5 (CYP3A5 1/*3 y *3/*3) tienen un riesgo incrementado de neurotoxicidad inducida por vincristina del 89% y 100% respectivamente p=0.030³⁶.

CYP3A5*6 (G30597A) causa delección del exón 7, trunca la proteína y reduce la actividad de CYP3A5*6. Este SNP se encuentra en un 33% en población caucásica y en población mexicana se desconoce su frecuencia.

Se ha observado que pacientes que expresan ambos genotipos silvestres (*1/*1) de CYP3A4 y CYP3A5 metabolizan rápidamente sustratos de CYP3A, lo cual puede dar como resultado la carencia de efecto terapéutico.

EVENTOS ADVERSOS OCACIONADOS POR LA IFOSFAMIDA.

El término de Evento Adverso de la Medicación (EAM) deriva del concepto “drug misadventure” y podría traducirse como un suceso médico desafortunado, creado por omisión o comisión a través de administrar uno o varios medicamentos cuando la farmacoterapia está indicada y que causa en el paciente efectos que pueden ir desde un malestar leve hasta la muerte³⁷. El uso cada vez mayor de la quimioterapia ha conducido a la aparición de eventos adversos tardíos en ocasiones irreversibles de tratamiento, causando mayor morbilidad y aumentando de riesgo de muerte temprana.

Es importante enfatizar la importancia de regímenes de tratamiento que minimicen la toxicidad crónica, mientras se maximice a probabilidad de curación. La ifosfamida es importante en la quimioterapia pues se usa en combinación para muchos tumores sólidos en adultos y niños.

La ifosfamida por sí misma es poco citotóxica, es metabolizada in vivo y genera los metabolitos (2-dicloro etil ifosfamida, 3-dicloro etil ifosfamida, cloro acetaldehído, 4-hidroxi ifoafamida y aldo ifosfamida) que son altamente tóxicos, estos metabolitos pueden causar nefrotoxicidad y neurotoxicidad. El metabolismo del huésped es quizá el determinante más importante de la respuesta al tumor, ya que se sabe que esta toxicidad es debida a que la actividad de CYP3A5 y CYP2B6 (presente en el riñón y el hígado) puede producir toxicidad renal a nivel de los túbulos proximales.

Se ha documentado que el cuadro clínico que se presenta en forma variable después de la administración de la ifosfamida incluye desde somnolencia, letargia, irritabilidad, excitación, desorientación, confusión, debilidad, alucinaciones y crisis convulsivas, hasta signos clínicos graves como degeneración del cerebelo, atrofia cerebral, dolor secundario a neuropatía periférica, y degeneración del sistema nervioso central³⁸. En pacientes pediátricos se han descrito además trastornos del movimiento como hemibalismo, corea o atetosis³⁹. La aparición de estos síntomas se ha observado desde el inicio del tratamiento, de dos a 48 h después del inicio de la infusión hasta 1 a 3 días después⁴⁰ de iniciado el tratamiento. Otros eventos adversos de la ifosfamida incluyen mielosupresión, náusea, vómitos, alopecia, urotoxicidad, entre otros. La encefalopatía es una seria consecuencia de la quimioterapia con ifosfamida pero es muy rara estos eventos adversos son impredecibles y son por lo general severos si no se restringe el tratamiento, sin embargo, estos eventos varían entre los individuos ya que se ha observado que algunos tumores son quimiosensibles y curables mientras que en otros casos quimioresistentes y recurren después de haber una respuesta inicial.

Toxicidad	Manifestación
Hematológica	Mielosupresión- leucocitopenia
Urotoxicidad	Cistitis hemorrágica
Nefrotoxicidad	Síndrome de Falconi y toxicidad Glomerular.
Cardiaca	Arritmias, falla cardiaca.
SNC	Somnolencia, letargo, confusión, psicosis depresiva, alucinaciones, mareo, convulsiones, fiebre, ataxia, coma.
Neurológica	Encefalopatía severa
Dermatológica:	Alopecia, hiperpigmentación
Gastrointestinal	Náusea, vómito, estomatitis, diarrea.
Endocrinas y metabólicas	Acidosis metabólica.

Tabla 2. Toxicidad asociada a ifosfamida.

Se ha reportado que la dosis acumulativa de ifosfamida para causar neurotoxicidad es cuando excede los 60 g/m². En un reporte de caso en población mexicana³⁸, se encontró que la dosis acumulativa fue de 36 g/m² y esta fue necesaria y suficiente para causar neurotoxicidad. En población latinoamericana no se cuenta con estudios donde reporten las dosis acumulativas de ifosfamida para causar toxicidad, ni el porcentaje con que las complicaciones inherentes al tratamiento aunado a la problemática de subregistros de casos de cáncer. En otras poblaciones se ha reportado neurotoxicidad con el uso de ifosfamida y entre los factores de mayor peso para desarrollar neurotoxicidad están: hipoalbuminemia menor de 3.3 g/dL, hiponatremia, edad del paciente, dosis acumulativa de ifosfamida. Sin embargo se ha documentado que el factor de riesgo con mayor peso para desarrollar neurotoxicidad es la hipoalbuminemia con una OR de 4.3⁴¹.

Gen	SNP	Rs	Efecto	Actividad enzimática	MAF	MEX
CYP2B6*6	516G>T exón 4	rs3745274	Gln172His	Disminuida	0.267	0.290
CYP2B6*4	785A>G exón 5	rs2279343	Lys262Arg	Incrementada	0.273	0.240
CYP2B6*5	1459C>T exón 9	rs3211371	Arg487Cys	Disminuida	0.050	0.120
CYP2B6*2	64C>T	rs8192709	Arg22Cys	Disminuida	0.207	-
CYP2B6*8	415 A>G	rs12721655	Lys139Glu	Disminuida	-	-
CYP2C9*2	430 C>T	rs1799853	Arg144Cys	Disminuida	0.170	0.080
CYP2C9*3	1075 A>C	rs1057910	Ile359Ile	Disminuida	0.100	0.015
CYP3A4*IB	-392 A>G	rs2740574	Variante promotor	Disminuida	0.202	-
CYP3A4*22	Intron6C>T	rs35599367	Variante en intron	Disminuida	5-7%	-
CYP3A5*3	6986 A>G	rs776746	Variante splicing	Disminuida	0.045	0.270
CYP3A5*6	14690G>A	rs10264272	Variante splicing	Disminuida	0.313	0.260

Tabla 3. Tabla de frecuencias de los SNP que se estudiarán en este trabajo.

- **JUSTIFICACION:** Esta investigación busca un impacto directo en fortalecer el esquema de quimioterapia individualizada, ya que con los posibles hallazgos, se disminuiría la frecuencia de eventos adversos en pacientes tratados con ifosfamida, tras realizar un tamizaje de aquellos con polimorfismos en *CYP450* que causen eventos adversos asociados a la administración de ifosfamida y de tal manera, generar una mejor calidad de vida en los pacientes, detectando a candidatos para proporcionar un tratamiento alternativo.

- **PREGUNTA DE INVESTIGACION:**

¿Cuáles de las variantes genéticas en los genes *CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP3A4* Y *CYP3A5* incrementan la frecuencia de eventos adversos en pacientes pediátricos mexicanos tratados con ifosfamida?

- **HIPÓTESIS**

Existen variantes genéticas en los genes *CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP3A4* Y *CYP3A5* que incrementan el riesgo de desarrollar eventos adversos.

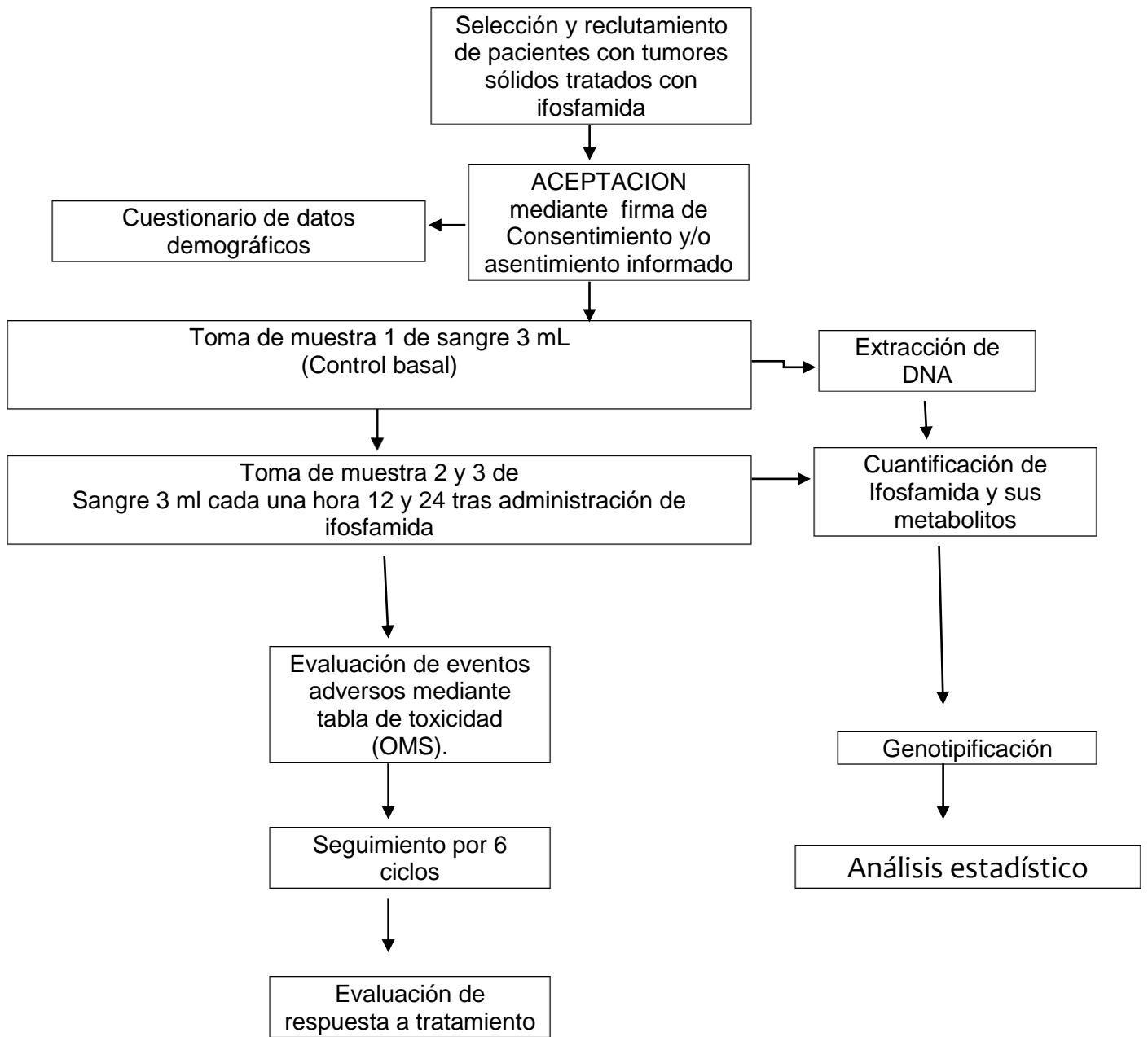
- **OBJETIVO GENERAL**

Determinar cuáles variantes genéticas en los genes *CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP3A4* Y *CYP3A5* incrementan el riesgo de desarrollar eventos adversos en pacientes pediátricos mexicanos tratados con ifosfamida.

- **OBJETIVOS PARTICULARES**

1. Determinar las características epidemiológicas prevalentes de la población estudiada.
- 2.-Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos en los genes *CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP3A4* Y *CYP3A5*.
- 3.- Obtener las tasas de incidencia de eventos adversos; (hematológicos, gastrointestinales, cardíaco, neurotóxico, nefrológicos) entre aquellos que presentan el polimorfismo y compararlas con aquellos que no presentan polimorfismo en pacientes pediátricos mexicanos tratados con ifosfamida.
- 4.- Cuantificación de los metabolitos de la ifosfamida a las 12 y 24 h después de concluir la infusión de la ifosfamida y comparar los niveles entre los pacientes que presentan el polimorfismo y los que no lo presentan.

- **ESTRATEGIA EXPERIMENTAL**



• DISEÑO DE ESTUDIO

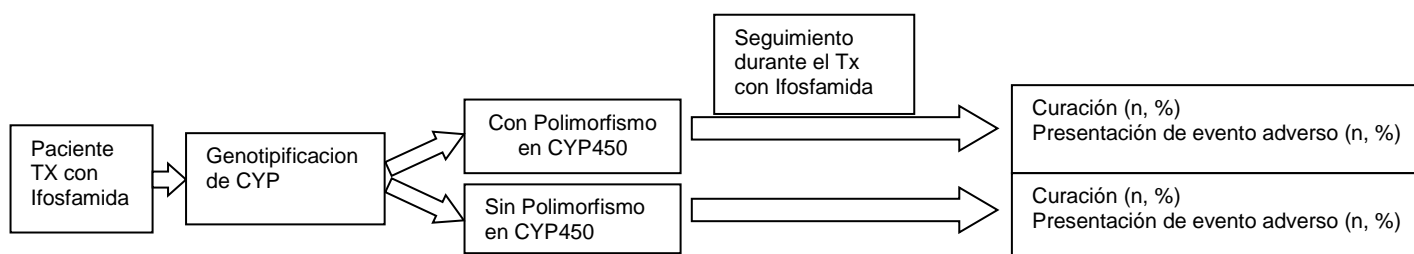
Es un estudio observacional, prospectivo y longitudinal.

El reclutamiento de la cohorte iniciará a partir del inicio del tratamiento con ifosfamida en el primer ciclo y hasta los 6 ciclos del esquema, a aquellos pacientes que cumplan con los criterios de selección.

La exposición estará definida como presencia vs ausencia de cada una de las variantes polimórficas estudiadas en CYP2B6, CYP2C9, CYP3A4 Y CYP3A5.

El diseño permitirá evaluar clínicamente a los pacientes al final de tratamiento y clasificarlos de acuerdo a su estatus de presentación de eventos adversos (presentó evento adverso vs no presentó evento adverso) y de curación (curados vs no curados)

La cohorte se construirá de acuerdo al siguiente esquema:



Selección de la población:

Se captarán pacientes con tumores sólidos embrionarios y sarcomas de alto riesgo, con terapia que incluya ifosfamida dentro del esquema de tratamiento.

