

UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA

Tesis doctoral

**EVALUACIÓN DE LA
HEMATOTOXICIDAD EN TAXANOS:
REPERCUSIÓN CLÍNICA Y SU
CORRELACIÓN
CON POLIMORFISMOS GENÉTICOS**

Nuria Romero Laorden

Madrid 2013



DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y CIRUGÍA
UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS DE MADRID



Evaluación de la toxicidad hematológica por taxanos: repercusión clínica y su correlación con polimorfismos genéticos

Tesis doctoral que presenta para optar al título de
Doctor por la Universidad Rey Juan Carlos de Madrid

Nuria Romero Laorden

Director de tesis

Dr. Carlos Jara Sánchez

Profesor titular del Departamento de Medicina

Jefe de Servicio de Oncología Médica

Hospital Universitario Fundación Alcorcón.



D. Carlos Jara Sánchez, Profesor Titular del Departamento de Medicina y Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad Rey Juan Carlos de Madrid

CERTIFICA

Que el trabajo de Tesis Doctoral titulado:

***EVALUACIÓN DE LA HEMATOTOXICIDAD EN TAXANOS:
REPERCUSIÓN CLÍNICA Y SU CORRELACIÓN CON
POLIMORFISMOS GENÉTICOS,***

presentado por ***Doña. Nuria Romero Laorden***, ha sido realizado bajo mi dirección y reúne los requisitos legales para su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía.

Lo que se hace constar a los efectos oportunos en Alcorcón a **lunes, 01 de abril de 2013**.

Fdo. Prof. Dr. Carlos Jara Sánchez

Quisiera agradecer a todas las personas que han participado de una u otra manera en la realización de este trabajo de tesis doctoral:

A mi padrino en la Oncología, el Dr. Carlos Jara Sánchez, por su esfuerzo y dedicación, a pesar de todas las dificultades.

Al Grupo de Cáncer Endocrino Hereditario del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, en especial a los doctores Cristina Rodríguez González de Antona y Luis Javier Leandro García por su apoyo, paciencia y profesionalidad.

Al Servicio de Oncología Médica del Hospital Universitario Fundación Alcorcón, que ha visto nacer este trabajo y que han hecho posible que hoy sea oncóloga.

A mi familia y amigos, en especial a mis padres, mi hermano David y mi marido Fran por su cariño incondicional y creer siempre en mí aún en los malos momentos.

Por último quería hacer mención también a todos los pacientes que han participado en esta tesis y a todos aquellos que he conocido durante mi carrera, ya que ellos son la razón por la que ésta y cualquier otra investigación tiene sentido.

RESUMEN

Los taxanos son fármacos anti-microtúbulo ampliamente empleados en el tratamiento sistémico de los pacientes con cáncer. Existen grandes diferencias interindividuales tanto en la eficacia como en los efectos adversos de estos fármacos que en parte, podrían ser explicados por la presencia de variaciones genéticas.

Entre sus efectos secundarios, la mielosupresión es una de las toxicidades limitantes de dosis de los taxanos, que impacta en la calidad de vida de los pacientes que reciben quimioterapia aumentando la tasa de infecciones, la probabilidad de complicaciones hemorrágicas y empeorando los síntomas constitucionales. A día de hoy los oncólogos son incapaces de discernir entre aquellos pacientes que desarrollarán esta toxicidad, y las medidas preventivas están limitadas por la ausencia de tratamientos efectivos, el coste de los tratamientos existentes y los efectos secundarios derivados del uso de factores estimulantes de colonias o las transfusiones.

La identificación de biomarcadores asociados a la farmacocinética y farmacodinámica de los taxanos supone un reto en la era de la medicina personalizada. Polimorfismos involucrados en el metabolismo de paclitaxel y docetaxel han sido descritos, explicando diferencias en cuanto a efectos secundarios y respuesta a estos agentes. Por otro lado, variantes localizadas en la diana de los taxanos, la β -tubulina, han sido caracterizadas en los últimos años, encontrando una expresión específica de TUBB1 en las células hematopoyéticas que podría ser correlacionada precisamente con la toxicidad hematológica.

En esta tesis se ha llevado a cabo un análisis retrospectivo de ADN en parafina, perteneciente a 197 pacientes tratados con monoterapia con taxanos entre los años 2000-2009 en el Hospital Universitario Fundación Alcorcón, utilizando una estrategia de genes candidatos mediante la colaboración con el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO).

Se seleccionaron 4 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) relacionados con la farmacocinética y farmacodinámica de paclitaxel y docetaxel.

No se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los SNP en CYP2C8, CYP3A5 y β -tubulina VI y la toxicidad hematológica en pacientes tratados con estos fármacos. Respecto a la eficacia, encontramos una asociación estadísticamente significativa entre la presencia del SNP localizado en TUBB1 y una peor supervivencia global ($p=0.01$, HR=5.889, CI 95% 1.52-22.80). En el caso de paclitaxel, una peor respuesta a la quimioterapia fue observada en pacientes con el SNP CYP2C8*3 ($p=0.028$, HR 3.864, CI 95% 1.157-12.910) independientemente de otros factores pronósticos.

La caracterización de polimorfismos asociados a toxicidad hematológica causada por quimioterapia podría contribuir a la individualización del tratamiento con taxanos mediante una mejor selección de los pacientes que realmente se van a beneficiarse del tratamiento con un balance entre efectos secundarios y eficacia aceptable. Estudios prospectivos serán necesarios para validar estos resultados y su aplicabilidad en la práctica clínica.

SUMMARY

Taxanes are microtubule-binding agents widely used in the clinic for the treatment of solid tumors. There are large inter-individual differences in the efficacy and adverse effects of these drugs that could partly be explained by the variability in the human genome.

About adverse events, myelosuppression is one of the main dose-limiting toxicity of taxanes that impact in the quality of life of patients receiving chemotherapy, increasing the rates of infections, haemorrhagia and worsening constitutional symptoms. Unfortunately, oncologist cannot know which patients are going to develop this toxicity and prophylaxis is limited by the absence of effective treatments, the cost of the existent therapies and adverse events derived from stimulant growth factors or transfusions.

The identification of markers associated with the pharmacokinetic and pharmacodynamic of taxanes is a challenge in the era of personalized medicine. Polymorphisms involved in the metabolism of paclitaxel and docetaxel have been described, showing differences in toxicity and even in response to these agents. On the other hand, functional genetic variants in β -tubulin isotypes, the target of taxanes, have been characterized in humans finding a tissue-specific expression of TUBB1 in hematopoietic cells which could be correlated with hematotoxicity produced by these antineoplastic drugs.

In this thesis, we have performed a retrospective analysis of DNA in paraffined tissue in 197 patients with solid tumors treated with taxanes in monotherapy between 2000-2009 at Hospital Universitario Fundación Alcorcón, using a candidate gene strategy with the collaboration of the Spanish National Cancer Research Center (CNIO). Four single nucleotide polymorphisms (SNP) related to pharmacokinetic and pharmacodynamic of paclitaxel and docetaxel were selected.

We found no significant association between SNPs in CYP2C8, CYP3A5 and β -tubulin VI and hematologic toxicity. Regarding to efficacy we found a significant association with SNP in TUBB1 and worse overall survival ($p=0.01$, HR=5.889, CI 95% 1.52-22.80). In the case of paclitaxel, a worse response to chemotherapy was observed in patients with SNP CYP2C8*3 ($p=0.028$, HR 3.864, CI 95% 1.157-12.910) independently of another prognostic factors.

The characterization of polymorphisms associated with hematologic toxicity caused by chemotherapy could improve the selection of patients according to their risk of toxicity and lack of efficacy during treatment. Prospective series should be needed to validate these results and its applicability in the clinical practice.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO	22
1. LOS TAXANOS	22
1. 1 Paclitaxel	23
1. 2 Docetaxel	24
1. 3 Nuevos taxanos en la práctica clínica.....	26
2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS TAXANOS	29
2. 1 Los microtúbulos	29
2. 2 Tubulinas.....	31
2. 3 Beta-tubulinas.....	31
2. 4 Diana terapéutica de los taxanos	32
3. FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA	35
4. PROBLEMAS CLÍNICOS ASOCIADOS AL USO DE TAXANOS.....	39
5. MANEJO HABITUAL DE TOXICIDAD HEMATOLÓGICA	41
5. 1 Neutropenia.	41
5. 2 Trombopenia.	42
5. 3 Anemia.	43
5. 4 Diferencias entre docetaxel y paclitaxel	44
6. FARMACOGENÉTICA.....	46
6. 1 Variabilidad inter-individual y relevancia clínica	46
6. 2 Variabilidad genética.....	46
6. 3 Estrategias de estudios en Farmacogenética	48
7. POLIMORFISMOS ASOCIADOS A HEMATOTOXICIDAD POR TAXANOS.....	51
7. 1 Polimorfismos relacionados con la farmacocinética de los taxanos.....	51
7. 2 Polimorfismos relacionados con la diana de los taxanos.....	53
CAPÍTULO 2: BASE RACIONAL	57
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	60

CAPÍTULO 3: MATERIAL Y MÉTODOS	62
1. DISEÑO DEL ESTUDIO	62
2. SELECCIÓN DE POLIMORFISMOS A ANALIZAR	62
2.1 Frecuencia de los polimorfismos:	63
2.2 Localización de los polimorfismos:	64
3. SELECCIÓN DE SUJETOS DE ESTUDIO	65
3. JUSTIFICACIÓN DE TAMAÑO MUESTRAL	68
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	68
4. 1 Obtención de muestras y datos clínicos	68
4. 2 Extracción y procesamiento de adn	73
4. 3 Preparación de muestras	75
4. 4 Amplificación mediante PCR(<i>polimerase chain reaction</i>)	75
4. 5 Genotipado mediante plataforma KASPar®	77
5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	82
CAPÍTULO 4: RESULTADOS	84
1. EVALUACIÓN DESCRIPTIVA	84
1. 1 Factores demográficos	84
1. 2 Factores relacionados con el tratamiento	88
1. 3 Factores relacionados con toxicidad hematológica por taxanos	95
1. 4 Frecuencia de los polimorfismos estudiados en la serie	99
2. ANÁLISIS DE TOXICIDAD HEMATOLÓGICA Y SU ASOCIACIÓN CON VARIABLES CLÍNICAS	104
2.1. Paclitaxel	104
2.2 Docetaxel	107
3. EVALUACIÓN DE TOXICIDAD HEMATOLÓGICA Y SU ASOCIACIÓN CON POLIMORFISMOS ASOCIADOS A LA FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DE LOS TAXANOS	112
3.1 Paclitaxel	112
3.2 Docetaxel	133