Reclutamiento: Se llevará a cabo a partir de la preconsulta del paciente el cual será enviado a Consulta Externa de primera vez con diagnóstico presuntivo de cáncer. El Oncólogo de Consulta Externa inicia protocolo de diagnóstico incluyendo los siguientes estudios de laboratorio: BH, QS, EGO, Electrolitos.

Estudios de Gabinete: Estudio histopatológico e inmunohistoquímica, ultrasonido, TAC. Estudios de intervención para diagnóstico: Biopsia, la muestra se enviará a patología quien emitirá el reporte histopatológico, habiendo diagnosticado el cáncer con su estirpe celular y su estadio, el paciente posteriormente será referido al Oncólogo. El médico Oncólogo elegirá a los pacientes por medio de los criterios de inclusión. A los pacientes que cubran dichos requisitos se les explicará el objetivo del estudio y se les invitará a participar mediante firma del consentimiento informado. El resultado de estudio no modificará de ninguna manera el plan terapéutico que el equipo de oncólogos médicos y cirujanos oncólogos que refieren al paciente, hayan determinado, de acuerdo con su protocolo y lo establecido en los procedimientos internacionales.

Criterios de inclusión.

Se incluirán pacientes con tumores sólidos embrionarios y sarcomas de alto riesgo, con terapia ICE (ifosfamida, carboplatino y etopósido), o cualquier esquema que involucre Ifosfamida por primera vez o

dentro de los primeros 3 ciclos del total de tratamiento, menores de 1 año y hasta los 10 años, cualquier género. Para todos los pacientes se requerirá una carta de Consentimiento Informado por parte de los padres y/o tutores, en el caso de pacientes mayores de 10 años de edad no firmar Carta de Asentimiento.

Todos los pacientes serán “mestizo mexicanos”, que se definen como individuo que nació en México, así como sus dos generaciones anteriores (padres y abuelos) y se evaluará mediante un cuestionario.

Criterios de exclusión.

Pacientes con tumores sólidos no embrionarios, Pacientes con transfusión sanguínea con paquete eritrocitario no desleucocitado o plasma, desnutrición de grado III y/o cualquier alteración que pueda afectar la determinación de los niveles del fármaco, pacientes que no estén dentro de los primeros 3 ciclos de tratamiento con ifosfamida, pacientes con daño renal o hepático, pacientes que no sean “mestizo mexicanos”.

Criterios de eliminación. Pacientes a quienes se les retire el fármaco de la quimioterapia, no acudan regularmente a su tratamiento (No apego al tratamiento: determinado por un porcentaje menor al 5% de administraciones efectivas), retiren voluntariamente su consentimiento y/o asentimiento para participar en el estudio y aquellos pacientes en los que no se obtenga un DNA de buena calidad para la genotipificación y/o cuantificación del fármaco. Pacientes en quienes no se completen las 3 muestras al final del estudio, Pacientes que no tengan completo el cuestionario de eventos adversos.

Tamaño de muestra:

El tamaño de muestra se calculó con el programa en línea: <http://clincalc.com/Stats/SampleSize.aspx>.

Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, se precisan de 16 sujetos, para detectar un riesgo relativo mínimo de 2. Se ha estimado una tasa de pérdidas de seguimiento del 10%. Se ha utilizado la aproximación de POISSON.

Tabla 4. DEFINICIÓN DE VARIABLES OPERACIONALES

Variable	Definición operacional	Clasificación	Categoría
Grupo de riesgo	Se definen por factores clínicos (edad, sexo, recuento de lastos) y biológicos (estirpe de linfocitos, antígenos de superficie, etc.) que inciden en el pronóstico de remisión.	Cualitativa Ordinal	1=Bajo 2=Habitual 3=Alto 4=Muy alto
Género	Características biológicas que permiten diferenciar entre hombre y mujer.	Cualitativa Dicotómica	1=Masculino 2=Femenino
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento del sujeto.	Cuantitativa Continua	Años
Dosis de Ifosfamida	Cantidad de fármaco administrado por vía IV por 5 días.	Cuantitativa Discreta	2000-9000 mg/m ² /día
Frecuencia alélicas de polimorfismos.	Proporción de un alelo respecto al conjunto de los que pueden ocupar un locus determinado en la población.	Cualitativa politémica	1=homocigoto 2=hetero 3=Normal
Evento adverso	Cualquier efecto no deseada que se presente durante el tratamiento con un medicamento o especialidad medicinal.	Cualitativa Dicotómica	1=Si 2=No
Toxicidad hematológica	Hemoglobina, plaquetas, leucocitos, neutrófilos absolutos, linfocitos reportados	Cualitativa Ordinal	0= sin efecto

	en biometría hemática; se reportará como toxicidad si se encuentra debajo de los niveles definidos por la OMS.		1 = leve 2= moderado 3= alto 4=muy alto
Toxicidad gastrointestinal			
Náusea	Sensación de urgencia de vomitar	Cualitativa Ordinal	0=sin evento adverso 1=leve 2=moderado 3=alto 4=muy alto
Vómito	Expulsión espasmódica del contenido del estómago a través de la boca.	Cualitativa Ordinal	0=sin evento adverso 1=leve 2=moderado 3=alto 4=muy alto
Diarrea	Deposición de tres o mas veces al día de heces sueltas o líquidas.	Cualitativa Ordinal	0=sin evento adverso 1=leve 2=moderado 3=alto 4=muy alto
Estomatitis	Inflamación de la mucosa bucal	Cualitativa ordinal	0=sin evento adverso 1=leve 2=moderado 3=alto 4=muy alto
Toxicidad hepática	Actividad de las enzimas transaminasa, fosfatasa alcalina y nivel de bilirrubina. Se definirá daño hepático cuando alguna de las enzimas duplique (2N) el valor basal obtenido antes de la quimioterapia.	Cualitativa ordinal	0=sin evento adverso 1=leve 2=moderado 3=alto 4=muy alto
Toxicidad Renal	Creatinina, proteinuria, hematuria. Se describirá daño si se rebasa al menos alguno de los límites máximos establecidos.	Cualitativa Ordinal	0=sin evento adverso 1=leve 2=moderado 3=alto 4=muy alto
Toxicidad neurológica	Si hay datos de alteración neurosensorial, neuromotora, neurocortical, neurocerebelar, cefalea, estreñimiento, audición, visión.	Cualitativa Ordinal	0=sin evento adverso 1=leve 2=moderado 3=alto 4=muy alto
Toxicidad cardiaca	Si hay datos de disritmias, isquemia cardiaca, función cardiaca.	Cualitativa ordinal	0= sin evento adverso 1=leve 2=moderado 3=alto 4=muy alto

DEFINICIÓN DE VARIABLES OPERACIONALES.

Variable	Definición operacional	Clasificación	Categoría
Niveles de Ifosfamida			
Sangre	Cantidad de fármaco cuantificado a las 12 y 24 h al término de la infusión de la ifosfamida	Cuantitativa continua	μM
Eficacia del Tratamiento	El paciente respondió a la quimioterapia.	Cualitativa Dicotómica	1=Sin recaída 2=Recaída

- **METODOLOGIA.**

Toma de muestra: Se tomarán 3 muestras de sangre a los pacientes; una muestra de sangre periférica de 3 mL para el análisis de su material genético y las otras dos muestras de sangre de 3 ml, a las 12 y 24 h después de terminar la infusión con Ifosfamida, las cuales se protegerán de la luz y se guardarán a -70°C , para posteriormente obtener por pipeteo 5 muestras de $400\mu\text{L}$ en tarjetas Guthrie 903, se dejará secar por 3 horas a temperatura ambiente y protegida de la luz solar en posición horizontal. Posteriormente las muestras serán colocadas en bolsas de plástico de baja permeabilidad a los gases con desecante añadido para reducir la humedad y se almacenarán a temperatura ambiente hasta el análisis de las muestras, para cuantificación de metabolitos.

Purificación de DNA a partir de sangre periférica.

A partir de mL de sangre se extraer el DNA mediante QIAmp DNA Mini kit, las muestras de DNA se cuantificarán por espectrofotometría (nanodrop) y se conservaran a 4°C hasta su análisis.

Genotipificación mediante el ensayo de discriminación alélicas por sondas TaqMan®.

El análisis de los genotipos se llevará a cabo por medio del ensayo de discriminación alélica utilizando sondas TaqMan. Para cada ensayo de discriminación alélica se obtendrán sondas específicas marcadas con fluoróforos diferentes en el extremo 5', VIC para el alelo y FAM para el alelo de Applied Biosystems, ambas sondas se caracterizaban por poseer en el extremo 3' un "quencher" (TAMRA) el cual mientras la sonda permanece intacta, inhibe la emisión de fluorescencia. Durante la reacción de PCR los primers hibridan con una secuencia específica del templado de DNA. Si éste contiene la secuencia polimórfica, la sonda TaqMan también hibrida con su secuencia homóloga. Durante la PCR, la AmpliTaq Gold, que tiene actividad tanto de DNA polimerasa como de exonucleasa 5'-3', es capaz de digerir la sonda marcada durante la amplificación y liberar el colorante fluorescente de la acción del "quencher", de tal manera que dadas las condiciones de astringencia utilizada durante la reacción, sólo la sonda específica para el polimorfismo presente será capaz de hibridar. Por lo tanto es posible diferenciar un alelo del otro con base en el tipo de fluorescencia emitida. Se cuantificará la fluorescencia de cada

muestra en un equipo Step One, utilizando el software SDS 2.2.1 para discriminación alélica (Applied Biosystems Foster City, CA, USA).

Las sondas que se emplearán son las siguientes:

Gen	Rs
CYP2B6*6	3745274
*5	3211371
*2	8192709
CYP2C9*2	1799853
*3	1057910
CYP3A5*3	776746
*6	10264272

Tabla 5. Sondas empleadas en el estudio

Cuantificación de los metabolitos de la ifosfamida.

Cuantificación de ifosfamida y metabolitos en sangre periférica, y de sus metabolitos tóxicos (dicloro etil ifosfamida, 3 dicloro etil ifosfamida, cloro acetaldehído, hidroxifosfamida y aldo ifosfamida) total en sangre periférica mediante **LC-MS** en fase reversa, con el apoyo del laboratorio del INP.

El análisis se realizará de la siguiente manera:

Se realizarán perforaciones circulares (a las que se les llamará confetis) en la parte central de cada círculo impreso en la tarjeta Guthrie de 3 mm de diámetro con la ayuda de un perforador manual calibrado marca perkin elmer.

Los confetis serán depositados en tubos para microcentrífuga con capacidad para 1.5 mL, se adicionan 50 µL de estándar interno (EI), posteriormente se adiciona 1 mL de éter etílico:acetato de etilo 50:50 v/v, se agitan a máxima velocidad por un minuto y se centrifugarán a 13,500 rpm por 5 minutos, se transferirá el sobrenadante a otro tubo limpio, se evaporan las muestras a 40 °C en baño maría y bajo corriente de nitrógeno, una vez secas las muestras se reconstituirán con 50 µL de acetonitrilo al 50%, se agitan a máxima velocidad por 10 segundos, se transferirá el sobrenadante a viales para inyectar al sistema cromatográfico.

Análisis estadístico.

La comparación de las variables entre expuestos y no expuestos se realizará mediante la prueba de chi cuadrada o exacta de Fisher.

Se realizará la comparación mediante pruebas no paramétricas de U de Mann Whitney y Kruskal Wallis, para establecer la correlación entre los polimorfismos encontrados y los niveles séricos de Ifosfamida.

Finalmente se generará una base de datos en la cual se incluirá la información recolectada de cada paciente y se utilizará el software de SPSS versión 20.0 para realizar el análisis univariado, bivariado y multivariado.

Aspectos éticos.

De acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la Ley General de Salud (artículo 20-27) en Materia de Investigación para la Salud. Título II (de los aspectos éticos de la investigación en seres humanos), capítulo I, Art 13 (respeto, dignidad y protección al paciente), Art 14 (se ajusta al principio

científico y se realizará al tener la aprobación del Comité de Ética), Art 16 (Artículo 17, Sección III (investigación con riesgo mayor al mínimo), se anexa hoja de carta de consentimiento informado, Art 18 Se tomarán en cuenta las disposiciones de Buenas Prácticas Clínicas (ICH harmonized tripartite guideline: Guideline for Good Clinical Practice). Los resultados de este estudio se presentarán de manera agrupada por lo que se mantendrá la confidencialidad de la información de los participantes del estudio. Todo participante después del estudio será referido para su atención médica y/o hospitalización de manera oportuna. El presente estudio no interferirá y/o modificará de alguna manera el régimen de quimioterapia implementado por el oncólogo.

FACTIBILIDAD.

Recursos materiales con los que se cuenta:

En el centro de investigación biomédica del CMN La Raza se cuenta con insumos, espacio y del equipo necesario para el tratamiento de las muestras biológicas y la extracción de los metabolitos de la ifosfamida; se cuenta con el equipo de cromatografía para UPLC (Waters, USA) y un equipo de LC-MS (UPLC acoplado a un detector de masas en tándem Quattro micro™, Waters, USA), ambos equipos se utilizarán para las cuantificaciones de los metabolitos (2 dicloro etil ifosfamida, 3 dicloro etil ifosfamida, cloro acetaldehído, 4 hidroxifosfamida y aldo ifosfamida). Se cuenta además con dos equipos cromatográficos para HPLC con inyecciones automatizadas, bombas y detectores de UV y fluorescencia (Waters, USA). Para el control de estos equipos se cuenta con software especializado como Millennium 32, Empower2 y Mass Lynx.

Equipo de laboratorio: El laboratorio cuenta con 2 balanzas una analíticas y una granataria, un potenciómetro, baño sonicador, micropipetas, cristalería, microcentrífugas de mesa, agitadores magnéticos, estufa de incubación, campana de extracción equipo de extracción, ultracongelador a -20°C, un refrigerador a 8°C.