4. ANÁLISIS DE RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA PALIATIVA EN PACIENTES TRATADOS CON MONOTERAPIA CON TAXANOS.	152
4. 1 Respuesta a la quimioterapia y variables clínicas.....	152
4. 2 Respuesta a la quimioterapia y toxicidad hematológica	154
4. 3 Respuesta a la quimioterapia con taxanos y asociación con portadores de polimorfismos.....	156
5. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA	158
5. 1 Análisis de supervivencia global y asociación con factores clínicos en pacientes que han recibido quimioterapia paliativa con taxanos.....	160
5. 2 Análisis de supervivencia global y asociación con toxicidad hematológica en pacientes tratados con quimioterapia paliativa con taxanos.....	162
5. 3 Análisis de supervivencia en pacientes portadores de polimorfismos genéticos asociados a farmacocinética y farmacodinamia de taxanos.....	164
CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	168
BIBLIOGRAFÍA	179

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de los taxanos paclitaxel y docetaxel.....	25
Figura 2. Representación de un microtúbulo compuesto por protofilamentos en los que se alternan subunidades de α y β tubulinas.....	30
Figura 3. Inmunofluorescencia de células de osteosarcoma en las diferentes etapas de la mitosis.	31
Figura 4. Sitios de unión de vinblastina, colchicina y paclitaxel a los microtúbulos.	34
Figura 5. Esquema representativo de las vías de metabolismo y excreción de paclitaxel (A) y docetaxel (B).	37
Figura 6. Polimorfismo de un solo nucleótido o SNP	48
Figura 7. Representación de los estudios de genoma completo (GWAS)	50
Figura 8. Expresión del isotipo VI de β -tubulina (H β 1) en tejidos humanos.	54
Figura 9. Los pacientes portadores del polimorfismo T274M de la beta-tubulina VI desarrollaron menos trombocitopenia tras tratamiento con paclitaxel.	55
Figura 10. Representación de las frecuencias de los polimorfismos incluidos en el estudio, en las diferentes subpoblaciones.....	64
Figura 11. Localización del SNP CYP2C8 Haplotipo C en el cromosoma 10.	65
Figura 12. Diagrama de flujo en el que se describe como se realizó la selección final de pacientes incluidos en el estudio.....	67
Figura 13 Cuestionario clínico en el que se recogen las características de los pacientes incluidos en la serie	71
Figura 14. Detalle del cuestionario clínico en el que se recogieron las toxicidades hematológicas clasificadas en neutropenia, trombopenia y anemia.	72

Figura 15. Cuantificación de ADN mediante método PicoGreen®.....	75
Figura 16. Esquema representativo de la reacción de PCR.....	77
Figura 17. Representación esquemática del genotipado mediante el sistema Kaspar.....	79
Figura 18. Análisis de los genotipos obtenidos con la plataforma KASPar.....	81
Figura 19. Distribución de la serie por sexo (n=197).....	86
Figura 20. Distribución de la serie por localización tumoral (n=197).....	86
Figura 21. Distribución de la serie por localización tumoral e histología.....	87
Figura 22. Distribución por localización tumoral y estadio.....	88
Figura 23. Distribución de la serie en función del tipo de tratamiento.....	89
Figura 24. Distribución de la serie en función de la localización tumoral y el tipo de tratamiento.....	90
Figura 25. Distribución de la serie en función del esquema de quimioterapia.....	91
Figura 26. Esquemas de quimioterapia más empleados e indicación de los mismos (finalidad adyuvante, neoadyuvante o paliativa).....	92
Figura 27. Número de esquemas previos que los pacientes habían recibido antes de iniciar quimioterapia con taxanos.....	93
Figura 28. Respuesta tumoral en función del esquema de QT paliativa.....	94
Figura 29. Respuesta tumoral en los distintos tipos de cáncer tratados con quimioterapia paliativa.....	94
Figura 30. Distribución de toxicidad hematológica en la serie.....	96
Figura 31. Toxicidad hematológica en función de los esquemas de quimioterapia.....	96
Figura 32. Consecuencia clínicas y terapéuticas de la toxicidad hematológica de los pacientes incluidos en la serie, tratados con monoterapia con taxanos.....	99

Figura 33. Frecuencia génica de los SNP analizados en la serie	100
Figura 34. Distribución de la toxicidad hematológica en pacientes tratados con paclitaxel	113
Figura 35. Frecuencia de los SNP estudiados en los pacientes tratados con paclitaxel.....	114
Figura 36. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de neutropenia, en pacientes tratados con paclitaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	118
Figura 37. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de paclitaxel hasta la aparición de neutropenia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	120
Figura 38. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de trombopenia, en pacientes tratados con paclitaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	123
Figura 39. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de paclitaxel hasta la aparición de trombopenia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	125
Figura 40. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de anemia, en pacientes tratados con paclitaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	129
Figura 41. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de paclitaxel hasta la aparición de anemia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	131
Figura 42. Distribución de la toxicidad hematológica en pacientes tratados con docetaxel	134
Figura 43. Frecuencia de SNPs en pacientes tratados con docetaxel.....	135

Figura 44. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de neutropenia, en pacientes tratados con docetaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	138
Figura 45. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de docetaxel hasta la aparición de neutropenia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	140
Figura 46. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de trombopenia, en pacientes tratados con docetaxel.....	144
Figura 47. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de docetaxel hasta la aparición de trombopenia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	146
Figura 48. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de anemia, en pacientes tratados con docetaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	149
Figura 49. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de docetaxel acumulada hasta la aparición de anemia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.....	150
Figura 50. Análisis de supervivencia de la serie mediante curvas Kaplan Meier, .	159
Figura 51. Representación mediante curvas Kaplan Meier de la supervivencia global en pacientes portadores de SNP en TUBB1 tratados con paclitaxel y docetaxel.....	166

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Isotipos de beta-tubulina y sus genes.....	32
Tabla 2. Clasificación de la toxicidad hematológica de acuerdo con la NCI Common Toxicity Criteria v4.....	44
Tabla 3. Descripción de los polimorfismos incluidos en el estudio.	63
Tabla 4. Presencia de neutropenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.....	104
Tabla 5. Relación entre días y dosis hasta la aparición de neutropenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.....	105
Tabla 6. Presencia de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.....	105
Tabla 7. Relación entre días y dosis hasta la aparición de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.....	106
Tabla 8. Presencia de anemia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.....	106
Tabla 9. Relación entre días y dosis hasta la aparición de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.....	107
Tabla 10. Presencia de neutropenia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.....	108
Tabla 11. Relación entre días y dosis hasta la aparición de neutropenia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.....	108
Tabla 12. Presencia de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.....	109
Tabla 13. Relación entre días y dosis hasta la aparición de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.....	110

Tabla 14. Presencia de anemia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.	110
Tabla 15. Relación entre días y dosis hasta la aparición de anemia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.	111
Tabla 16. Análisis mediante regresión logística binaria entre portadores de SNP y presencia de neutropenia, en pacientes tratados con paclitaxel.....	116
Tabla 17. Análisis mediante regresión de COX entre portadores de SNP y los días hasta la aparición de neutropenia, en pacientes tratados con paclitaxel.	117
Tabla 18. Análisis mediante regresión de COX entre portadores de SNP y la dosis acumulada de paclitaxel hasta la aparición de neutropenia.....	119
Tabla 19. Análisis mediante regresión logística binaria entre portadores de SNP y presencia de trombopenia, en pacientes tratados con paclitaxel.....	121
Tabla 20. Análisis mediante regresión de COX entre portadores de SNP y los días hasta la aparición de trombopenia, en pacientes tratados con paclitaxel.....	122
Tabla 21. Análisis mediante regresión de COX entre portadores de SNP y la dosis acumulada de paclitaxel hasta la aparición de neutropenia.....	124
Tabla 22. Análisis mediante regresión logística binaria entre ser portador de SNP y la presencia de anemia, en pacientes tratados con paclitaxel.....	127
Tabla 23 Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de anemia, en pacientes tratados con paclitaxel.	128
Tabla 24. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de paclitaxel hasta la aparición de anemia.	130
Tabla 25. Pacientes tratados con docetaxel que han recibido soporte con filgrastim(n=71).....	136

Tabla 26. Pacientes tratados con docetaxel que no han recibido tratamiento profiláctico con filgrastim (n=41). Regresión logística binaria entre presencia de neutropenia (SI/NO) y portadores de SNP.....	136
Tabla 27. Pacientes tratados con docetaxel que han recibido profilaxis con filgrastim (n=71).....	137
Tabla 28. Pacientes tratados con docetaxel que no han recibido tratamiento profiláctico con filgrastim (n=41). Regresión de COX entre los días hasta la aparición de neutropenia y portadores de SNP.....	137
Tabla 29. Pacientes tratados con docetaxel que han recibido profilaxis con filgrastim (n=71).....	139
Tabla 30. Pacientes tratados con docetaxel que no han recibido tratamiento profiláctico con filgrastim (n=41). Regresión de COX entre la dosis (mg) hasta la aparición de neutropenia y portadores de SNP.....	140
Tabla 31. Regresión logística binaria entre presencia de trombopenia (SI/NO) y portadores de SNP.....	142
Tabla 32. Regresión de COX entre los días hasta la aparición de trombopenia y portadores de SNP.....	143
Tabla 33. Regresión de COX entre la dosis de docetaxel hasta la aparición de trombopenia.....	145
Tabla 34. Regresión logística binaria entre presencia de trombopenia (SI/NO) y portadores de SNP.....	147
Tabla 35. Regresión de COX relacionado los días hasta el inicio de la anemia y los portadores de SNP.....	148
Tabla 36. Regresión de COX entre dosis de docetaxel hasta inicio de anemia y portadores de SNP.....	150

Tabla 37. Relación entre la presencia de toxicidad hematológica en alguna de las 3 series y presencia de SNPs, en pacientes tratados con docetaxel.....	151
Tabla 38. Regresión logística binaria entre la variable beneficio clínico y diferentes factores clínicos.....	152
Tabla 39. Regresión logística binaria entre la variable beneficio clínico y diferentes factores clínicos.....	153
Tabla 40. Regresión logística binaria entre la variable beneficio clínico y toxicidad hematológica.	154
Tabla 41. Regresión logística binaria entre la variable beneficio clínico y toxicidad hematológica.	155
Tabla 42. Asociación entre la respuesta a la quimioterapia y ser portador de SNP en pacientes tratados con paclitaxel en monoterapia.....	157
Tabla 43 Asociación entre la respuesta a la quimioterapia y ser portador de SNP en pacientes tratados con docetaxel en monoterapia.....	157
Tabla 44. Supervivencia global de los pacientes incluidos en la serie	158
Tabla 45. Análisis de supervivencia global y factores clínicos relacionados,.....	160
Tabla 46. Análisis de supervivencia global y factores clínicos relacionados,.....	161
Tabla 47. Análisis de supervivencia global y presencia de toxicidad hematológica, en pacientes tratados con paclitaxel.....	162
Tabla 48. Análisis de supervivencia global y presencia de toxicidad hematológica, en pacientes tratados con docetaxel.....	163
Tabla 49. Análisis de supervivencia global y su relación con ser portador de los polimorfismos estudiados, en pacientes tratados con paclitaxel.....	165
Tabla 50. Análisis de supervivencia global y su relación con ser portador de los polimorfismos estudiados, en pacientes tratados con paclitaxel.....	165

ABREVIATURAS

ADN/DNA:	Ácido Desoxirribonucleico (del inglés <i>Desoxyribonucleic Acid</i>)
ARN/RNA:	Ácido Ribonucleico (del inglés <i>Ribonucleic Acid</i>)
CTCAE:	Criterios de Terminología Común para los Eventos Adversos (del inglés <i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>)
CYP:	Citocromo
EMA:	Agencia Europea del Medicamento
FDA:	Agencia regulatoria de medicamentos en Estados Unidos (del inglés; <i>Food and Drug Administration</i>)
G-CSF:	Factores estimulantes de colonias (del inglés, <i>Granulocyte colony-stimulating factor</i>)
GDP:	Difosfato de guanosina (del inglés <i>Guanosine Diphosphate</i>)
GTP:	Trifosfato de guanosina (del inglés <i>Guanosine Triphosphate</i>)
GWAS:	Estudios de Asociación del Genoma Completo (del inglés <i>Genome Wide Association Study</i>)
IC:	Intervalo de confianza
IMC:	Índice de masa corporal
PAMTs	Proteínas asociadas a los microtúbulos
PD:	Farmacodinámica (del inglés <i>Pharmacodynamics</i>)
PCR:	Reacción en Cadena de la Polimerasa (del inglés <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PK:	Farmacocinética (del inglés <i>Pharmacokinetics</i>)
QT:	Quimioterapia
RLB:	Regresión logística binaria
SNP:	Polimorfismo de un solo nucleótido (del inglés <i>Single Nucleotid Polymorphisms</i>)
SPARC:	Proteína ácida secretada rica en cisteína

CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO



La quimioterapia basada en taxanos constituye hoy en día uno de los pilares de los tratamientos oncológicos en la mayoría de los tumores sólidos, tanto en enfermedad avanzada como en estadios precoces, bien con finalidad adyuvante o neoadyuvante¹. Sin embargo los fármacos antimicrotúbulo constituyen una gran familia de compuestos, que han sido empleados de forma tradicional en campos muy diferentes, mostrando eficacia como herbicidas, antiparasitarios o analgésicos tales como la colchicina, que ya se empleaba en el siglo VI para el control del dolor articular.

1. LOS TAXANOS

Los taxanos son agente antineoplásicos derivados de la corteza del tejo, que se unen de manera preferente y reversible a la subunidad β de la tubulina, por su porción N-terminal. Como consecuencia, favorecen la polimerización de los microtúbulos e impiden su despolimerización, generando uniones estables y no funcionantes, que carecen de la flexibilidad necesaria para cumplir su función dinámica. Los microtúbulos son los elementos fundamentales del huso mitótico, con un papel crítico en la división celular, pero también intervienen en el mantenimiento de la forma, la motilidad, la adhesión celular y el transporte intracelular. Por lo tanto los taxanos son fármacos que actúan específicamente sobre el ciclo celular (ciclodependientes), siendo activos durante la fase de mitosis (M).

La estructura química de estos compuestos se muestra en la Figura 1.

1. 1 PACLITAXEL

Las propiedades antitumorales de la corteza del *Taxus brevifolia* fueron descritas ya en los años 60 cuando se encontró una llamativa actividad en modelos preclínicos, siendo identificado en 1971 paclitaxel como el constituyente activo de la corteza del tejo². A pesar de su precoz descubrimiento el fármaco no se comercializó en Europa hasta 1993, encontrándose su desarrollo inicial limitado por su escasa solubilidad, cuestión solventada con la adición de Cremofor EL, responsable sin embargo de las reacciones anafilácticas³.

Su estructura química está constituida por 8 anillos taxanos y 4 anillos oxetanos, presentando una cadena en la posición C-13 necesaria para su actividad antitumoral. Paclitaxel se une a proteínas con una afinidad mayor del 90% y se distribuye ampliamente por todos los tejidos siendo altamente lipofílico, con una vida media entre 13 y 20 horas.

Destacable es su farmacocinética no lineal cuando es administrado en infusiones cortas a partir de 3 horas, lo que conlleva importantes implicaciones clínicas en cuanto a modificaciones de dosis. Esto supone que un pequeño incremento de la dosis podría producir una desproporcionada exposición al fármaco activo con su consecuente toxicidad; y por el contrario, una pequeña reducción en la dosis puede disminuir considerablemente la actividad del tratamiento.

La eliminación del fármaco se encuentra mediada mediante el metabolismo hepático y la excreción biliar, habiéndose publicado una importante variabilidad interindividual⁴. Paclitaxel se metaboliza a nivel hepático y biliar, mediante hidroxilación en la posición 6 α por el citocromo P450 2C8 (CYP2C8) formando el metabolito mayor, y en la posición C3' por el CYP3A4/5. Respecto a su transporte se encuentran implicados los transportadores iónicos orgánicos OATP1B3, OATP1B1 y la glicoproteína P.

La primera indicación aprobada por la FDA para paclitaxel fue en el carcinoma de ovario en pacientes que habían fracasado a una primera línea de tratamiento⁵. En la actualidad se utiliza en múltiples tumores, tanto en monoterapia como en

combinación, estando aprobado a día de hoy en España en cáncer de ovario en combinación con platino tras cirugía o como tratamiento de inducción, cáncer de mama, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de esófago, cáncer de vejiga y de próstata, Sarcoma de Kaposi asociado a VIH y tumores de origen desconocido⁶⁻⁸.

Las dosis más utilizadas son la infusión trisemanal de 175mg/m² en 3 horas y la dosis semanal de 80mg/m² que posee un mejor perfil de toxicidad⁹ y para algunos tumores como cáncer de mama avanzado mayor eficacia¹⁰. Paclitaxel debe ser administrado a través de un filtro con membrana microporosa menor a 0.22micras y el paciente deberá recibir premedicación con esteroides, anti-histamínicos y antagonistas-H₂, al menos 30 minutos antes de la infusión¹¹.

No existen recomendaciones de ajuste de dosis en pacientes con insuficiencia renal, aunque si debe disminuirse en casos con alteración de la función hepática¹².

1. 2 DOCETAXEL

Docetaxel es un taxano semisintético obtenido a partir del tejo europeo *Taxus baccata*, 2.5 veces más potente que paclitaxel. Está formado por un anillo taxano y 4 anillos oxetanos, con una cadena éster en el carbono 13, importante para su actividad. Es soluble en etanol, metanol y diclorometano, pero insoluble en agua.

Tras la administración, presenta una eliminación trifásica, con una vida media de eliminación de 11 horas. El 97% del fármaco se une a proteínas (principalmente a la glicoproteína ácida α_1 , albúmina y lipoproteínas) y su metabolización es hepática, a través del citocromo CYP3A4 y CYP3A5. Se elimina fundamentalmente a través de las heces, siendo su aclaramiento renal inferior al 7% y solamente un 10% es excretado sin metabolizar.

Los determinantes principales del aclaramiento de docetaxel son la superficie corporal, la función hepática y la concentración en plasma de la glicoproteína ácida α_1 . De hecho, se ha publicado que los niveles basales de esta glicoproteína en

pacientes con cáncer de pulmón tratados con docetaxel en monoterapia podrían considerarse un factor de respuesta independiente¹³.

Docetaxel fue aprobado por primera vez en 1996 en Estados Unidos en pacientes con cáncer de mama metastásico que habían progresado a un régimen con antraciclinas. Posteriormente logró la indicación en adyuvancia y primera línea de cáncer de mama, en cáncer de pulmón no microcítico, en cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, en cáncer gástrico y cáncer de cabeza y cuello¹⁴⁻¹⁹. La dosis más habitual de administración es de 75 a 100mg/m² cada 21 días intravenoso, y está recomendado premedicar con esteroides desde el día previo a la administración con el fin de disminuir reacciones alérgicas y como profilaxis del síndrome de retención hídrica característico del fármaco, que se debe al incremento en la permeabilidad capilar. Debe ser administrado con precaución en pacientes con alteración hepática²⁰.