En el laboratorio de Farmacología NO se cuenta con el equipo para PCR en tiempo real, sin embargo, la Torre de Investigación de este instituto posee el equipo y esta accesible a todos los investigadores, uno de estos equipos en un termociclador de PCR-Tiempo Real que se encuentra ubicado en el laboratorio de Virología Experimental y otro ubicado en el laboratorio de Inmunología experimental, con ambos laboratorios hay el contacto para solicitar el empleo de estos equipos.

Recursos humanos con los que se cuenta:

Los recursos humanos con los que se cuenta para este proyecto son Investigadores en Ciencias Médicas (ICM) uno, así como 2 oncólogos pediatras y un residente de oncología. Pediátrica. Así como una doctora en biología.

El equipo multidisciplinario permite tener especialistas en farmacocinética, en el desarrollo y validación de métodos analíticos, un especialista en el área de la genómica, un epidemiólogo con experiencia en análisis estadísticos, un investigador con experiencia en farmacovigilancia (eventos adversos), y 2 oncólogos pediatras capacitados en el diagnóstico y tratamiento de tumores sólidos e investigadores expertos en las técnicas de biología molecular necesarias para llevar a cabo este proyecto.

PARTICIPANTES:

Nombre: Alejandra Jimena López Sánchez candidato a titulación de la subespecialidad de oncología pediátrica.

Actividades: Participará activamente en el llenado de la carta de consentimiento y asentimiento informado, en el llenado de los cuestionarios de efectos adversos a la ifosfamida, vigilará las infusiones de ifosfamida y sus efectos adversos de la misma, así como tomara muestras, desarrollará una base de datos, para la realización de análisis clínicos a partir del expediente de los pacientes en nuestro estudio, así como de los datos epidemiológicos. Y otra base de datos para el análisis de las frecuencias alélicas y génicas encontradas en la población pediátrica, en conjunto con la **Dra. Susana Elizabeth Anaya Aguirre**. Aplicarán a cada paciente el cuestionario de eventos adversos así como dar seguimiento a estos eventos (anexo 2) durante el tiempo en el que este en tratamiento el paciente así como el vaciado de estos datos a una base de datos.

Carolina Bekker Méndez Enc. de la unidad de investigación biomédica del CMN La Raza.

Actividades: En todas las etapas del proyecto, coordinando todas las actividades, en la parte experimental participará en la separación de los leucocitos, implementación de los métodos de PCR en tiempo real para la genotipificación, análisis de los polimorfismos.

Participará en la obtención del “uffy coat” para la separación de los leucocitos, los cuales serán utilizados para la cuantificación de los metabolitos de ifosfamida mediante UPLC y LC-MS, colaborar en la preparación de las muestras para el análisis cromatográfico, llevar a cabo el desarrollo, validación e implementación de los métodos analíticos que permitirán detectar y cuantificar los metabolitos de la ifosfamida en sangre y plasma. Estos métodos serán implementados en los equipos de cromatografía disponibles en el laboratorio.

Nombre: Dra. Susana Elizabeth Anaya Aguirre (investigador principal) y Dra. Sandra Alicia Sánchez Félix

Actividades: Apoyo en la realización del análisis estadístico de los polimorfismos así como el diseño epidemiológico del proyecto. Así como intervenir en la elaboración de los productos generados en este proyecto: artículos científicos, congresos, etc.

Factibilidad de obtención de las muestras biológicas:

Se precisan de 32 muestras (16 sujetos en el grupo de expuestos y 16 en el de no expuestos) las cuales se podrán obtener durante un máximo de 6 meses considerando que se pueden obtener en menos tiempo de acuerdo a los datos de la frecuencia de estos tumores otorgado por el servicio de oncología es viable puede llegar a obtener este número de pacientes en 7 meses, sin embargo 16 es el número mínimo necesario.

Los exámenes de laboratorio y gabinete que se requieren en este proyecto son : BH, QS, electrolitos, EGO. Pero estos exámenes se realizan de rutina como parte del tratamiento del paciente.

- **RESULTADOS**

Se recabaron resultados de 13 pacientes 6 hombres (46.2%) y 7 mujeres (53.8%), con edad media de presentación de 11 años +/- 3.2, provenientes del Estado de México 9 pacientes, 4 del Distrito Federal y uno de Hidalgo. Estudiantes de primero de primaria (53%), 4 estudiantes de secundaria (30.7%), 2 de bachillerato (15%).

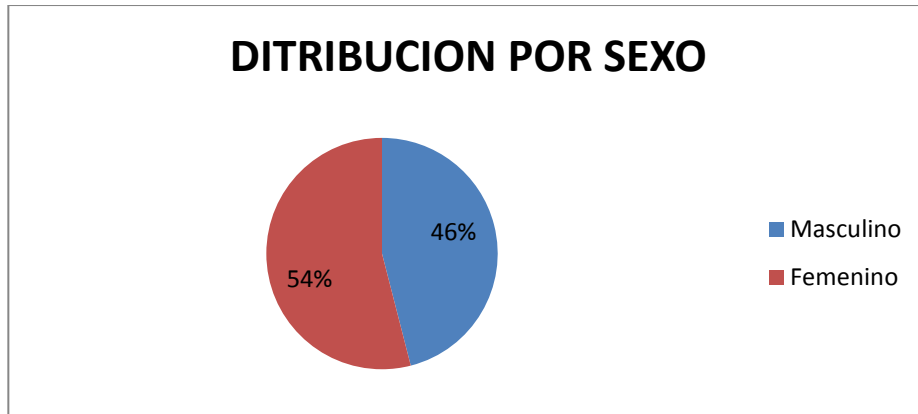


Figura 1. Distribución por sexo de la población estudiada.

En cuanto al estado nutricional: 4 presentaron desnutrición (30.7%), 4 estaban en percentilas de normalidad (30.7%) y 5 presentaban sobrepeso u obesidad (38.5%).

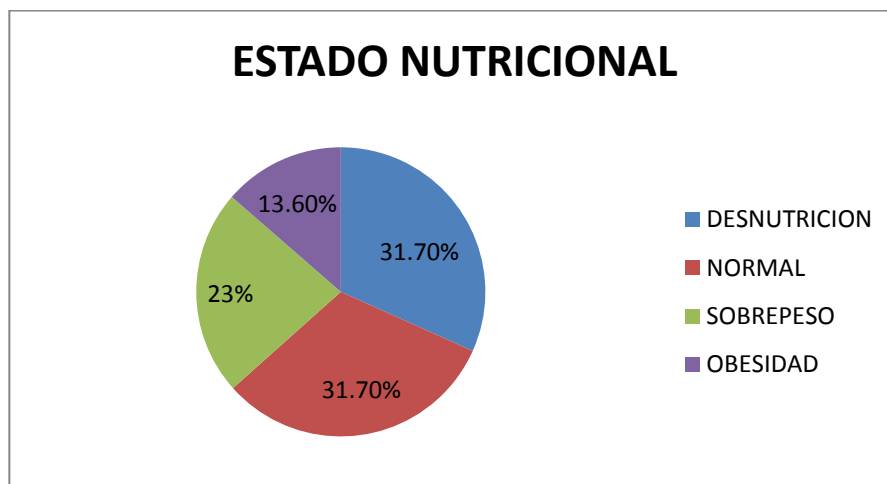


Figura 2. Estado Nutricional de la población estudiada.

Por antecedentes: dos pacientes (15.4%) tuvieron exposición a químicos durante el embarazo, durante 3 pacientes con antecedentes de primera línea de cáncer (23%).

Sobre el tipo de tumor: 4 con diagnóstico de astrocitoma (30.7%), 4 sarcomas de partes blandas(30.7%), 2 endimomas (15.3%), 1 rabdomiosarcoma (7.6%) y 2 tumores neuroectodermicos primitivos (15.3%).

Once pacientes (4.6 %) se encontraban en primera línea de quimioterapia e incluía dentro de su tratamiento la Ifosfamida, captados dentro de los primeros 3 ciclos de quimioterapia. Con metástasis al diagnóstico en 5 pacientes (38.5%).

Los pacientes fueron seleccionados siempre que el esquema de quimioterapia incluyera ifosfamida dentro del primer al tercer ciclo de quimioterapia, previo asentimiento y consentimiento informado, se tomaba una muestra basal de

sangre venosa de 3ml previo al inicio de quimioterapia, se vigilaba la toxicidad de ifosfamida durante su administración y en forma posterior, se registró la dosis que se administraba así como si existía algún grado de toxicidad, por cada paciente se tomó un control a las 12 y 24 hrs de haber concluido la administración de la ifosfamida, dichas muestras se llevaron al centro de investigación biomédica del CMN La Raza, para obtener de la muestra basal, la extracción del DNA genotipificación mediante el ensayo de discriminación alélica por sondas TaqMan. Las otras dos muestras se procesaron para cuantificar los niveles de ifosfamida y metabolitos tóxicos en sangre periférica (2 dicloro etil ifosfamida, 3 dicloroetil ifosfamida, cloro acetaldehído, 4 hidroxifosfamida y aldo ifosfamida).

En cuanto a la toxicidad por ifosfamida que presentaron los pacientes fue más a nivel hematológico, presente en 86 casos de acuerdo a cada línea celular, con un mayor predominio de Linfocitos (44 eventos), Leucocitos (16 eventos), Neutrófilos (14 eventos), Hemoglobina (12 eventos) y 0 eventos relacionados con Plaquetas.

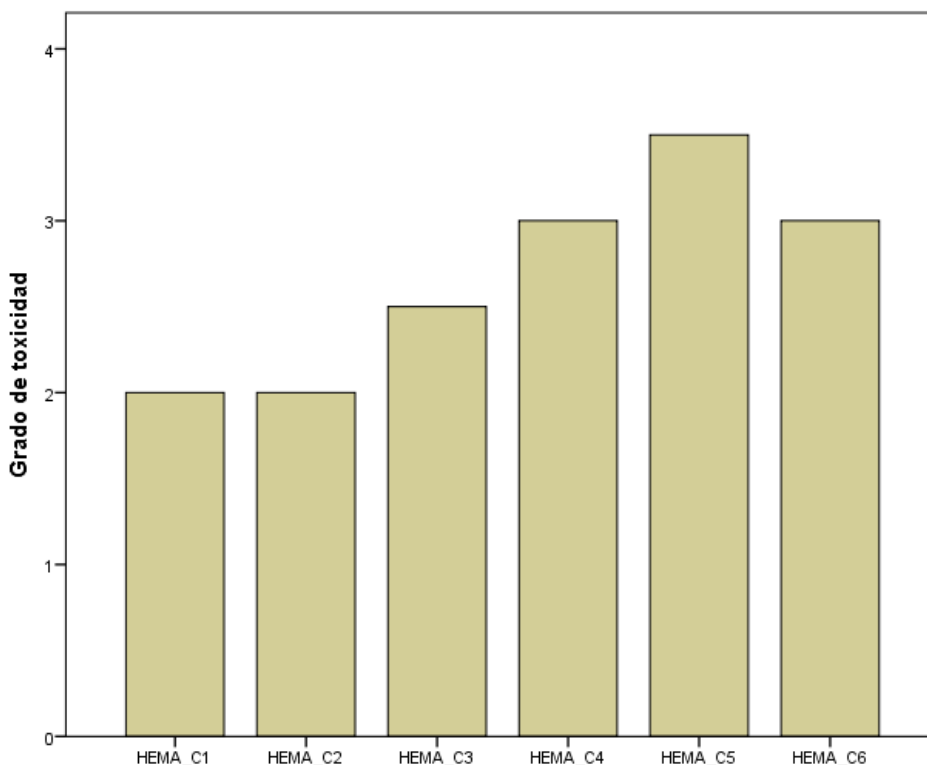


Figura 3: Grado de Toxicidad Hematológica por ciclo.

Tabla 6. TOXICIDAD HEMATOLOGICA POR NUMERO DE PACIENTES AFECTADOS						
Toxicidad Hematológica	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	Ciclo 5	Ciclo 6
Leucocitos	0	1	2	3	4	6
Plaquetas	0	0	0	0	0	0
Hemoglobina	0	2	3	2	2	3
Neutrófilos Totales	2	1	2	2	3	3
Linfocitos	3	9	9	10	7	6

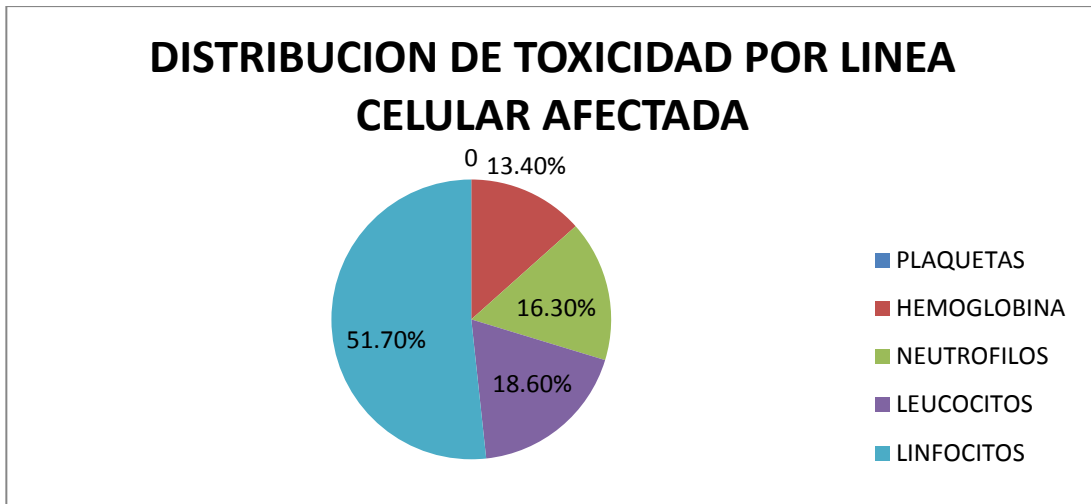
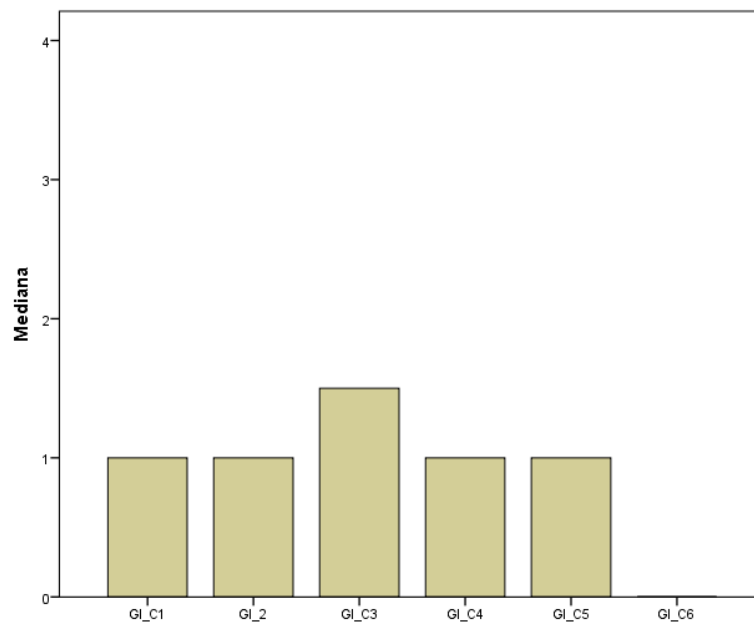


Figura 4. Distribución de Toxicidad Hematológica por Línea Celular Afectada.