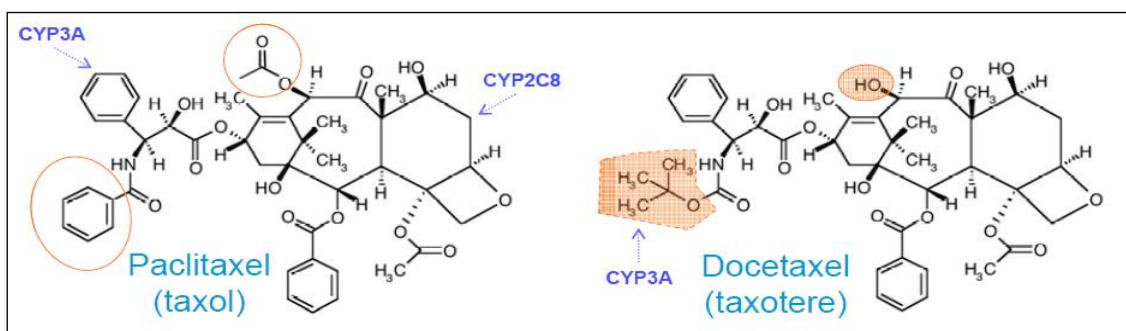


Figura 1. Estructura química de los taxanos paclitaxel y docetaxel. Las diferencias entre ambas moléculas están resaltadas, así como las posiciones y los enzimas que intervienen en su biotransformación

1. 3 NUEVOS TAXANOS EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Nanopartícula de paclitaxel

Nab-paclitaxel o ABI-007 es una fórmula de paclitaxel unido a albúmina, que favorece el ensamblaje de los microtúbulos de los dímeros de tubulina, estabilizándolos y evitando la despolimerización²¹.

El objetivo del desarrollo de ABI-007 fue desarrollar un taxano con un mejor perfil de solubilidad que el paclitaxel y disminuir los efectos secundarios de los excipientes que utiliza el paclitaxel. Contiene nanopartículas de un tamaño de aproximadamente 130 nm constituidas por paclitaxel unido a albúmina sérica humana, donde el paclitaxel está presente en estado amorfo, no cristalino. Tras la administración intravenosa, las nanopartículas se disocian rápidamente y se vuelven complejos solubles de paclitaxel unido a albúmina de un tamaño de aproximadamente 10 nm. Se sabe que la albúmina participa en la transcitosis caveolar endotelial de componentes plasmáticos, y estudios in vitro han demostrado que la presencia de albúmina en ABI-007 favorece el transporte de paclitaxel a través de las células endoteliales. Se cree que este transporte caveolar transendotelial aumentado está mediado por el receptor de albúmina gp-60 (glicoproteína 60), y que se produce una acumulación aumentada de paclitaxel en el área del tumor debido a la proteína de unión a la albúmina, proteína ácida secretada rica en cisteína (SPARC).

Este fármaco presenta una alta unión a proteínas (superior al 90%), una vida media de 27 horas, y se metaboliza principalmente a partir de CYP2C8.

Nab-paclitaxel está indicado en el tratamiento del cáncer de mama metastásico en pacientes en los que haya fracasado el tratamiento de primera línea y para los que no esté indicada la terapia previa con antraciclinas²². Recientemente, se ha publicado un fase II con resultados prometedores en cáncer de páncreas²³. La dosis de administración recomendada es de 260mg/m² por vía endovenosa en 30 minutos de infusión cada 21 días. A diferencia de paclitaxel, ABI-007 no requiere premedicación con esteroides, antihistamínicos o antagonistas-H₂ ya que al no

precisar de Cromofor como excipiente las reacciones de hipersensibilidad disminuyen drásticamente.

En la actualidad no se dispone de datos suficientes para recomendar modificaciones de la dosis en pacientes con insuficiencia hepática leve a moderada o insuficiencia renal que garanticen una toxicidad aceptable al tiempo que se mantiene la eficacia. Los pacientes con insuficiencia hepática grave no deben ser tratados con paclitaxel.

Cabazitaxel

Cabazitaxel es un agente antineoplásico que actúa mediante la interrupción de la red microtubular en las células. Se une a la tubulina y promueve la unión de la tubulina en los microtúbulos mientras, simultáneamente, inhibe su desmontaje. Esto da lugar a la estabilización de los microtúbulos, lo que resulta en la inhibición de las funciones celulares mitótica e interfase²⁴.

Posee una semivida terminal larga de 95 horas y se une principalmente a la albúmina sérica humana (82,0%) y a lipoproteínas (87,9% para HDL, 69,8% para LDL y 55,8% para VLDL). Su metabolización es hepática a través de CYP3A y se excreta fundamentalmente a través de las heces, por lo que la eliminación renal de cabazitaxel y metabolitos supone menos del 4% de la dosis. Por ello, no se recomienda su uso en pacientes con insuficiencia hepática, no siendo necesario modificar dosis en casos con insuficiencia renal.

Cabazitaxel en combinación con prednisona o prednisolona está indicado para el tratamiento de pacientes con cáncer de próstata metastático hormono-resistente, tratados anteriormente con una pauta terapéutica conteniendo docetaxel²⁵. La dosis recomendada es de 25 mg/m² administrada durante 1 hora en perfusión intravenosa cada 3 semanas y requiere premedicación con esteroides, antihistamínicos y antagonistas-H₂, recomendándose profilaxis antiemética.

Moléculas en ensayo clínico

A pesar de las altas tasas de respuesta a estos agentes quimioterápicos muchos de los pacientes tratados acabarán progresando al tratamiento. Taxanos de nueva generación están siendo desarrollados en la actualidad dentro de ensayos clínicos, con el fin de:

- Mejorar el perfil de toxicidad. Como ejemplo está NKTR-105, una formulación pegilada de docetaxel que no requiere esteroides como premedicación, actualmente en fase I.
- Facilitar la forma de administración. Tasetaxel (en fase II para cáncer gástrico) y BMS 275183 (en fase II en cáncer de pulmón no microcítico) pueden administrarse vía oral.
- Vencer la resistencia a los taxanos clásicos. Milataxel (con una fase II en marcha para mesotelioma) y Larotaxel (en ensayo fase III para cáncer de páncreas) han demostrado en modelos preclínicos ser activos tras resistencia a taxanos²⁶⁻²⁸.
- Aumentar el espectro de actividad. ANG1005 es una prometedora formulación de paclitaxel en combinación con un péptido llamado Angiopep-2 que permite al fármaco superar la barrera hematoencefálica. Ha demostrado ser activo en estudios preclínicos y actualmente existen ensayos en marcha para probar su eficacia en pacientes con glioblastoma recurrente y metástasis cerebrales²⁹.

2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS TAXANOS

2. 1 LOS MICROTÚBULOS

Los microtúbulos son un componente del citoesqueleto con una función crucial en todas las células eucariotas, siendo imprescindibles para la división celular en la formación del huso mitótico así como para conformar la estructura y función de los cilios y de los flagelos.

Todos los microtúbulos están constituidos según el mismo principio: el corte transversal de un microtúbulo revela que está constituido por 13 subunidades de 4 a 5 nm de diámetro con un hueco central. Estas subunidades proteicas globulares se denominan tubulinas, y se asocian en dímeros compuestos por la combinación de 2 tipos de proteínas: α y β -tubulinas. Estos heterodímeros se alinean ordenadamente, mediante enlaces no covalentes en presencia de GTP y magnesio, en filas longitudinales que se denominan protofilamentos (figura 2).

Cada microtúbulo un total de trece protofilamentos que luego se agregan lateralmente para formar estructuras cilíndricas huecas³⁰.

Asociados a las tubulinas, se encuentran además unas proteínas minoritarias llamadas proteínas asociadas a los microtúbulos (PAMTs) que desempeñan una función estabilizadora e iniciadora de la reacción de polimerización. Diferentes estructuras microtubulares (husos mitóticos o fibras axonales) contienen diferentes PAMTs. En presencia de estas proteínas,

Una importante característica de los microtúbulos es su polaridad. Debido a que todos los protofilamentos de un microtúbulo tienen la misma orientación, un extremo está compuesto por un anillo de α -tubulina denominado extremo negativo (-) y, el opuesto, por un anillo de β -tubulina denominado extremo positivo (+). Los nuevos dímeros de tubulina se añaden con una menor eficacia a la α -tubulina que a la β -tubulina, por lo que el extremo + es el lugar preferente de crecimiento del microtúbulo y predomina la polimerización respecto a la despolimerización, a diferencia del extremo -.

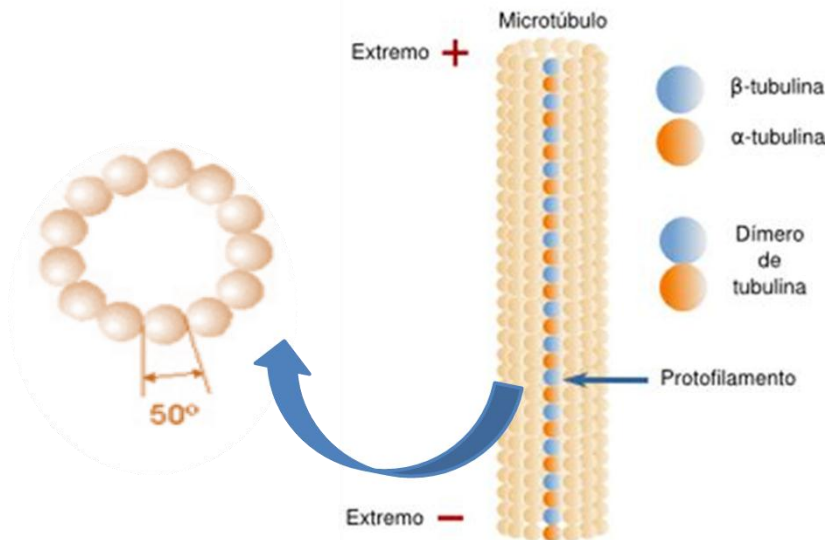


Figura 2. Representación de un microtúbulo compuesto por protofilamentos en los que se alternan subunidades de α y β tubulinas. En la figura de la izquierda podemos ver en un corte transversal como cada microtúbulo está compuesto a su vez por 13 protofilamentos.