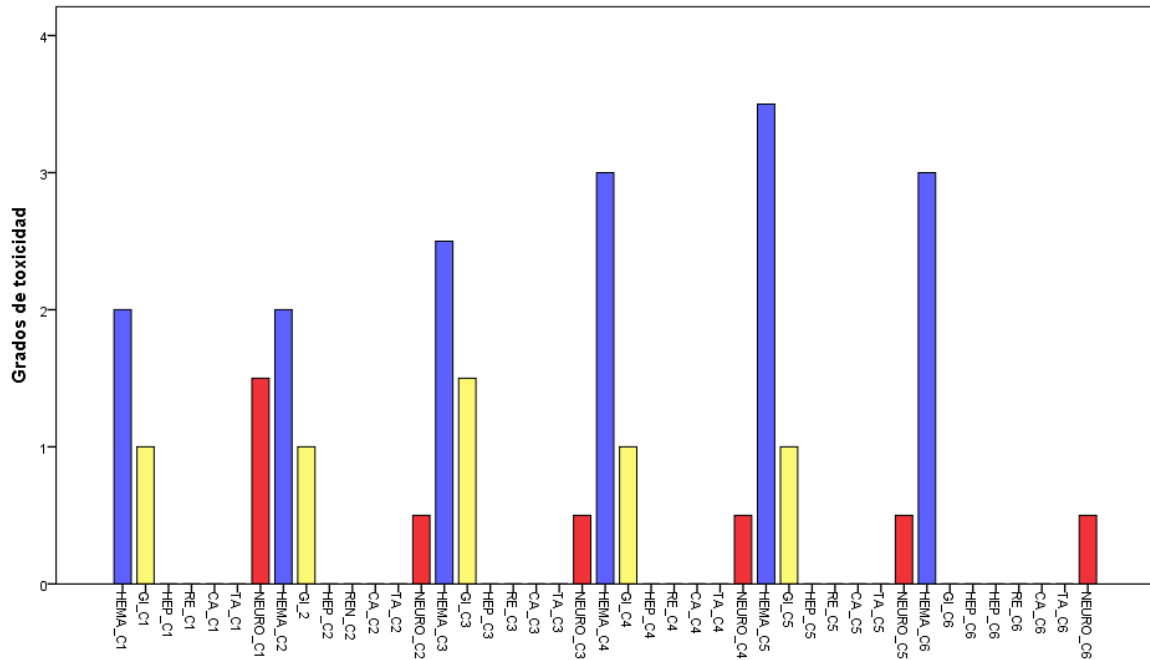
La segunda toxicidad en frecuencia presentada por los pacientes fue la gastrointestinal principalmente náusea y vómito, así como intolerancia a la vía oral, la máxima alcanzada fue grado 2, lo que concuerda con el grado emetógeno de la Ifosfamida, considerada de moderado grado, con un riesgo de presentarse en el 30-90% de los pacientes.

Figura 5. TOXICIDAD GASTROINTESTINAL POR GRADO Y CICLO



La tercera toxicidad en frecuencia que presentaron los pacientes a los que se les administro Ifosfamida fue la neurológica.

Figura 7. RESUMEN DE TOXICIDAD GENERAL



POLIMORFISMOS

Se estudiaron 7 polimorfismos –SNP’s- : rs8192709, rs3211371, rs3745274, rs776746, rs10264272, rs1799853, rs1057910. Teniendo como resultado las siguientes descripciones por cada paciente:

	SNP 1	SNP 2	SNP 3	SNP 4	SNP 5	SNP 6	SNP 7
PACIENTE	rs8192709	rs3211371	rs3745274	rs776746	rs10264272	rs1799853	rs1057910
IFOS-51	CC	CC	GG	CC	CC	CC	AA
IFOS-52	CC	CC	GG	TC	CC	CC	AA
IFOS-53	CC	TT	GT	CC	CC	CC	AA
IFOS-54	CC	CC	GG	TC	CC	CT	AA
IFOS-55	CC	CC	GG	CC	CC	CC	AA
IFOS-56	CT	CT	GT	TC	CC	CC	AA
IFOS-57	CC	CC	GG	CC	CC	CC	AA
IFOS-58	CC	CC	GG	TC	CC	CC	AA
IFOS-59	CC	CC	GG	CC	CC	CC	AA
IFOS-60	CT	CC	GT	TC	CC	CC	U
IFOS-61	CC	CC	GG	CC	CC	TT	U
IFOS-62	CC	CC	GG	TC	CC	CC	AA
IFOS-63	CC	CC	GG	TT	CC	CC	AA

Tabla 7. Determinación de polimorfismos en cada SNP por paciente.

De cada polimorfismo encontrando, se consideró un cariotipo basal (el más frecuente en la población) y se comparó con el mutado correlacionándose con los niveles de Ifosfamida a las 12 y 24 horas, esto para 5 genes, ya que 2 fueron eliminados al sólo encontrarse variantes homocigotas (Gen 5 y 7).

Se realizó la prueba de U de Mann Whitmann o de Kruskal Wallis, consideradas pruebas no paramétricas, debido al reducido tamaño de muestra. La prueba fue elegida dependiendo del número de polimorfismos en cada gen, así por ejemplo, si se contaban con 2 variantes, como en el caso del gen 1, 3 y 6. Asimismo se compararon el gen 2 y 4, con la prueba de Kruskal Wallis, al encontrarse 3 variantes en cada gen, siempre correlacionando con los niveles séricos de Ifosfamida encontrados, los cuales se describen a continuación.

PACIENTE	ST12H μ M	ST24H μ M
IFOS-51	124.01	71.7
IFOS-52	477	183.2
IFOS-53	51.21	10.65
IFOS-54	89.3	8.1
IFOS-55	8.1	0.75
IFOS-56	33.6	3.6
IFOS-57	4.17	0.08
IFOS-58	32.2	3.6
IFOS-59	23.4	10.2
IFOS-60	83.77	12
IFOS-61	16.5	0.5
IFOS-62	69.71	12.2
IFOS-63	60.51	5.47

Tabla 8. Niveles de Ifosfamida a la hora 12 y 24 por cada paciente.

PACIENTE	rs8192709	rs3211371	rs3745274	rs776746	rs10264272	rs1799853	rs1057910	ST12H μ M	ST24H μ M
IFOS-51	CC	CC	GG	CC	CC	CC	AA	124.01	71.7
IFOS-52	CC	CC	GG	TC	CC	CC	AA	477	183.2
IFOS-53	CC	TT	GT	CC	CC	CC	AA	51.21	10.65
IFOS-54	CC	CC	GG	TC	CC	CT	AA	89.3	8.1
IFOS-55	CC	CC	GG	CC	CC	CC	AA	8.1	0.75
IFOS-56	CT	CT	GT	TC	CC	CC	AA	33.6	3.6
IFOS-57	CC	CC	GG	CC	CC	CC	AA	4.17	0.08
IFOS-58	CC	CC	GG	TC	CC	CC	AA	32.2	3.6
IFOS-59	CC	CC	GG	CC	CC	CC	AA	23.4	10.2
IFOS-60	CT	CC	GT	TC	CC	CC	U	83.77	12
IFOS-61	CC	CC	GG	CC	CC	TT	U	16.5	0.5
IFOS-62	CC	CC	GG	TC	CC	CC	AA	69.71	12.2
IFOS-63	CC	CC	GG	TT	CC	CC	AA	60.51	5.47

Tabla 9. Tabla de correlación entre polimorfismos, SNP y niveles de Ifosfamida de hora 12 y 24.

Los resultados obtenidos, por cada SNP y sus correlaciones, se describen a continuación.

Tabla 10. Resultados de Polimorfismos para SNP 1

SNP 1- rs8192709				
	GENOTIPO	FRECUENCIA	MEDIANA	RI
12 HORAS	CC	11	51	(16-477)
	CT	2	58.8	(33.6-84)
24 HORAS	CC	11	8.1	(2.17-11.5)
	CT	2	7.8	(3.6-12)

Figura 8. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP1 a la hora 12

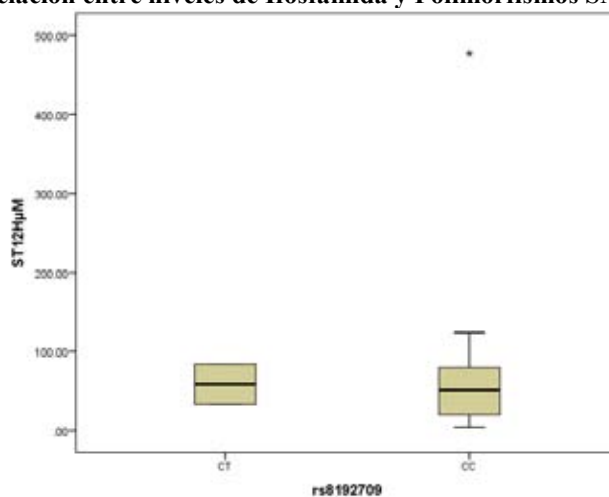


Figura 9. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP1 a la hora 24

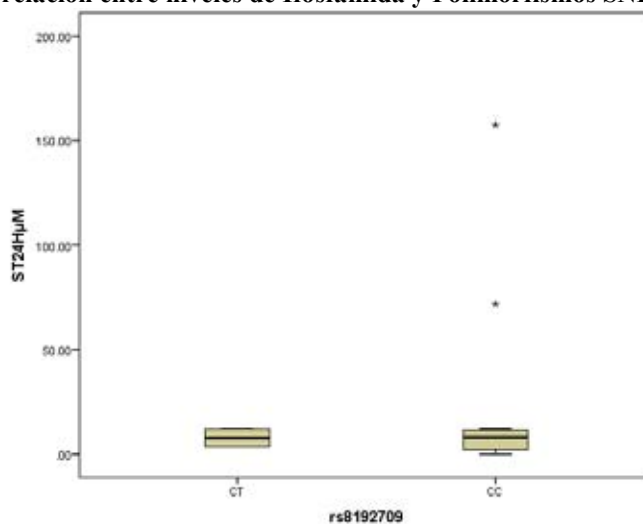


Tabla 11. Prueba de U de Mann-Whitney para SNP1

Rs8192709	ST12HµM	ST24HµM
U de Mann-Whitney	9.000	10.000
W de Wilcoxon	75.000	76.000
Z	-.395	-.198
Sig. asintót. (bilateral)	.693	.843
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.769 ^b	.923 ^b

Tabla 12. Resultados de Polimorfismos para SNP 2

SNP 2- rs3211371				
	GENOTIPO	FRECUENCIA	MEDIANA	RI
12 HORAS	CC	11	61	(16-406)
	CT	1	33.6	
	TT	1	51.2	
24 HORAS	CC	11	8.1	(0.75-140)
	CT	1	3.6	
	TT	1	10.65	

Figura 10. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP2 a la hora 24

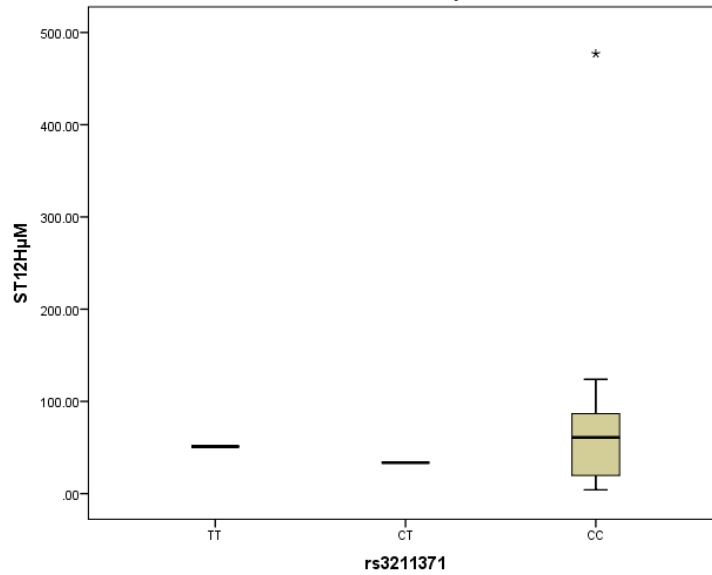


Figura 11. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP2 a la hora 24

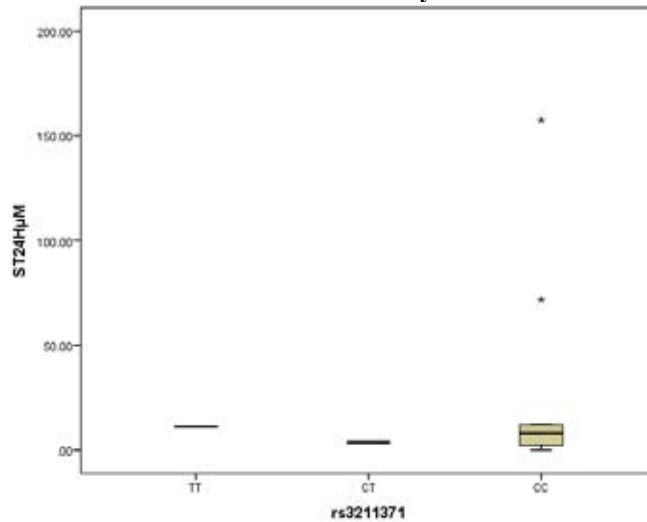


Tabla 13. Prueba de Kruskal-Wallis para SNP2

Kruskal-Wallis rs3211371	ST12HµM	ST24HµM
Chi-cuadrado	.072	.681
gl	2	2
Sig. asintót.	.965	.711

Tabla 14. Resultados de Polimorfismos para SNP 3

SNP 3- rs3745274				
	GENOTIPO	FRECUENCIA	MEDIANA	RI
12 HORAS	GG	10	46.6	(16-89.3)
	GT	3	51	(42.3-67.5)
24 HORAS	GG	10	6.5	(0.75-12)
	GT	3	11	(7.3-11.5)

Figura 12. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP3 a la hora 12

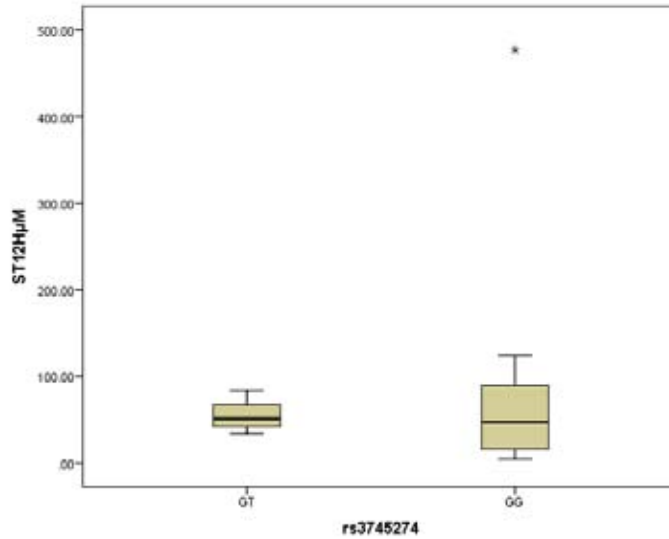


Figura 13. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP3 a la hora 24

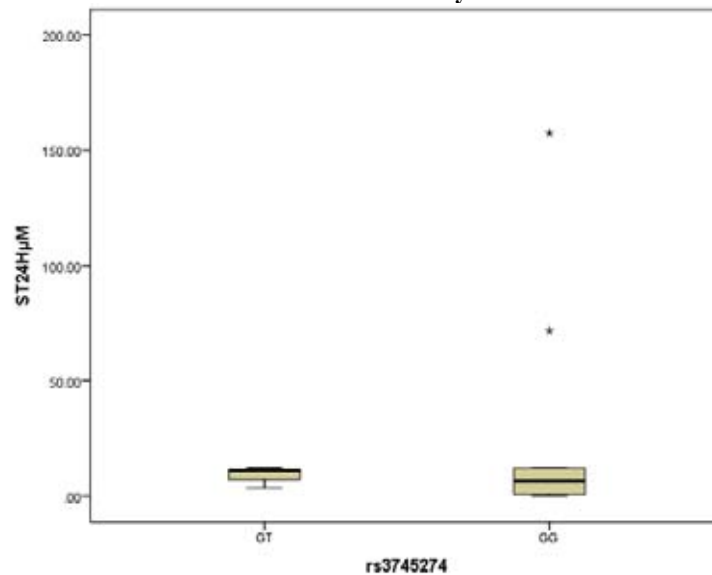


Tabla 15. Prueba de U de Mann-Whitney para SNP3

Rs3745274	ST12HµM	ST24HµM
U de Mann-Whitney	13.000	12.000
W de Wilcoxon	68.000	67.000
Z	-.338	-.508
Sig. asintót. (bilateral)	.735	.611
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.811 ^b	.692 ^b

Tabla 16. Resultados de Polimorfismos para SNP 4

SNP 4- rs776746				
	GENOTIPO	FRECUENCIA	MEDIANA	RI
12 HORAS	CT	6	77	(33.6-89.3)
	CC	6	19.7	(8.1-51)
	TT	1	60.51	
24 HORAS	CT	6	6.5	(0.75-12)
	CC	6	5.47	(0.08-11)
	TT	1	5.47	

Figura 14. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP4 a la hora 12

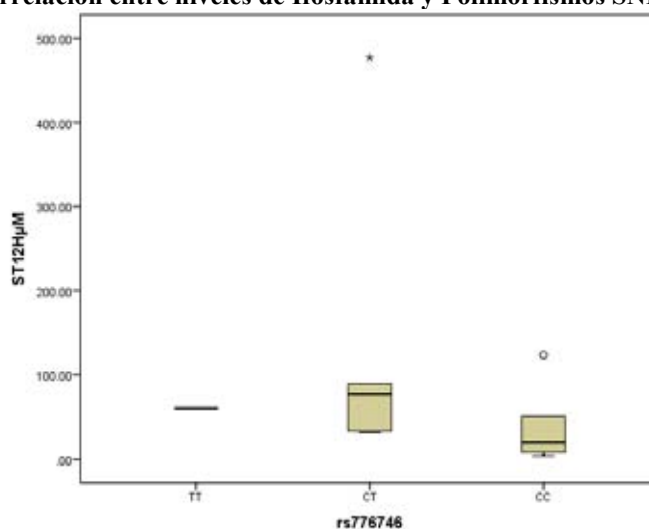


Figura 15. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP4 a la hora 24

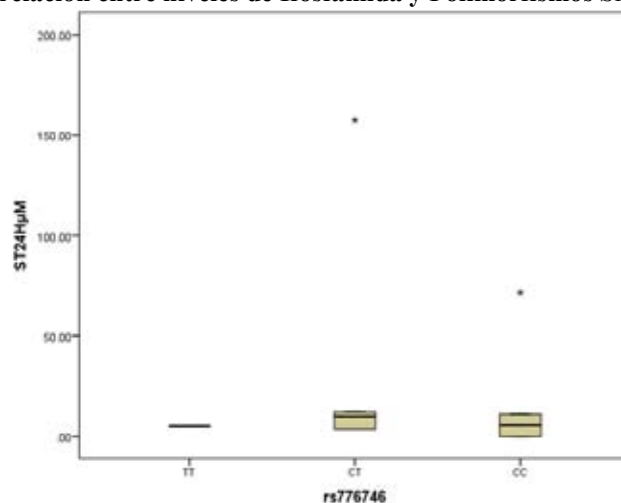


Tabla 17. Prueba de Kruskal-Wallis para SNP4

Kruskal-Wallis rs776746	ST12HµM	ST24HµM
Chi-cuadrado	3.505	1.315
Gl	2	2
Sig. asintót.	.173	.518

Tabla 18. Resultados de Polimorfismos para SNP 6

SNP 6- rs1799853				
	GENOTIPO	FRECUENCIA	MEDIANA	RI
12 HORAS	CC	12	42.3	(19.7-77)
	CT	1	89.3	
	TT	1	16.5	
24 HORAS	CC	12	7.6	(1.46-12)
	CT	1	8.1	
	TT	1	0.5	

Figura 16. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP6 a la hora 12

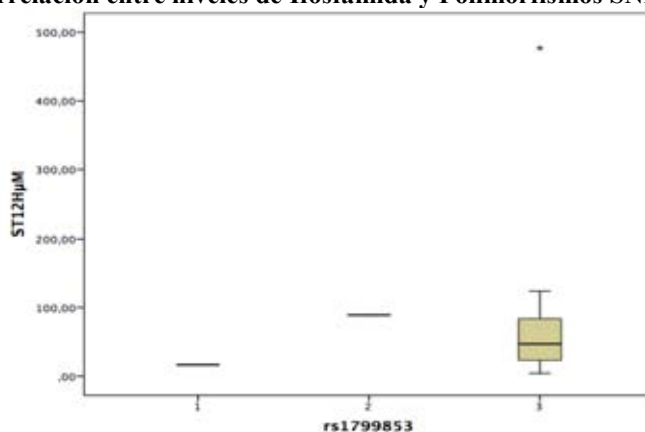


Figura 17. Correlación entre niveles de Ifosfamida y Polimorfismos SNP6 a la hora 24

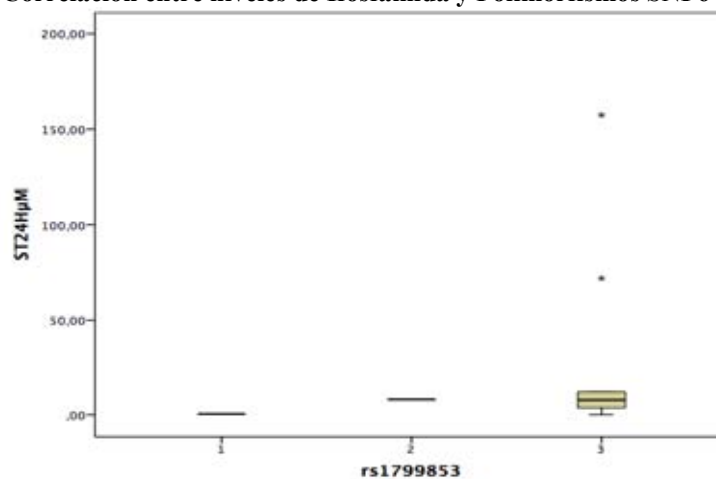


Tabla 19. Prueba de U de Mann-Whitney para SNP6

	ST12HµM	ST24HµM
U de Mann-Whitney	2.000	6.000
W de Wilcoxon	80.000	84.000
Z	-1.069	0.000
Sig. asintót. (bilateral)	.285	1.000
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	.462 ^b	1.000 ^b

CORRELACION DE POLIMORFISMOS Y TOXICIDAD DE IFOSFAMIDA

Se realizó la correlación entre el ciclo con mayor grado de toxicidad a nivel hematológico, encontrando los siguientes resultados a las 12 y 24 hrs:

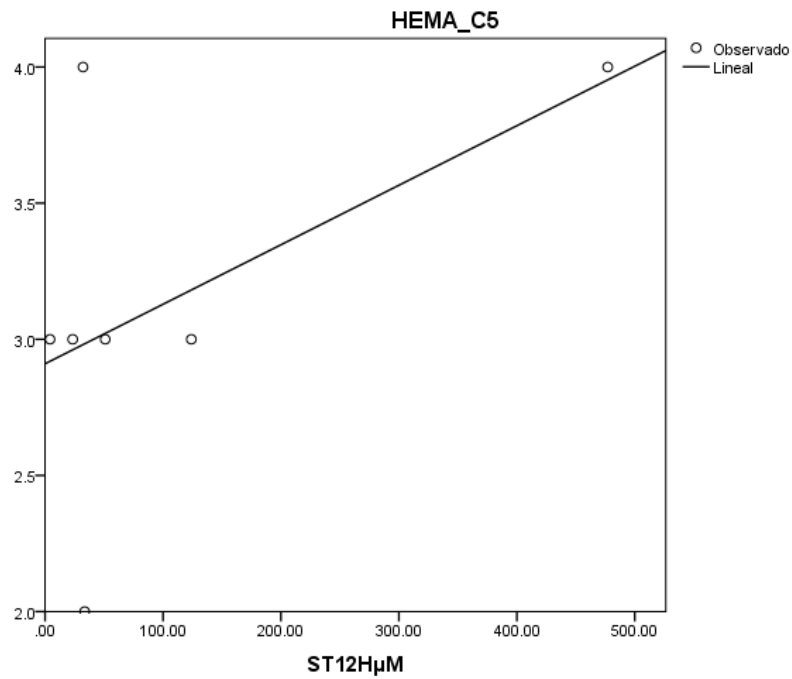


Figura 18. Relación entre los niveles de Ifosfamida a la hora 12 y el grado de toxicidad hematológica en ciclo 5

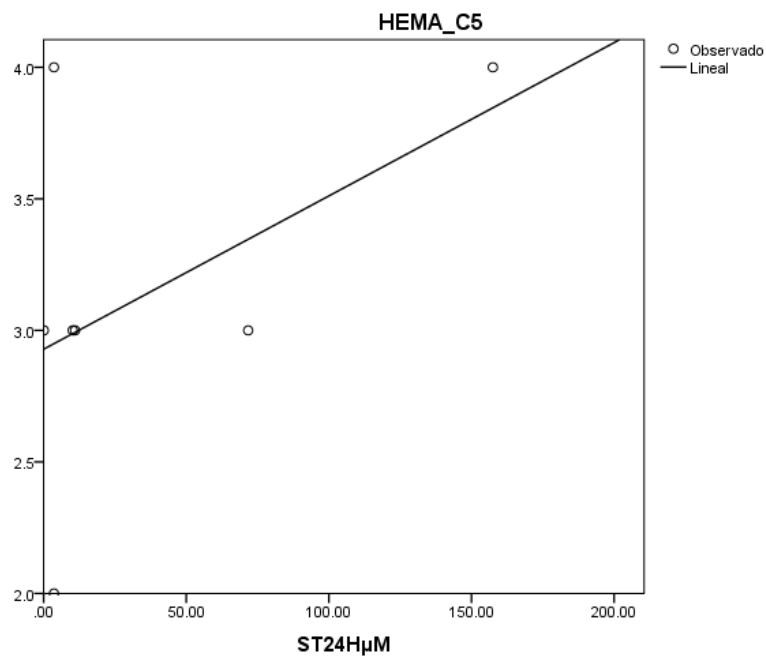


Figura 19. Relación entre los niveles de Ifosfamida a la hora 24 y el grado de toxicidad hematológica en ciclo 5.