Durante la polimerización, ambas unidades de tubulina se encuentran unidas a una molécula de guanosín trifosfato. El GTP desempeña una función estructural en la α -tubulina, pero es hidrolizado a GDP en la β -tubulina. Esta hidrólisis modula la adición de nuevos dímeros. Así, el GTP se hidroliza tras un lapso del tiempo, lo que permite que, si la adición de dímeros es rápida, se forme en el extremo (+) un casquete de β -tubulina unida a GTP, mientras que, de ser lenta, lo que se expone es tubulina unida a GDP. Pues bien: esta unión a uno u otro nucleótido es la que determina la velocidad de polimerización o despolimerización del microtúbulo. Así, un casquete en el extremo (+) con GTP favorece la elongación, mientras que uno de GDP, la despolimerización^{31,32}. A estas alternancias entre polimerización y despolimerización es a lo que se llama inestabilidad dinámica y se lleva a cabo en el centrosoma.

El centrosoma no sólo participa en la polimerización de los microtúbulos sino que también es importante en la regulación del ciclo celular (figura 3). Asimismo, se ha implicado en procesos de oncogénesis ya que se han descrito centrosomas supernumerarios en las células tumorales, con la consecuente formación de husos mitóticos multipolares que pueden llevar a aneuploidías³³.

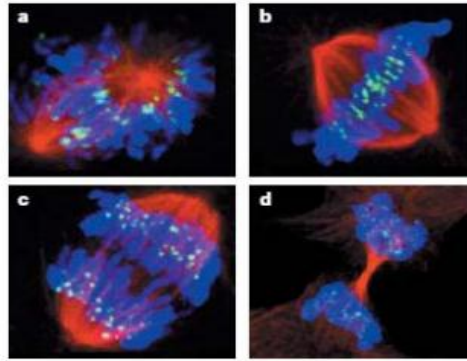


Figura 3. Inmunofluorescencia de células de osteosarcoma en las diferentes etapas de la mitosis. Los microtúbulos se muestran en rojo, el ADN se muestra en azul y los cinetócoros en verde. A. En prometafase, las envueltas nucleares se han roto, los cromosomas están condensados y los microtúbulos, muy dinámicos, recorren el citoplasma en busca de los cromosomas. B. En metafase temprana, la mayoría de los cromosomas se han congregado en el ecuador de la célula para formar la placa metafásica. C. En anafase, los cromosomas duplicados se han separado en sus dos cromátidas y se mueven hacia los polos de la célula. D. En telofase, los cromosomas separados han alcanzado los polos del huso mitótico y la célula se está escindiendo para dar lugar a dos células hijas. Adaptado de Jordan y Wilson, 2004.

2. 2 TUBULINAS

La familia de las tubulinas está formada por un grupo de proteínas globulares de 55KDa, entre las que se encuentran las tubulinas alfa (α), beta (β) y gamma (γ), que comparten una identidad entre sus cadenas de aminoácidos de 35-40%, aunque su similitud con cualquier otra proteína conocida es mínima³⁴. Las tubulinas α y β son las subunidades esenciales de los microtúbulos, mientras que la tubulina- γ es un componente fundamental del centrosoma.

Existen asimismo otras variantes menores, que no están presentes en todos los organismos eucariotas, denominadas tubulina delta (δ), epsilon (ϵ) y zeta (ζ)³⁵.

En mamíferos existen al menos 6 isotipos de α y 8 de β -tubulinas, que están codificados por distintos genes, muy conservados entre especies^{36,37}. Este hecho está seguramente relacionado con las limitaciones estructurales del ensamblaje y desensamblaje de microtúbulos, junto con las limitaciones impuestas por la asociación de proteínas como las kinesinas y dineínas.

2. 3 BETA-TUBULINAS

Los genes de la familia de las β -tubulinas están constituidos por cuatro exones y tres intrones y sus secuencias proteicas se diferencian principalmente en los 15-20 aminoácidos del extremo C-terminal, que es la región de unión para una serie de proteínas asociadas a microtúbulos o MAPS (del inglés Microtubule-Associated Proteins)³³.

El patrón de expresión de los diferentes isotipos de β -tubulina ha sido pobremente caracterizado. Ello se debe principalmente al uso de anticuerpos que no son capaces de reconocer de forma específica y única a los distintos isotipos. Sin embargo, lo que sí sabemos con la evidencia actual es que la expresión de algunos isotipos de β -tubulina es constitutiva (es decir, se encuentra en todas las células del organismo); mientras que otros isotipos parecen tener una expresión restringida a algunos tejidos específicos: como las clases II, III y IVa a tejido neuronal^{31,34,35} y la clase VI a tejido hematopoyético³⁸ (tabla 1).

Recientemente, en un trabajo publicado por Leandro-García et al en el que se determina mediante PCR en tiempo real la expresión de mRNA de los 8 subtipos de β -tubulina en humanos se ha descrito la frecuencia de estos subtipos en tejido de pacientes sanos y tejido tumoral observando diferencias significativas de la expresión en tumores³⁸.

GEN	PROTEINA	GEN	PROTEINA
TUBB2C	β -tubulina IVb	TUBB	β -tubulina I
TUBB3	β -tubulina III	TUBB1	β -tubulina VI
TUBB4	β -tubulina IVa	TUBB2A	β -tubulina IIa
TUBB6	β -tubulina V	TUBB2B	β -tubulina IIb

Tabla 1. Isotipos de beta-tubulina y sus genes

2. 4 DIANA TERAPÉUTICA DE LOS TAXANOS

Un gran número de productos químicos procedentes de vegetales o animales tienen su sitio de unión en las tubulinas. Esto se debe a la importancia crucial de

los microtúbulos en la división celular, que parece haber sido utilizada como mecanismo de defensa desde tiempos ancestrales por seres vivos que producían sustancias anti-tubulina para defenderse de posibles amenazas.

Los fármacos que actúan inhibiendo la dinámica de las tubulinas pueden clasificarse en 2 grandes grupos: los agentes desestabilizadores de microtúbulos y agentes estabilizadores de microtúbulos, en función de su mecanismo de acción (figura 4). Los agentes desestabilizadores actúan inhibiendo la polimerización de microtúbulos cuando se presentan a altas concentraciones, y se unen principalmente a los dominios de los agentes de la vinca y de la colchicina. Los agentes estabilizadores producen sin embargo, un aumento de la polimerización de microtúbulos a altas concentraciones³⁹. Por esta razón aunque ambos tipos de drogas funcionan inhibiendo la mitosis, no parece existir un aparente antagonismo y pueden usarse de forma combinada en la práctica clínico⁴⁰⁻⁴².

Sin embargo hay quienes defienden que esta teoría es demasiado simplista, ya que los efectos sobre los microtúbulos son dependientes de la concentración. Así, a concentraciones elevadas de taxol la masa de polímero formado se incrementa notablemente, mientras que a concentraciones bajas (menor a 10 nM) no se observa efecto sobre la masa total del polímero, aunque sí un bloqueo de la dinámica de los microtúbulos^{1,43}.

A diferencia de los alcaloides de la vinca que pueden unirse tanto a la β -tubulina soluble como a los microtúbulos, los taxanos clásicos se unen pobremente a la tubulina soluble, siendo capaces de unirse directamente y con alta afinidad a la tubulina que ya se ha incorporado a los microtúbulos. Paclitaxel se une a la subunidad beta en un bolsillo hidrofóbico situado en el lumen de los microtúbulos, por lo que se requiere que el fármaco difunda a través de las aberturas en los extremos de los polímeros. La unión de paclitaxel a la cara interna de los microtúbulos produce la estabilización de los mismos, impidiendo la división celular en la transición metafase/anafase y conduciendo a apoptosis⁴⁴.

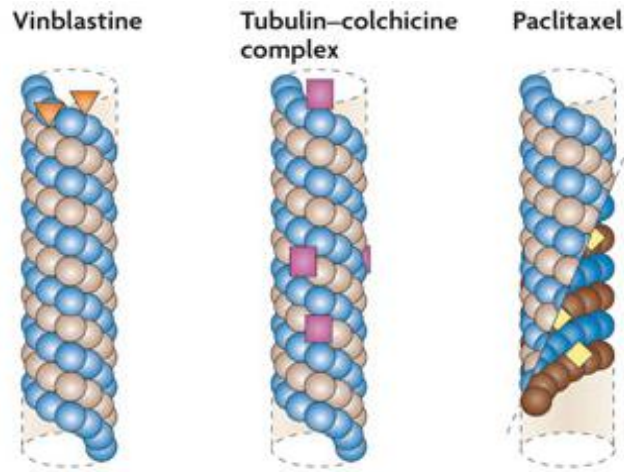


Figura 4. Sitios de unión de vinblastina, colchicina y paclitaxel a los microtúbulos. Como se puede apreciar, paclitaxel es el único de los agentes anti-microtúbulo que se une en el interior de la estructura. Adaptado de Charles Dumontet & Mary Ann Jordan *Nature Reviews Drug Discovery* 9, 790-803 (October 2010)

Docetaxel es dos veces más potente que el paclitaxel como estabilizador de los microtúbulos, presentando una mayor afinidad por la β -tubulina. Los efectos citotóxicos se deben a que el docetaxel bloquea algunos de componentes críticos en la fase S de la división celular que son esenciales para la mitosis afectando sólo parcialmente las células en la fase G1.

3. FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA

El efecto citotóxico de los taxanos depende directamente de su farmacocinética y farmacodinámica. Por ello, un mismo esquema de quimioterapia con paclitaxel o docetaxel puede tener no sólo una respuesta diferente, sino efectos secundarios diversos en función de estos factores.

La farmacocinética (PK) es la rama de la farmacología que estudia los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción de un fármaco, describiendo los pasos a los que es sometido un fármaco desde el momento en que es administrado hasta su total eliminación del organismo. Desde el punto de vista clínico, conocer la farmacocinética de una sustancia tiene como finalidad predecir qué condiciones deben tenerse en cuenta para elegir la mejor dosis y pauta de administración. Los principales parámetros que se manejan en PK son la biodisponibilidad, el volumen de distribución, la proporción de fármaco que circula libre o unida a proteínas, el aclaramiento y la vida media.

Entre los genes más relevantes para la PK están aquellos que codifican las familias 1-3 de enzimas metabólicas citocromo P450 (CYP)⁴⁵, las enzimas de conjugación uridina difosfato glucuronosiltransferasas (UGT), sulfotransferasas (ST) y glutation S-transferasas (GST)⁴⁶, y los transportadores que incluyen la glicoproteína P y otras proteínas relacionadas con resistencia a múltiples fármacos (MDRs)⁴⁷.