Asimismo la toxicidad gastrointestinal y neurológica, siguió el mismo comportamiento:

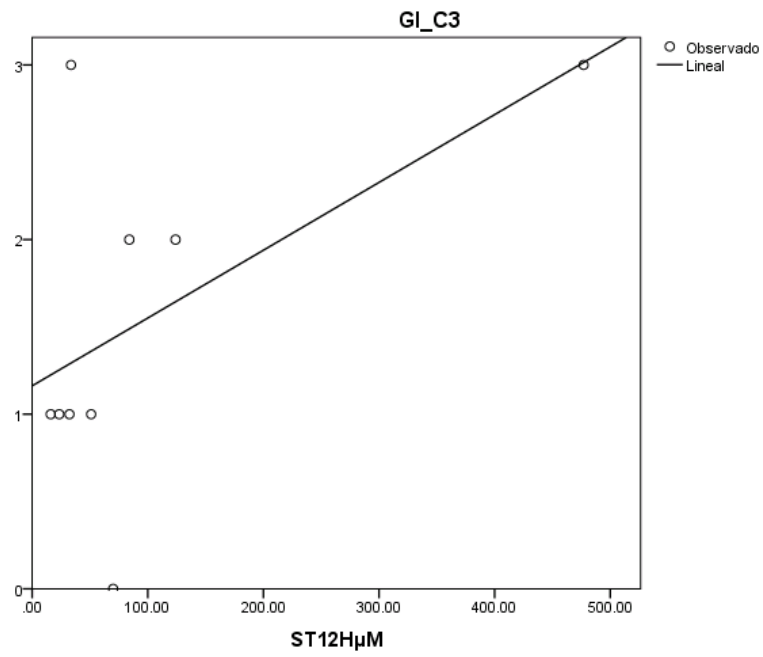


Figura 20. Relación entre los niveles de Ifosfamida a la hora 12 y el grado de toxicidad gastrointestinal en ciclo 3.

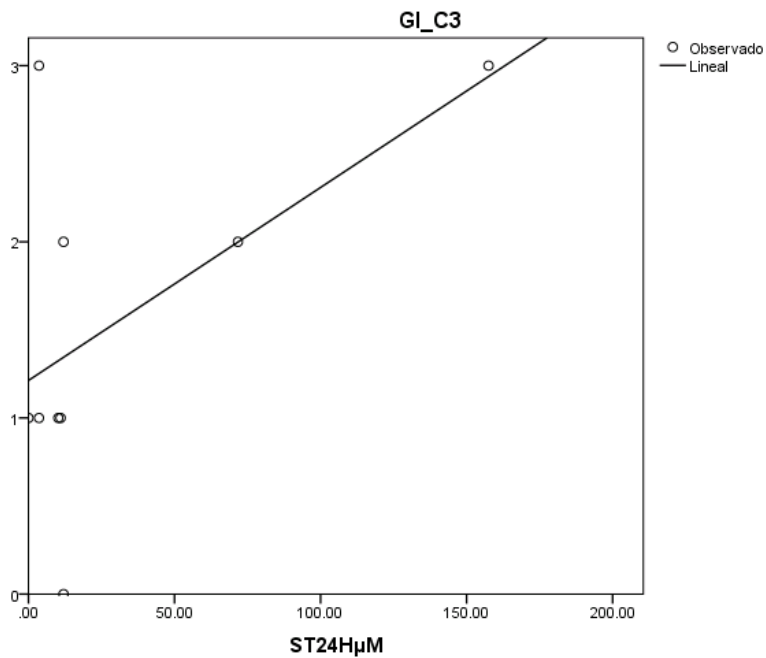


Figura 21. Relación entre los niveles de Ifosfamida a la hora 24 y el grado de toxicidad gastrointestinal en ciclo 3.

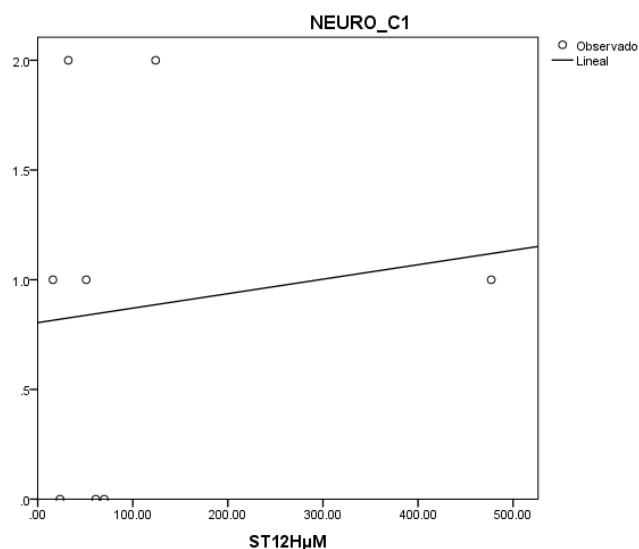


Figura 22. Relación entre los niveles de Ifosfamida a la hora 12 y el grado de toxicidad neurológica en el ciclo 1.

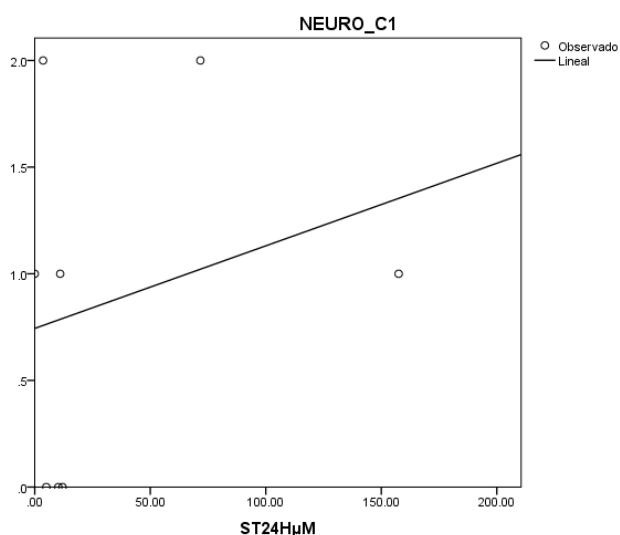


Figura 23. Relación entre los niveles de Ifosfamida a la hora 24 y el grado de toxicidad neurológica en el ciclo 3.

• DISCUSION DE RESULTADOS

Cada individuo reacciona de manera diferente a los agentes quimioterapéuticos y puede ocurrir que un paciente reaccione favorablemente a la quimioterapia “respondedor” o que no presente respuesta al tratamiento “no respondedor”, que no experimenten ningún efecto adverso o que estos efectos varíen de intensidad a lo largo de todo el tratamiento, esto se atribuye a diversos factores tanto genéticos como no genéticos. Estos factores pueden afectar la absorción, y distribución del fármaco, su interacción con el sustrato (receptor y/o enzima), su metabolismo (función hepática) y su excreción (función renal).

La ifosfamida es metabolizada por CYP2B6, CYP3A4, CYP3A5, del 60-80 % de los fármacos de mayor uso son metabolizados por genes que pertenecen a la familia del citocromo P450 (CYP450) los genes *CYP2D6*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP3A4/5*. Los genes CYP pertenecen a una superfamilia de genes citocromo P450 (CYP 450), que está integrada por más de 200 genes, en este estudio se analizaron un total de 7 SNP, en una muestra de 13 pacientes, ya

que por cuestiones técnicas no fue posible llegar al tamaño de muestra propuesto, con diagnóstico de tumores sólidos (astrocitomas, sarcomas de tejidos blandos no rabdomiosarcomas, ependimomas, rabdomiosarcoma y tumor neuroectodérmico primitivo), todos manejados con Ifosfamida con dosis de 6-9 gr/m² por ciclo, dependiendo del protocolo empleado de acuerdo al diagnóstico. Se analizaron 3 SNP del gen CYPB6 (CYPB6*2: rs8192709, CYPB6*5: rs3211371, CYPB6*6: rs3745271), 2 SNP del gen CYP3A5 (CYP3A5*3: rs776746, CYP3A*6: rs10264272) y 2 SNP del gen CYP2C9 (CYP2C9*2: rs1799853, CYP2C9*3: rs1057910), para un total de 7 SNP, en cada uno se determinó el genotipo más frecuente y otro mutado, encontrando en monoformismo en los SNP rs10264272 y rs1057910 (denominados SNP 5 y 7), por lo que fueron descartados para realizar análisis comparativo.

En cuanto a los 5 SNP restantes, encontramos tendencias en las correlaciones con los niveles de Ifosfamida detectados. Se realizó correlación mediante pruebas no paramétricas de U de Mann Whitney o Kruskal Wallis dependiendo del número de variantes (2 ó 3). Sin embargo, debido al tamaño de muestra, no fue posible encontrar significancia estadística en ninguno de los casos, sólo ciertas tendencias, relacionándose sobre todo con el SNP 4-rs776746- con una significancia de 0,173 a las 12 horas, y de 0.518 a la hora 24, en este caso encontramos que la variante TT, parece correlacionarse con menor metabolismo sobretodo a las 24 horas, recordando que dicho SNP, pertenece al CYP3A5*3. El segundo SNP con mayor tendencia a niveles bajos de metabolismo fue el SNP 6-rs1799853-, en el cual se encontró una significancia de 0.285 a la hora 12 y de 1 a la hora 24, relacionado al CYP2C9*2, con la variante CT presentando el menor nivel de metabolismo de ifosfamida. En tercer lugar, encontramos el SNP 2-rs3211371- con una significancia de 0.965 a la hora 12 y de 0.711 a la hora 24, dicho SNP, en relación al gen CYPB6*5, encontrándose mayores niveles en el genotipo basal que en el mutado. El cuarto SNP fue el denominado SNP 3-rs3745274- con una significancia de 0.811 a la hora 12 y de 0.692 a la hora 24, esto en relación al gen CYPB6*6, con la variante GT presentando mayores niveles del fármaco. En quinto lugar encontramos el SNP 1-rs8192709-, con niveles de significancia de 0.769 y de 0.923 a la hora 12 y 24 respectivamente, nuevamente con el genotipo variante CT presentando menor eliminación, esto en relación al gen CYPB6*2.

El gen con mayor tendencia a la significancia fue el CYP3A5*3. El gen CYP3A5 se localiza en la región 7q21.1 constituido por 13 exones, codifica para una proteína de 502 aa se expresa en hígado e intestino.

El SNP causante de la pérdida de expresión de este gen en el hígado es **CYP3A5*3** (22893 A>G) en el intrón 3, que causa un empalme alternativo del exón 3B y trunca la proteína, por lo tanto, hay una expresión muy baja de la proteína, de ahí que pueda encontrarse correlación con los niveles elevados de Ifosfamida detectados. Asimismo, llama la atención el caso único del SNP 2, en el cual se encontró que la variante basal fue la que presentó menor metabolismo del fármaco, a diferencia del resto de los SNP, en los que la variante diferente a la basal o más frecuente, fue la que se relacionó con alteraciones en el metabolismo.

En cuanto a los niveles de toxicidad, detectamos que la mayor toxicidad fue encontrada a nivel hematológico, seguida del gastrointestinal y neurológico. Encontrándose una tendencia de correlación lineal entre los niveles de ifosfamida y el grado de toxicidad, en el cual a menor grado de eliminación de fármaco o lo equivalente a un mayor nivel sérico, se presenta un nivel más alto de toxicidad, de predominio hematológico, con mayor disminución en el recuento de linfocitos.

- **CONCLUSIONES**

La medicina individualizada poco a poco va presentándose como una realidad posible. La quimioterapia al no ser específica para células tumorales, cuenta entre otras desventajas con la toxicidad dosis limitante. En este estudio se corroboró la correlación positiva entre los niveles de toxicidad y los niveles elevados de Ifosfamida marcando un patrón de metabolismo relacionado con ciertos genes y enzimas metabolizadoras, como el caso del CYP3A5*3 de acuerdo a nuestros resultados, de ahí la llamada susceptibilidad genética de algunos pacientes para ciertos medicamentos.

Consideramos este estudio como un estudio piloto, en vías de ampliar la muestra para poder corroborar las tendencias presentadas e individualizar tratamientos sobre todo adaptados a las necesidades de la población mexicana, con características inherentes y diferentes a las encontradas en las referencias internacionales, con la finalidad de que, mediante un tratamiento individualizado se elija el tratamiento adecuado para cada paciente, ya que por ejemplo, al detectar a un paciente denominado “metabolizador lento” se podría ajustar la dosis para sin sacrificar el efecto terapéutico, disminuir la toxicidad asociada al fármaco, mediante dosis menores pero efectivas, con la menor toxicidad y así mejorar la calidad de vida del paciente sobreviviente.

• **REFERENCIAS.**

¹ Dirección General de Información en Salud (DGIS). Base de datos de egresos hospitalarios por mortalidad en Instituciones Públicas, - . [en línea Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS). [México Secretaría de Salud. <<http://www.sinais.salud.gob.mx>> [Consulta: 4 julio 2013].

² Catalogo de indicadores INP. 2012. Secretaría de Salud.

³ Rivera R. Editor. Protocolos Técnicos C ncer en Niños. Consejo Nacional para la prevención y el tratamiento del c ncer en la infancia y la adolescencia. 3 pp. Impreso en México IS N -607-7817-10-9.

⁴ Parkin D, Kramarova E, Draper G et al. 1999. International Incidence of Childhood cancer, vol II, Lyon, France: IARC Scientific Publications.

⁵ Navajasa A y Peri R. Tumores de la infancia consideraciones epidemiológicas y terapéuticas. JANO 2007. 668: 29-37

⁶ Mulder R, Paulides M, Langer T, Kremer L, van Dalen E. Ciclofosfamida versus ifosfamida para niños y adultos jóvenes con sarcoma de tejidos blandos y óseo (Revision Cochrane traducida): Biblioteca Cochrane Plus. 2010 Número 2.

⁷ Zhang J, Tian Q, Chan S, Duan W, and Zhou S. Insights into oxazaphosphorine resistance and possible approaches to its circumvention. Drug Resistance Updates. 2005 28: 271-97.

⁸ Lewis D. 57 varieties: the human cytochromes P450. Pharmacogenomics 2004. 5(3): 305–318.

⁹ Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich F. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. J Pharmacol Exp Ther. 1994 270:414-23.

¹⁰ Chang T, Weber G, Crespi C, Waxman D. Differential activation of cyclophosphamide and ifosphamide by cytochromes P-450 2B and 3A in human liver microsomes. Cancer Res. 1993; 5629-37.