Los taxanos son administrados de forma intravenosa y son metabolizados en el hígado por los citocromos P450 (CYP) a metabolitos más hidrosolubles. Posteriormente, el fármaco y sus metabolitos son excretados al canalículo biliar mediante la P-glicoproteína o difunden al plasma^{48,49}. En el plasma la forma libre del fármaco (molécula activa) y los metabolitos llegan tanto a los tumores, donde producirán el efecto terapéutico deseado (muerte celular de las células tumorales), como a tejidos no-tumorales (por ejemplo, la médula ósea, el sistema nervioso periférico etc) donde causarán toxicidad (ver figura 5).

La biotransformación del paclitaxel y docetaxel se diferencian en la posición de hidroxilación y los enzimas implicados. En el paclitaxel las hidroxilaciones son

catalizadas por el CYP2C8 (posición 6 α), formando el metabolito principal, y los CYP3A4/5 (posición 3'para). En el docetaxel los CYP3A4/5 catalizan la hidroxilación en la cadena ter-butilo. Posteriormente y de forma minoritaria, puede formarse un aldehído inestable que da lugar a oxazolodionas⁴⁹. Hay estudios que sugieren que docetaxel podría producir menos interacciones medicamentosas que paclitaxel en su inhibición del CYP, ya que su concentración es mayor a nivel intracelular⁵⁰.

La farmacodinamia (PD) estudia los efectos bioquímicos y fisiológicos de los fármacos y sus mecanismos de acción implicados en la eficacia terapéutica y/o efectos tóxicos⁵¹. Por ello, las dianas de terapéuticas de un compuesto se encuentran entre las proteínas más relevantes de este campo. Así, en los últimos años los estudios explorando polimorfismos asociados al mecanismo de acción de los fármacos con el fin de encontrar una variable predictiva de toxicidad a un tratamiento han ido creciendo en los últimos años⁵²⁻⁵⁶.

En el caso de los taxanos, variaciones genéticas en su diana terapéutica, la proteína β -tubulina, podrían asociarse asimismo a una distinta sensibilidad a docetaxel y paclitaxel⁵⁷⁻⁵⁹.

Factores demográficos, clínicos y/o genéticos pueden alterar estos procesos. Entre ellos destaca:

- La edad avanzada. La absorción digestiva es más lenta dado que existe una disminución en la motilidad gastrointestinal. Respecto a la distribución, existe una disminución de las proteínas plasmáticas en ancianos que aumenta la fracción de fármaco libre, y una disminución del agua corporal que dificulta la absorción de fármacos hidrosolubles. La función renal y hepática están disminuídas por lo que aumenta el riesgo de toxicidad⁶⁰.
- Comorbilidad. La presencia de comorbilidad que altere el porcentaje de proteínas (como la malnutrición), la cantidad de volumen circulante (como la deshidratación), el filtrado glomerular o el metabolismo hepático, pueden llevar a

aumentar el nivel de fármaco activo y por tanto producir efectos secundarios a una dosis inferior a la habitual.

- Interacciones medicamentosas. La familia de citocromo P450 o CYP constituye el mayor complejo enzimático involucrado en el metabolismo de los fármacos en nuestro organismo, al jugar un papel fundamental en la fase oxidativa del metabolismo. Por ello, es esencial revisar los fármacos que un paciente está recibiendo a la hora de prescribir un nuevo tratamiento.

- Factores ambientales. No sólo los fármacos son objeto de estudio en relación con las interacciones. Las implicaciones que los componentes de la dieta tienen sobre la farmacocinética de algunas sustancias no están suficientemente estudiadas. Así mismo, se están investigando efectos similares con sustancias naturales. Por ejemplo, se ha descubierto que los zumos de algunos frutos, como el zumo de pomelo, tienen capacidad de inhibir la actividad de la CYP3A4, enzima implicada en el metabolismo de algunos fármacos, actividad que realizan a través de sustancias como la bergamotina, ladihidroxi-bergamotina o la paradisina A. Otras interacciones de interés pueden ser las de algunas plantas (*Hypericum perforatum*), inductora de CYP3A4 o el humo del tabaco, inductor de CYP1A2.

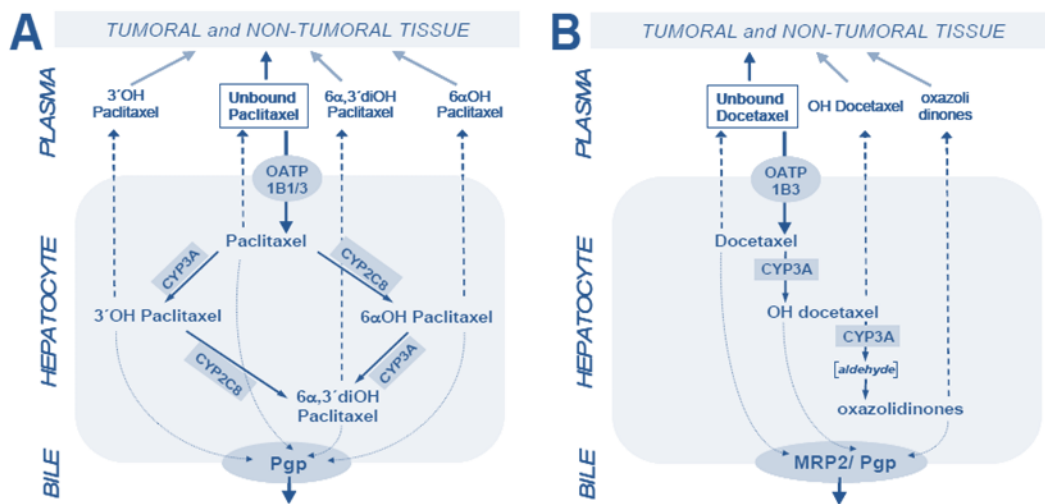


Figura 5. Esquema representativo de las vías de metabolismo y excreción de paclitaxel (A) y docetaxel (B). Adaptado de Leskela et al. *The Pharmacogenetics Journal* 2011; 11: 121-129.

Con respecto a los factores genéticos, existe una gran variabilidad en la actividad de los enzimas de metabolización de fármacos y también en algunos transportadores que es de base genética. Los estudios de farmacogenética centrados en las rutas PK y PD se basan en la hipótesis de que variaciones en los genes que codifican las proteínas implicadas en estas rutas podrían afectar el efecto del fármaco.

4. PROBLEMAS CLÍNICOS ASOCIADOS AL USO DE TAXANOS

4. 1 MIELOSUPRESIÓN.

La neutropenia afecta a más del 90% de los pacientes expuestos a paclitaxel y docetaxel, siendo el factor limitante de dosis. El nadir aparece entre el séptimo y el décimo día, con recuperación a partir del catorceavo día. Con docetaxel la incidencia de neutropenia grado 4 alcanza el 80% con dosis de 75mg/m² y el 95% con dosis de 100mg/m², presentando un 22% de los pacientes neutropenia febril. La anemia es asimismo más frecuente con docetaxel, afectando hasta el 90% de los pacientes tratados, aunque rara vez es grave. La trombopenia tiene una prevalencia menor del 15% y es dosis dependiente, siendo a pesar de su baja frecuencia una de las toxicidades de mayor relevancia al no existir tratamientos eficaces de prevención, a diferencia del soporte con factores estimuladores de colonias en el caso de la neutropenia o eritropoyetina en el caso de la anemia. Además la mielosupresión será más evidente en aquellos pacientes que hayan sido expuestos previamente a otros quimioterápicos.

4. 2 HIPERSENSIBILIDAD.

Hasta un 40% de los pacientes tratados con paclitaxel presentarán una reacción anafiláctica, descendiendo a un 5% con el empleo de la premedicación. En el caso de docetaxel la incidencia es inferior. Se caracteriza por aparición de rash cutáneo generalizado, eritema, hipotensión, disnea, e incluso, broncoespasmo. Su incidencia es similar en los diferentes esquemas de administración y suele aparecer en los primeros 10 minutos de infusión.

4. 3 CARDIOVASCULAR.

En el caso de paclitaxel es frecuente la aparición de bradicardia (generalmente transitoria y asintomática) hipotensión o síncope, de escasa relevancia clínica, aunque se han descrito casos de arritmias, bloqueos auriculoventriculares e infarto agudo de miocardio. Respecto a docetaxel, el perfil de toxicidad cardiovascular es

distinto, manifestándose en forma de edemas en un 40-70% de los pacientes expuestos, siendo esta toxicidad dosis-dependiente y acumulativa.

4. 4 GASTROINTESTINAL.

La mucositis es dosis dependiente y acumulativa, apareciendo en más del 50% de los pacientes tratados, aunque solo se manifiesta con gravedad en menos del 10%. La diarrea puede verse hasta en un 20% con docetaxel, siendo poco frecuente con paclitaxel. La presencia de náuseas o vómitos es rara.

4. 5 NEUROLÓGICOS.

Paclitaxel produce neuropatía periférica acumulativa predominantemente sensorial, que se desarrolla como una neuropatía axonal distal, simétrica, debilitante y dolorosa.⁶¹ Aunque hasta el momento los mecanismos causales de esta toxicidad no han sido determinados con precisión, es claro que el transporte axonal mediado por microtúbulos se ve afectado⁶². Es más frecuente con las infusiones prolongadas, con dosis superiores a 170mg/m² y en pacientes con antecedentes de exposición a agentes neurotóxicos (p.e. cisplatin), enolismo o diabetes mellitus. Las neuropatías motora y vegetativa son menos frecuentes y se asocian con altas dosis de paclitaxel. En el caso de docetaxel las disestesias y parestesias se observan en un 10% de los pacientes y son reversibles.

4. 6 DERMATOLÓGICOS.

La alopecia aparece en el 90% de los pacientes y puede afectar a toda la superficie corporal. Otras alteraciones dermatológicas menos frecuentes son los cambios en las uñas (onicolisis, hiper o hipopigmentación), rash cutáneos y además se ha descrito eritrodisestesia palmo-plantar con docetaxel.

4. 7 HEPÁTICAS.

El tratamiento con taxanos puede producir hipertransaminasemia e hiperbilirrubinemia. En raras ocasiones se ha descrito fallo hepático.

4. 8 OTROS. Artromialgias, miopatías, conjuntivitis, astenia y teratogenicidad.

5. MANEJO HABITUAL DE TOXICIDAD HEMATOLÓGICA

La mielosupresión es el principal factor limitante de dosis en el tratamiento con taxanos, lo que supone interrupciones prematuras del tratamiento en pacientes que han obtenido respuestas tumorales con el fin de evitar efectos secundarios y consecuencias clínicas que en ocasiones pueden llevar a hospitalización e incluso al fallecimiento del paciente.

El nadir o punto más bajo de recuento de cifras en sangre, se alcanza en el caso de los esquemas con taxanos que se administran de forma trisemanal a los 10-12 días, presentando recuperación a los 15-21 días. Habitualmente no se realiza hemograma en el nadir, sino que la analítica de control se extrae el día previo a la administración de la quimioterapia objetivando la recuperación de la mielosupresión.

En la práctica clínica habitual la toxicidad hematológica se maneja de acuerdo al grado de neutropenia, trombopenia y anemia, basándonos en la clasificación de la CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events publicada por el National Cancer Institute) (tabla 2).

5. 1 NEUTROPENIA.

La neutropenia es la presentación más frecuente. Se considera que la cifra es clínicamente relevante si desciende por debajo de los 1000 neutrófilos/mm³ ya que entonces existe riesgo aumentado de infecciones. Además, hay que tener en cuenta una serie de factores de riesgo para el desarrollo de infección en el caso de neutropenia como son: la edad, la malnutrición, la hospitalización prolongada, el tipo e intensidad de la quimioterapia, la alteración de la función hepática y renal o el estado de deshidratación.^{63,64} La neutropenia febril (NF) se define como la aparición de fiebre en el contexto de un descenso de neutrófilos por debajo de 500/mm³ o por debajo de 1000/mm³ si se prevee que esta cifra va a bajar. En la última versión de los CTCAE v.4 se recogen 2 grados diferenciados de neutropenia febril: grado 3 si el paciente mantiene aceptable estado general y grado 4 si existe peligro para la vida del paciente y se requiere

una intervención urgente. En este caso además de iniciar tratamiento con antibióticos de amplio espectro y soporte con factores estimulantes de granulocitos se requiere hospitalización del paciente.

De forma general, se establece un retraso en la administración de la dosis del quimioterápico cuando la cifra de neutrófilos disminuye por debajo de $1500/\text{mm}^3$. En casos de neutropenia significativa mantenida o presencia de neutropenia febril se recomienda descender la dosis. Sólo se suspenderá el tratamiento en aquellos casos en los que a pesar de la disminución de la dosis el paciente no presente recuperación hematológica.

El factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) se utiliza para el manejo y/o prevención de esta toxicidad. Actualmente se recomienda la administración de G-CSF a modo preventivo si existe un riesgo de neutropenia febril mayor o igual al 20%,^{65,66} lo cual permite reducir a la mitad la mortalidad relacionada con infecciones y la NF.⁶⁷ Sin embargo hay que tener en cuenta el alto coste de este tratamiento así como los efectos adversos que conlleva. De acuerdo con la ficha técnica de estos productos, entre un 10 y un 29% de los pacientes que reciban soporte con G-CSF padecerán dolores oseos generalizados así como complicaciones relacionadas con la administración mediante una inyección subcutánea diaria. A pesar de que los efectos son autolimitados son muchos los pacientes que presentan limitaciones en su vida diaria e incluso hay quienes rechazan la administración de estos fármacos prefiriendo retrasar la continuación del tratamiento quimioterápico.

5. 2 TROMBOPENIA.

La trombopenia se define como la disminución del recuento sanguíneo de plaquetas por debajo de $100.000\text{-}150.000/\text{mm}^3$). Su principal complicación clínica es la hemorragia que puede llegar a ser mortal, que aparecen generalmente por debajo de las 50.000 plaquetas/ mm^3 aunque normalmente no se producen complicaciones hemorrágicas importantes con recuentos superiores a $20.000/\text{mm}^3$. Los sangrados pueden aparecer en distintas

localizaciones en forma de epistaxis (nasal), hemoptisis (a nivel respiratorio), hematemesis o melenas (a nivel digestivo) y petequias (cutáneo). La transfusión profiláctica de plaquetas se encuentra indicada cuando las plaquetas disminuyen por debajo de $10.000/\text{mm}^3$ o por debajo de $20.000/\text{mm}^3$ si existe riesgo de sangrado. En caso de urgencia quirúrgica o necesidad de procedimientos diagnósticos invasivos, la transfusión se realizará si el recuento de plaquetas es inferior a $50.000/\text{mm}^3$. Sin embargo, la vida media de las plaquetas es corta y así, una transfusión de plaquetas sólo será eficaz durante las primeras 24 horas, por lo que es una de las toxicidades más difíciles de controlar para el oncólogo dada la falta de tratamientos preventivos realmente eficaces.

5. 3 ANEMIA.

La anemia se define como una disminución de los niveles de hemoglobina (Hb) por debajo de 12 g/dl. Aproximadamente un 75% de los pacientes con cáncer en tratamiento quimio o radioterápico presentan anemia moderada, con cifras de hemoglobina entre 12 y 8 g/dl. La incidencia de anemia en el paciente en tratamiento quimioterápico va a depender de diversos factores tales como el tipo y dosis de quimioterápico utilizado o el tipo de tumor (pacientes con infiltración de médula ósea), produciendo sintomatología diversa (astenia, taquicardia, disnea...) según el grado de severidad y la velocidad de instauración. No solo influye en la calidad de vida del paciente sino también en la efectividad del tratamiento oncológico. La anemia puede ser un factor pronóstico independiente en la supervivencia del paciente oncológico.

En el tratamiento de la anemia del paciente con cáncer, dependiendo del grado de severidad y de las circunstancias clínicas, se utiliza la transfusión de concentrados de hematíes y la eritropoyetina (EPO). Las transfusiones son muy efectivas, al controlar los síntomas de una forma rápida y eficaz, pero los riesgos asociados a su empleo (infecciones víricas o reacciones inmunes), y la corta duración de su efecto hace que no sea el tratamiento de elección.

La EPO es una hormona sintetizada en el hígado (90%) y en el riñón (10%) y cuya principal función es la estimulación de células progenitoras. En el paciente con cáncer existe una producción de EPO endógena insuficiente. Su administración exógena permite disminuir el número de transfusiones. Antes de utilizar EPO es necesario descartar la existencia de otras causas de anemia como la presencia de sangrado, hemólisis y deficiencias de hierro, ácido fólico o vitamina B12. Habitualmente se recomienda su utilización en pacientes con Hb <10 g/dl y nunca se mantendrá cuando el paciente supere la cifra de 12 g/dl y entre sus efectos adversos destaca la hipertensión arterial, el aumento del riesgo de trombosis o la cefalea.

	GRADOS				
Efecto adverso	1	2	3	4	5
Anemia	Hb normal- 10g/dl	Hb 8-10 g/dl	Hb 8-6.5g/dl	Hb <6.5g/dl	Muerte
Neutropenia	2000-1500/mm ³	1500-1000/mm ³	1000-500/mm ³	<500/mm ³	
Trombopenia	<75.000/mm ³	75.000-50.000/mm ³	50.000-10.000/mm ³	<10.000/mm ³	

Tabla 2. Clasificación de la toxicidad hematológica de acuerdo con la NCI Common Toxicity Criteria v4

5. 4 DIFERENCIAS ENTRE DOCETAXEL Y PACLITAXEL

La toxicidad hematológica del docetaxel es mayor a la del paclitaxel. El paclitaxel en monoterapia a dosis de 175mg/m² cada 21 días puede resultar en neutropenias, anemias y trombocitopenias grado ≥2 en un 20, 10 y 1% de los pacientes, respectivamente,^{68,69} mientras que el docetaxel a dosis de 60mg/m² cada 21 días (sin uso profiláctico de G-CSF) causa neutropenias grado 3-4 en 50-80% de los pacientes.^{70,71}

En el caso de paclitaxel, es frecuente la administración semanal, que presenta un mejor perfil de toxicidad, objetivando habitualmente recuperación

hematológica a los 7 días de la administración del tratamiento. En estos casos el tratamiento con factores estimulantes de colonias de forma profiláctica no está recomendado.

La administración de docetaxel, siendo el esquema de 75mg/m² el más frecuente, aunque depende del tipo de tumor y del esquema de quimioterapia empleado. El soporte con G-CSF solo se recomienda como se comentó previamente en casos en que el riesgo de neutropenia febril esperada es mayor del 20%, por lo que cuando se administra en monoterapia no suele requerirse profilaxis.

6. FARMACOGENÉTICA

6. 1 VARIABILIDAD INTER-INDIVIDUAL Y RELEVANCIA CLÍNICA

La variación interindividual en los efectos de los fármacos representa uno de los mayores retos en la práctica clínica habitual, en la que se busca cada día más, el empleo de tratamientos menos tóxicos y desde un abordaje personalizado.

Teniendo en cuenta que el porcentaje de pacientes que no responden a fármacos de uso común se estima entre un 20 y un 75%⁷² y que las reacciones adversas a fármacos son frecuentes y suponen cerca del 7% de todos los ingresos hospitalarios en los países occidentales,⁷³⁻⁷⁵ son muchos los pacientes que van a recibir tratamientos que solo les van a aportar efectos secundarios.

En Oncología, existe una aparición creciente de terapias diana, en las que el mecanismo de acción de los fármacos se encuentra dirigido (por ejemplo a un receptor o proteína concreta), disminuyendo la frecuencia de efectos secundarios. Sin embargo la realidad es que a día de hoy la mayor parte de los pacientes oncológicos reciben en algún momento de su enfermedad quimioterapia sistémica como base del tratamiento, que actúa no sólo sobre las células tumorales sino sobre células sanas de múltiples tejidos del organismo que poseen un alto índice de replicación. Esta reacción no buscada limita la escalada de dosis terapéutica y produce una toxicidad especialmente relevante, por lo que las consecuencias derivadas de las decisiones médicas pueden comprometer la calidad de vida a largo plazo de los pacientes e incluso tener un desenlace fatal.