¹¹ Ariyoshi N, Miyazaki M, Toide K, Sawamura Y, and Kamataki T. A Single Nucleotide Polymorphism of CYP2B6 Found in Japanese Enhances Catalytic Activity by Autoactivation. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2001 281:1256–1260

¹² Li J, Menard V, Benish R, Jurevic R, Guillemette C, Stoneking M, Zimmerman P, Mehlotra R.. Worldwide variation in human drug-metabolism enzyme genes CYP2B6 and UGT2B7: implications for HIV/AIDS treatment. Pharmacogenomics. 2012 13(5): 555-570.

¹³ Desta Z, Saussele T, Ward B et al. Impact of CYP2B6 polymorphism on hepatic efavirenz metabolism in vitro. Pharmacogenomics. 2007 8: 547 – 58.

¹⁴ Hofmann MH, Bliedernicht JK, Klein K et al. Aberrant splicing caused by single nucleotide polymorphism c.516G.T [Q172H], a marker of CYP2B6*6, is responsible for decreased expression and activity of CYP2B6 in liver. Pharmacol Exp Ther. 2008 325:284 – 92.

¹⁵ Hasse B, Günthard H, Bleiber G and Krause M. Efavirenz Intoxication Due to Slow Hepatic Metabolism. 2005. Clinical Infectious Diseases. 2005 40(3): e22-223.

¹⁶ Ribaldo H, Liu H, Schwab M, Schaeffeler E, Eichelbaum M, Motsinger-Reif A, Ritchie M, Zanger U, Acosta E, Morse G, Gulick R, Robbins G, Clifford, D., and Haas, D.. Effect of CYP2B6, ABCB1, and

CYP3A5 Polymorphisms on Efavirenz Pharmacokinetics and Treatment Response: An AIDS Clinical Trials Group Study. *J Infect Dis.* 2010 202(5):717-722

¹⁷ Rotger M, Tegude H, Colom o S, Cavassini M, Furrer H, Décosterd L, Lievernicht J, Saussele T, G nthard F, Schwa M, Eichelbaum M, Telenti A, Zanger U. Predictive value of known and novel alleles of CYP2B6 for efavirenz plasma concentrations in HIV-infected individuals. *Clin Pharmacol Ther.* 2007 81:557-66.

¹⁸ Bray J, Sludden J, Griffin M, Cole M, Verrill M, Jamieson D and Boddy A. Influence of pharmacogenetics on response and toxicity in breast cancer patients treated with doxorubicin and cyclophosphamide. *British Journal of Cancer.* 2010 102:1003 – 1009.

¹⁹ Ekhardt C, Doodeman V, Rodenhuis S, Smits P, Beijnen J and Huitema A. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes (GST, CYP2B6 and CYP3A) affect the pharmacokinetics of thiotepa and tepla. *British Journal of Clinical Pharmacology.* 2008 67(1): 50-60.

²⁰ Yasar U, Lundgren S, Eliasson E, Bennet A, Wiman B, de Faire U, and Rane A.. Linkage between the CYP2C8 and CYP2C9 genetic polymorphisms. *Biochem Biophys Res Commun* 2002 299:25–28.

²¹ Rodrigues D. Impact of CYP2C9 genotype on pharmacokinetics: are ciclooxigenase inhibitors the same?. *Drug metabolism and disposition.* 2005 33:1567–1575.

²² Goldstein J. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol.* 2001 52:349–355.

²³ Schwarz U. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C9 gene. *Eur J Clin Invest.* 2003 33: 23–30.

²⁴ Rodriguez C, Sayi J, Gustafsson L, et al. Phenotype-genotype variability in the human CYP3A locus as assessed by the probe drug quinine and analyses of variant CYP3A4 alleles. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005 338:299–305.

²⁵ Kittles R, Chen W, Panguluri R et al. CYP3A4-V and prostate cancer in African Americans: causal or confounding association because of population stratification? *Hum Genet.* 2002 110:553–560.

²⁶ Reyes O, Lares I, Sosa M, Vegaa L, Albores A and Elizondo G. A Comparative Study of CYP3A4 Polymorphisms in Mexican Amerindian and Mestizo Populations. *Pharmacology.* 2008 81:97–103

²⁷ Silva I, Hidalgo A, Estrada J, et al. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in México. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009 106: 8611e8616.

²⁸ Gonzalez H, Romero E, Peregrina A, Chavez T, Escobar E, Lozano F, and Hoyo C. CYP C - and CYP3A4- Dependent Omeprazole Metabolism in West Mexicans. *J Clin Pharmacol.* 2003 43:1211-1215.

²⁹ Castaneda G, Hoyo C, Palma J. Pharmacokinetics of oral nifedipine in different populations. *J Clin Pharmacol.* 1993 33:140–145.

³⁰ Palma J, Gonzalez J, Flores F, Castaneda G. Bioavailability of oral cyclosporine in healthy Mexican volunteers: evidence for interethnic variability. *J Clin Pharmacol.* 1997 37:630-634.

³¹ Chavez L, Castaneda G and Flores F. Pharmacokinetics of Midazolam in Mexicans Evidence for Interethnic Variability. *Clin Drug Invest.* 1999 17(3): 233-239.

³² Elens L, van Gelder T, Hesselink D, Haufroid V, van Schaik R. CYP3A4*22: promising newly identified CYP3A4 variant allele for personalized pharmacotherapy. *Pharmacogenomics.* 2013 14(1):47-62.

³³ Wang D, Guo Y, Wrighton S, Cooke G and Sadee W. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *Pharmacogenomics J.* 2011 11(4): 274–286.

-
- ³⁴ García P, Medeiros M, Reyes H, Rodríguez B, Alberu J, Ortiz L, Vásquez M, Elizondo G, Morales L, Mancilla E, and Castañeda G. CYP3A5 Polymorphism in Mexican Renal Transplant Recipients and its Association with Tacrolimus Dosing. *Archives of Medical Research*. 2012 43: 283-287.
- ³⁵ Sailaja K, Surekha D, Nageswara D, Raghunadha D, Vishnupriya S. Analysis of CYP3A5*3 and CYP3A5*6 Gene Polymorphisms in Indian Chronic Myeloid Leukemia Patients. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2010 11: 781-784.
- ³⁶ Egbelakin A, Ferguson M, MacGill E, Lehmann A, Topletz A, Quinney S, Lang L, McCammack K, Hall S, and Renbarger J. Increased Risk of Vincristine Neurotoxicity Associated with Low CYP3A5 Expression Genotype in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2011 56(3): 361–367.
- ³⁷ Manase HR Thompson KK. Medication safety : a guide for health care facilities American Society of Health-System Pharmacists, Bethesda MD 2005, 380pp.
- ³⁸ López E, Sepúlveda A, Rioscovian A, Aguilar , Wanzke V and Cerecedo F. Neurotoxicidad por ifosfamida. Informe de un caso y revisión de i liografía. *GAMO*. 55-58.
- ³⁹ Ames B, Lewis L, Chaffee S. et al. Ifosfamide-induced encephalopathy and movement disorder. *Pediatr Blood Cancer*. 2010 54:624-6.
- ⁴⁰ Bruggers C, Friedman H, Tien R, Delong R.. Cerebral atrophy in an infant following treatment with ifosfamide. *Med Pediatr Oncol*. 1994 23:380-3.
- ⁴¹ David K, and Picus J. Evaluating risk factors for the development of ifosfamide encephalopathy. *Am J Clin Oncol*. 2005 28:277-80.

ANEXO 1. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS EPIDEMIOLOGICOS.

“Variaciones genéticas en citocromo P450 (CYP450) asociadas a eventos adversos en pacientes pediátricos mexicanos con tumores sólidos embrionarios tratados con ifosfamida 068/2013”.

FOLIO _____	No. de Expediente _____	
NOMBRE DEL PACIENTE _____	FECHA DE NACIMIENTO _____	NUMERO DE TEL PACIENTE _____
DIRECCIÓN DEL PACIENTE: _____		
FECHA DE CAPTACIÓN DEL PACIENTE: ____ / ____ / ____		

A. DATOS DEMOGRAFICOS

1.- Edad _____ años.
 2.- Fecha de Nacimiento: _____
 3.- Sexo 1 M 2 F.
 4.- Escolaridad: _____
 5.- Lugar de Procedencia: _____
 6.- Sus 4 abuelos nacieron en México?
 1 Si 2 No.
 7.- En qué estado? _____
 8.- Alguno de sus abuelos habla alguna lengua indígena?
 1 Si 2 No.
 9.- Que lengua indígena habla? _____
 10.- Antecedentes heredofamiliares:
 Padre _____
 Madre _____
 Abuela _____
 Abuelo _____
 Otros _____
 11.- En su familia hay otra patología:
 1 Si 2 No
 12.- Cual?: _____

B. INFORMACION CLÍNICA.

Tipo de tumor sólido embrionario y sarcomas
 Osteosarcomas _____
 Retinoblastoma _____
 Tumor germinal _____
 Meduloblastoma _____
 Neuroblastoma _____
 Linfoma no Hodgkin _____
 Neuroblastoma _____
 Otro _____

1.- Fecha de Inicio de sintomatología ____ / ____ / ____
 2.- Fecha de diagnostico del tumor? ____ / ____ / ____
 3.- El paciente ha sido transfundido en los últimos seis meses previos a la fecha:
 1 Si 2 No
 4.- Presencia de metastasis? 1 Si 2 No

C. ANTECEDENTES NEONATALES Y PEDIATRICOS.

1.-Cuál fue su peso al nacer? Talla al nacer?
 1 Menos 2500 gr
 2 Entre 2500 y 3500 gr
 3 Mayor de 3500 gr

2.- Cual fue el Apgar que le asignaron?
 Al nacer _____ A los 5 minutos _____
 3.- Tipo de parto _____
 4.- Como fue el egreso del binomio? _____

D. ANTECEDENTES MATERNOS.

1.- Edad materna _____ años.
 2.- Infecciones perinatales?
 1 si 2 no
 Cuál: _____
 3.- Requirió tratamiento?
 1 si 2 no
 Cuál: _____
 4.- La mamá fumo durante su embarazo?
 1 si 2 no
 CUÁNTOS CIGARROS AL DIA _____
 5.- La mamá consumió alcohol durante el embarazo?
 1 si 2 no
 CUANTAS COPAS DURANTE EL DIA _____
 6.- Durante el embarazo estuvo expuesta a algún químico?
 1 si 2 no
 Cuál? _____

Línea de tratamiento: _____
 Fecha de ingreso a CMN la raza: _____
 Sintomatología inicial: _____

E. Laboratorios Clínicos. Numero de ciclos _____

Inicial

Hematocrito: _____ (%)
 Hemoglobina: _____ (g/dL)
 Eritrocitos: _____ (1012/L)
 VCM: _____ (fl.)
 Plaquetas: _____ (109/L)
 Leucocitos: _____ (109/L)
 Neutrófilos Abs _____ (total)
 Linfocitos : _____ (total)
 Monocitos : _____ (total)
 Eosinofilo : _____ (total)
 Basófilos : _____ (total)
 Bilirrubina : _____ (mg/dL)
 Alalina transaminasa: _____ (mU/mL).

Ciclo 1

Hematocrito: _____ (%)
 Hemoglobina: _____ (g/dL)
 Eritrocitos: _____ (1012/L)
 VCM: _____ (fl.)
 Plaquetas: _____ (109/L)
 Leucocitos: _____ (109/L)
 Neutrófilos Abs _____ (total)
 Linfocitos : _____ (total)
 Monocitos : _____ (total)
 Eosinofilo : _____ (total)
 Basófilos : _____ (total)
 Bilirrubina : _____ (mg/dL)
 Alalina transaminasa: _____ (mU/mL).
 Aspartato transaminasa _____ (mU/mL)
 Albumina _____ (mg/dL)
 Creatinina _____ (mg/dL)
 Urea _____ (mg/dL)
 BUN _____ (mg/dL)

Ciclo 2

Hematocrito: _____ (%)
 Hemoglobina: _____ (g/dL)
 Eritrocitos: _____ (1012/L)
 VCM: _____ (fl.)
 Plaquetas: _____ (109/L)
 Leucocitos: _____ (109/L)
 Neutrófilos Abs _____ (total)
 Linfocitos : _____ (total)
 Monocitos : _____ (total)
 Eosinofilo : _____ (total)
 Basófilos : _____ (total)
 Bilirrubina : _____ (mg/dL)
 Alalina transaminasa: _____ (mU/mL).
 Aspartato transaminasa _____ (mU/mL)
 Albumina _____ (mg/dL)
 Creatinina _____ (mg/dL)
 Urea _____ (mg/dL)
 BUN _____ (mg/dL)

Ciclo 3

Hematocrito: _____ (%)
 Hemoglobina: _____ (g/dL)
 Eritrocitos: _____ (1012/L)
 VCM: _____ (fl.)
 Plaquetas: _____ (109/L)
 Leucocitos: _____ (109/L)
 Neutrófilos Abs _____ (total)
 Linfocitos : _____ (total)
 Monocitos : _____ (total)
 Eosinofilo : _____ (total)
 Basófilos : _____ (total)
 Bilirrubina : _____ (mg/dL)
 Alalina transaminasa: _____ (mU/mL).
 Aspartato transaminasa _____ (mU/mL)
 Albumina _____ (mg/dL)
 Creatinina _____ (mg/dL)
 Urea _____ (mg/dL)
 BUN _____ (mg/dL)

Ciclo 4

Hematocrito: _____ (%)
 Hemoglobina: _____ (g/dL)
 Eritrocitos: _____ (1012/L)
 VCM: _____ (fl.)
 Plaquetas: _____ (109/L)
 Leucocitos: _____ (109/L)
 Neutrófilos Abs _____ (total)
 Linfocitos : _____ (total)
 Monocitos : _____ (total)
 Eosinofilo : _____ (total)
 Basófilos : _____ (total)
 Bilirrubina : _____ (mg/dL)
 Alalina transaminasa: _____ (mU/mL).
 Aspartato transaminasa _____ (mU/mL)
 Albumina _____ (mg/dL)
 Creatinina _____ (mg/dL)
 Urea _____ (mg/dL)
 BUN _____ (mg/dL)

Ciclo 5

Hematocrito: _____ (%)
 Hemoglobina: _____ (g/dL)
 Eritrocitos: _____ (1012/L)
 VCM: _____ (fl.)
 Plaquetas: _____ (109/L)
 Leucocitos: _____ (109/L)
 Neutrófilos Abs _____ (total)
 Linfocitos : _____ (total)
 Monocitos : _____ (total)
 Eosinofilo : _____ (total)
 Basófilos : _____ (total)
 Bilirrubina : _____ (mg/dL)
 Alalina transaminasa: _____ (mU/mL).
 Aspartato transaminasa _____ (mU/mL)
 Albumina _____ (mg/dL)
 Creatinina _____ (mg/dL)
 Urea _____ (mg/dL)
 BUN _____ (mg/dL)

Ciclo 6

Hematocrito: _____ (%)
 Hemoglobina: _____ (g/dL)
 Eritrocitos: _____ (1012/L)
 VCM: _____ (fl.)
 Plaquetas: _____ (109/L)
 Leucocitos: _____ (109/L)
 Neutrófilos Abs _____ (total)
 Linfocitos : _____ (total)
 Monocitos : _____ (total)
 Eosinofilo : _____ (total)
 Basófilos : _____ (total)
 Bilirrubina : _____ (mg/dL)
 Alalina transaminasa: _____ (mU/mL).
 Aspartato transaminasa _____ (mU/mL)
 Albumina _____ (mg/dL)
 Creatinina _____ (mg/dL)
 Urea _____ (mg/dL)
 BUN _____ (mg/dL)

F. ESTADO ACTUAL DEL PACIENTE.

1. Fecha de última asistencia a consulta? ___/___/_____
 2.- Motivo? _____

TABLA PARA GRADUAR LA TOXICIDAD SEGÚN CRITERIOS DE LA OMS

NÚMERO DE PACIENTE: _____

NO DE CICLOS CON IFOSFAMIDA: _____

No Ciclos	HEMATO					GASTROINTESTINAL				HEPÁTICA			RENAL			CARDIACA				PRE ART		NEUROLÓGICA									
	L E	P L	H B	N T	L T	NA	VO	DI	ES	BI	TR	FA	CR	PR	HE	DI	FC	IC	PE	A	B	N S	N M	N C	N C	N C	E S	E S	A U		
1																															
2																															
3																															
4																															
5																															
6																															



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Sr (a): Su hijo ha sido invitado(a) a participar en un estudio de investigación titulado: **“Var a s g ét as t r m P450 (CYP450) as a as a v t s a v r s s pacientes pediátricos mexicanos con tumores sólidos embrionarios tratados con f s fam a”**.

La siguiente información se otorga para ayudarle a tomar una decisión entre si desea o no participar en el estudio. Este documento podría contener palabras que no entienda. Por favor lea cuidadosamente la información y solicite al médico en servicio que le explique cualquier cosa que no pueda entender. Una vez que comprenda los detalles acerca del estudio, y si usted desea participar, se le solicitará que firme la última página de este documento. Firmando la Carta de Consentimiento Informado indica que usted comprende la información y que da su autorización para participar en el estudio de investigación clínica.

¿Para qué se efectúa este estudio?

Se intenta obtener información sobre la manera en que los niños mexicanos procesan el medicamento administrado (Ifosfamida), mediante el estudio de su información genética obtenida por muestra de sangre venosa, para que a futuro, se pueda determinar previo al tratamiento si presentará efectos adversos, con la finalidad de mejorar la calidad de vida y proponer tratamientos menos tóxicos.

¿En qué consiste el estudio?

Es un estudio que se llevará a cabo en el IMSS, en colaboración con el INP, donde se pretende analizar a 204 pacientes con tumores sólidos.

¿Quiénes no deben participar en el estudio?

Aquellos pacientes con transfusión sanguínea previa al estudio, desnutrición severa y/o cualquier alteración que pueda afectar la determinación de los niveles de los metabolitos de Ifosfamida.

¿Qué se me pedirá (se le pedirá a mi hijo que haga)?

Que nos proporcione tres muestras de sangre (una muestra de sangre equivale a una cucharadita de café) de sangre periférica para el análisis de su información genética (DNA), al momento de firmar el consentimiento y las otras 2 muestras se utilizarán para medir los niveles del medicamento llamado ifosfamida en sangre. Además se pedirá que conteste algunas preguntas sobre los síntomas de su paciente y proporcione algunos antecedentes de importancia de su paciente. Se mantendrá seguimiento por 6 meses.

¿Quién sufragará los datos del estudio?

Este estudio no tiene ningún costo, y su tratamiento, así como sus análisis de laboratorio y la atención médica recibida por su padecimiento, no se verá afectada.

¿Qué riesgos puede tener tras la toma de muestra de sangre periférica por punción venosa?

Contemplan un riesgo mínimo con probabilidad de presentar, dolor local, infección, flebitis, los cuales se presentan en escasas ocasiones, ya que la toma de muestra se realiza por personal capacitado con riesgo mínimo de acuerdo al reglamento de la Ley de Salud (Artículo 17)

¿Qué beneficio puede (mi hijo puede esperar)?

El paciente no tendrá ningún beneficio durante su primer ciclo de tratamiento antineoplásico, sin embargo, posterior a este, se podrá clasificar como “respondedor” o “no

respondedor” de acuerdo a la información genética o tenida y se podrá prever si presentar mayores efectos adversos, con la finalidad de realizar los cambios pertinentes en el tratamiento, de acuerdo a los tratamientos ya comprobados efectivos, para mejorar la calidad de vida del paciente.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas?

Al final de este consentimiento están los números telefónicos a los que se puede comunicar. **¿Puedo negarme (mi hijo puede negarse) a participar en este estudio y se me puede pedir (pedirle a mi hijo) que abandone el estudio?**

Su participación es voluntaria, puede negarse a participar desde un inicio o en el momento en que lo desee sin que esto tenga consecuencia alguna y se continuará con el cuidado de su enfermedad y tratamiento

¿Quiénes van a tener la información de mis datos (de mi hijo)?

Sus datos personales solo los conocerán los investigadores y el personal de salud que participe en el estudio de investigación. Sus datos serán confidenciales y la publicación que se genere no va a incluir su nombre. Las autoridades sanitarias en México pudieran solicitar acceso a la información para evaluar el contenido del estudio de investigación y la calidad de los datos recolectados, sin embargo su identidad estará en total confidencialidad

¿Qué se va a hacer con las muestra de sangre de mi hijo?

- a) Después de su estudio genético, se desechará de acuerdo a los procedimientos de desecho de biológico-infeccioso.
- b) La muestra va a ser utilizada exclusivamente para este estudio.
- c) No se compartirá la muestra con otros investigadores.
- d) Se identificará la muestra con las primeras 4 letras del nombre del fármaco en estudio y en número consecutivo.
- e) Sólo usted puede tener acceso a la información de los estudios de material genético.
- f) Si usted desea retirar las muestras del estudio, favor de comunicarse a los teléfonos abajo referidos.

Marque con una “X” la opción que usted considera más conveniente con respecto a la autorización para recolección de la muestra de sangre periférica:

<input type="checkbox"/>	No autorizo que se tome la muestra
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio
<input type="checkbox"/>	Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros

La información que se presenta, es la que se encuentra disponible y actualizada; en caso de generarse información nueva durante el estudio, ésta le será notificada aun cuando esto cambie su decisión de participar o retirar su consentimiento.

En caso de existir gastos adicionales, estos serán absorbidos por el presupuesto de investigación.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330, 06720. México D.F., CP06720. Teléfono (55) 56276988 extensión 21230. Correo electrónico: conise@cis.gob.mx

CONTACTO CON INVESTIGADORES PRINCIPALES.

Dra. Luz María Torres Espíndola Ext 1426, celular: 5540156734
Dra. Rocío Cárdenas Cardos, Dr. Juan Luis Chávez Pacheco Ext 1426, celular 5516776305
Dra. Matilde Ruiz García, Presidente del Comité de Ética. Tel 10840900, Ext 1581 En caso de que tenga duda de sus derechos como participante.

Hospital General UMAE LA RAZA IMSS Fecha : _____

Yo.....he sido informado por el Dr(a) acerca del estudio a realizar a mi hijo (a).

Me ha informado de los riesgos, ventajas y beneficios de la participación en este proyecto. He realizado las preguntas que consideré oportunas, todas las cuales han sido absueltas y con repuestas que considero suficientes y aceptables.

Por lo tanto, en forma consciente y voluntaria doy mi consentimiento para que se realice la obtención de muestras especificadas a mi hijo

Teniendo pleno conocimiento de los posibles riesgos, complicaciones y beneficios que podrían desprenderse de dicho acto.

Padre/Madre/Tutor:

Nombre _____

Firma _____ Fecha _____

Testigo 1:

Nombre _____

Firma _____ Fecha _____

Domicilio _____

Relación con el sujeto: _____

Testigo 2:

Nombre _____

Firma _____ Fecha _____

Domicilio _____

Relación con el sujeto: _____

Investigador o Personal autorizado que llevo a cabo el proceso de consentimiento informado:

Nombre _____

Firma _____ Fecha _____

TABLA DE TOXICIDAD OMS

Toxicidad Hematológica.

Grado de toxicidad	0	1	2	3	4
Leucocitos	4.0	3.0-3.9	2.0-2.9	1.0-1.9	<1.0
Plaquetas	nL	75.0-nL	50.0-74.9	25.0-49.9	<25.0
Hemoglobina	nL	10.0-nL	8.0-10.0	6.5-7.9	<6.5
Neutrófilos totales	>2.0	1.5-1.9	1.0-1.4	0.5-0.9	<0.5
Linfocitos	>2.0	1.5-1.9	1.0-1.4	0.5-0.9	<0.5

Toxicidad gastrointestinal.

Grado de toxicidad	0	1	2	3	4
Náuseas	No	Capaz de comer	Disminución significativa de ingesta	Casi no ingiere	No come
Vómito	No	1 episodio en 24 h	2 a 5 episodios en 24 h	6 a 10 episodios en 24 h	>10 episodios en 24 h
Diarrea	No	2 a 3 evacuaciones al día	4 a 6 evacuaciones al día; evacuaciones nocturnas y cólicos	7-9 evacuaciones al día; incontinencia, cólicos intensos,	> 10 evacuaciones al día, hematoquezia; requiere alimentación parenteral.

Estomatitis	No	Úlceras sin dolor; eritema	Eritema doloroso; edema o úlceras, pero puede comer	Eritema doloroso; edema o úlceras; no puede comer	Requiere soporte parenteral o enteral.
-------------	----	----------------------------	---	---	--

Toxicidad hepática:

Grado de toxicidad	0	1	2	3	4
Bilirubina	No	-	<1.5-nL	1.5-3.0 nL	> 3.0 cifras nL
Transaminasas	No	2.5-nL	2.6-5.0 nL	5.1-20 veces la cifra nL	>20.0 de cifras nL
Fosfatasa alcalina	No	2.5-nL	2.6-5.0 nL	5.1-20.0 veces de la cifra nL	>20.0 de lo nL

Toxicidad renal.

Grado de toxicidad	0	1	2	3	4
Creatinina	nL	<1.5-nL	1.5-3.0	3.1-6.0	> 6.0
Proteinuria	Negativo	1+ o <0.3 g% o <3 g/dL	2-3 o 0.3-1.0 g% o 3-10 g/L	4+ o > 1.0 g% o >10 g/L	Síndrome nefrótico
Hematuria	Negativo	Microscópico	Macroscópico	Microscópico con coágulos	Requiere transfusión

Toxicidad cardiaca

Grado de toxicidad	0	1	2	3	4
Disritmias	Ninguna	Asintomático Transitorio No requiere tratamiento	Recurrente o persistente, pero no requiere tratamiento	Requiere tratamiento	Requiere monitoreo; taquicardia ventricular o fibrilación
Función cardiaca	Normal	Asintomático Disminuye la FEV a <	Asintomático disminuye la FEV a >	Leve insuficiencia cardiaca	Grave o insuficiencia

		20% de su basal	20% de su basal	que responde al tratamiento	congestiva o refractaria
Isquemia cardiaca	Ninguna	Onda T aplanada inespecífica	Asintomático Ondas T y ST con cambios que sugieren isquemia	Angina sin evidencia de infarto	Infarto agudo al miocardio
Pericardio	Normal	Derrame asintomático no requiere tratamiento	Pericarditis Dolor retroesternal con cambios con ECG	Derrame sintomático que requiere drenaje	Taponamiento cardiaco que requiere drenaje urgente.

Toxicidad en presión arterial

Grado de toxicidad	0	1	2	3	4
Hipertensión	Sin cambios	Incremento transitorio asintomático > de 20 mm Hg ó > de 150/100	Incremento recurrente o persistente mayor de 20 mm Hg o > 50/100	Requiere tratamiento	Crisis hipertensiva
Hipotensión	Sin cambios	Cambios que no requieren tratamiento	Requiere remplazo hídrico y TX pero no hospitalización	Requiere Tx y hospitalización por menos de 48 hr	Requiere Tx y hospitalización por mas de 48 hr.

Grado de toxicidad	0	1	2	3	4
Neurosensorial	No	Leve parestesia Pérdida de reflejos osteotendinosos	Parestesias moderadas Pérdida sensorial moderada	Pérdida sensorial grave que interfiere con la función	
Neuromotor	No	Subjetiva debilidad sin datos objetivos	Leve debilidad objetiva sin deterioro importante de la función	Debilidad objetiva con deterioro de la función	Parálisis

Neurocortical	No	Leve somnolencia y agitación	Moderada somnolencia y agitación	Intensa somnolencia, agitación, alucinaciones, desorientación y confusión	Coma, convulsiones y psicosis tóxica
Neurocerebelar	No	Leve incoordinación, disdiadococinesia.	Temblor de intención, disimetría, nistagmos, lenguaje confuso	Ataxia locomotora	Necrosis cerebelar
Cefalea	No	Leve	Moderada o intensa pero transitoria	Requiere Tx	-
Estreñimiento	No	Leve	Moderado	Grave	Ileo más de 96 h
Audición	No	Pérdida asintomática, perceptible por audiometría	Tinnitus	Pérdida de la audición que interfiere con la función, pero corregible con ayuda	Sordera no corregible.
Visión	No	-	-	Pérdida subtotal sintomática de la visión	Ceguera