6. 2 VARIABILIDAD GENÉTICA

La variación genética está compuesta por las diferencias observadas en los genomas de los distintos individuos de una especie. Estas variaciones son causadas por mutaciones y recombinaciones en el genoma y su establecimiento y frecuencia en una determinada población son consecuencia de la selección natural y la deriva genética.

Se distinguen 2 grandes grupos de variaciones genéticas, pudiendo ambas conducir a diferencias inter-individuales en los efectos provocados por los fármacos:

- Variación genética germinal o heredada: Intrínseca a todas las células del individuo, congénita desde el nacimiento.
- Variación genética somática: Alteraciones presentes en las células tumorales, adquiridas en el proceso de oncogénesis.

La secuenciación reciente del genoma humano ha puesto de manifiesto que el genoma de dos personas distintas difiere en sólo un 0,1%; es decir, el 99,9% de las bases que constituyen el ADN humano es igual para todos los individuos⁷⁶.

Así, de la comparación de este 0,1% distinto entre individuos se podrá conocer la predisposición genética a determinadas enfermedades, así como identificar mutaciones que puedan explicar las diferencias entre las respuestas individuales ante la enfermedad y los tratamientos con medicamentos⁷⁷.

El tipo más común de variación genética, representando aproximadamente el 90% del total del genoma humano, es el denominado polimorfismo de nucleótido simple (SNP), en donde una determinada secuencia de ADN entre los individuos difiere por una única base (figura 6). Los SNP se asocian con determinadas enfermedades, siendo también responsables de las distintas respuestas ante un mismo medicamento⁷⁸.

Actualmente se estima que hay alrededor de 10 millones de SNPs en el genoma humano⁷⁹. Cuando los SNP aparecen en regiones que codifican para proteína pueden clasificarse en SNP no sinónimos, cuando la variante supone un cambio de aminoácido y SNP sinónimos, cuando el aminoácido no varía entre las dos variantes alélicas. Los SNP también pueden clasificarse en funcionales, cuando alteran la expresión del gen o la función de la proteína y los no funcionales cuando no tienen ningún efecto aparente.

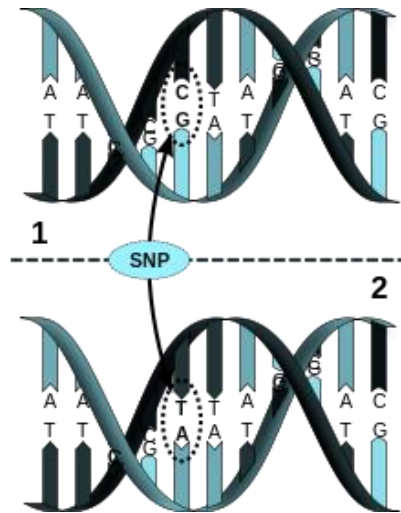


Figura 6. Un polimorfismo de un solo nucleótido o SNP (del inglés Single Nucleotide Polymorphism) es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G)) de una secuencia del genoma. Una de estas variaciones debe darse al menos en un 1% de la población para ser considerada como un SNP. Si no se llega al 1% no se considera SNP y sí una mutación puntual.

6. 3 ESTRATEGIAS DE ESTUDIOS EN FARMACOGENÉTICA

Fue en el año 1959 cuando Fredrich Vogel usó por primera vez el término “farmacogenética” para designar el estudio del papel que juega la variación de los genes individuales en la respuesta a los medicamentos, ante los numerosos ejemplos de lo que solía denominarse idiosincrasia a medicamentos tales como: anestésicos, opiáceos o quimioterápicos⁸⁰.

La farmacogenética fundamente utiliza estudios de asociación para identificar variantes genéticas asociadas a la eficacia/toxicidad de los fármacos. Los estudios de asociación se basan en el descubrimiento de la relación causa-efecto de una variante genética y un determinado fenotipo, como puede ser la susceptibilidad a desarrollar una determinada enfermedad o una respuesta a un fármaco⁸¹.

Estrategias de genes candidatos

La mayoría de los estudios farmacogenéticos que se han llevado a cabo hasta la actualidad se basan principalmente en estrategias de genes candidatos que aprovechan el conocimiento de un conjunto de eventos que ocurren desde la

administración de un fármaco hasta su efecto. Estos eventos son los que comprenden las rutas farmacocinéticas y farmacodinámicas.

En los últimos años, el conocimiento sobre estas rutas se ha incrementado y actualmente no se estudian sólo unos pocos genes claves implicados, sino que podemos describir todos los genes que codifican los miembros conocidos de las rutas PK y PD de un determinado fármaco⁸².

Sin embargo existen una serie de limitaciones: en primer lugar, que a pesar del importante desarrollo aún no se conocen todos los genes implicados, y en segundo lugar, que la variabilidad interindividual probablemente no se explica sólo por un determinado polimorfismo/gen, sino por la combinación de varias alteraciones genotípicas junto con factores clínicos y fisiopatológicos.

Estrategias de genoma completo

Los estudios de asociación de genoma completo o GWAS (del inglés Genome Wide Association Studies) se han desarrollado en los últimos años gracias a los importantes avances tecnológicos, siendo capaces de genotipar simultáneamente millones de SNPs (figura 7). Estos estudios no tienen en cuenta conocimientos biológicos previos, y de esta forma permiten descubrir nuevos genes que no habían sido relacionados con el fármaco previamente, pero que son importantes para su efecto⁸³.

La base de estudios es el proyecto HapMap (www.hapmap.org) donde se representa la variación común poblacional, en forma de SNPs marcadores o tagSNPs, a lo largo de todo el genoma. Estos tagSNPs son representativos de una determinada región del genoma con alto desequilibrio de ligamiento, proporcionando información de todos los SNPs relacionados con ellos, aunque no estén representados directamente en la plataforma de genotipado.

Debido al amplio número de variantes estudiadas en estas plataformas el número de SNPs con valores falsos positivos es alto, por lo que se requieren estudios de validación en series independientes.

Hasta ahora en los estudios GWAS farmacogenómicos sólo se han detectado variantes genéticas con efectos fuertes, que multiplican al menos 4 veces el riesgo en los individuos portadores.⁸⁴ Esto se debe en parte a la dificultad para conseguir series amplias de pacientes con datos clínicos asociados, que hayan recibido un tratamiento de forma homogénea y en los que la eficacia y toxicidad del fármaco se haya recogido de una forma detallada, objetiva y uniforme.

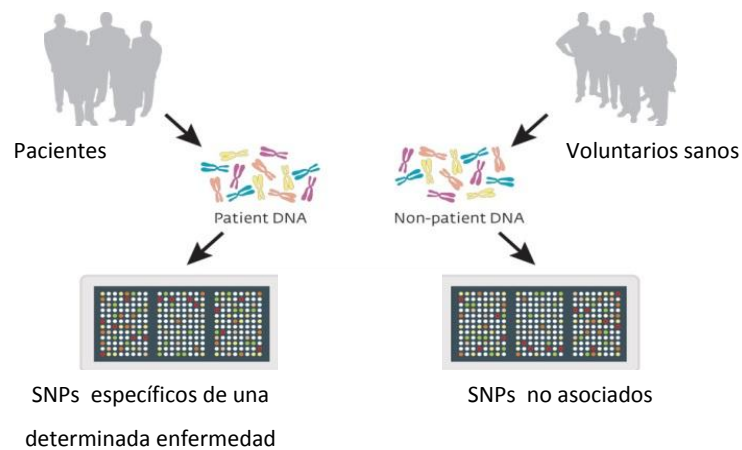


Figura 7. Representación de los estudios de genoma completo (GWAS) en los que el fin es encontrar todas las variaciones que distinguen a los pacientes con un determinado fenotipo (por ejemplo, que presentan una enfermedad o una determinada toxicidad) y compararlo con personas no afectadas.

7. POLIMORFISMOS ASOCIADOS A HEMATOTOXICIDAD POR TAXANOS

7. 1 POLIMORFISMOS RELACIONADOS CON LA FARMACOCINÉTICA DE LOS TAXANOS

Existe una clara relación entre la toxicidad hematológica de los taxanos y diversos parámetros farmacocinéticos como el tiempo que el fármaco permanece por encima de 0.01 o 0.05 μ M en plasma y/o el AUC⁸⁵⁻⁸⁷. Por tanto, una alteración en el metabolismo y eliminación de los taxanos puede modificar los niveles plasmáticos del fármaco y sus metabolitos, incidiendo directamente en el riesgo de toxicidad. Existen variaciones genéticas en los enzimas de metabolización y transportadores de los taxanos que, por tanto, podrían ser importantes para los efectos adversos.

Como hemos comentado previamente en el apartado 3 los enzimas más importantes implicados en el metabolismo de docetaxel son los CYP3A4/5 y en el caso de paclitaxel los CYP2C8 y los CYP3A4/5. A este respecto, existen estudios en los que se ha relacionado la existencia de polimorfismos en los genes de los citocromos involucrados y el aclaramiento de paclitaxel/docetaxel.

Los polimorfismos más relevantes que se han identificados asociados al metabolismo de los taxanos son el CYP3A5*3 y el CYP3A4*1B^{88,89}. El SNP CYP3A5*3 produce isoformas alternativas (del inglés *alternative splicing*) dando lugar a un gen que codifica varias proteínas o también puede producir proteínas truncadas lo que produciría una disminución en los niveles de citocromo. Teniendo en cuenta que la frecuencia de CYP3A5 en caucásicos es del 33% y que CYP3A5*3 es la variante más polimórficamente expresada, podría contribuir significativamente a las diferencias interindividuales en el metabolismo de los fármacos en los que está involucrado⁸⁹. A su vez, los portadores de CYP3A4*1B parecen relacionarse con una menor actividad enzimática⁸⁸.

Respecto al CYP2C8, destacan los polimorfismos CYP2C8*3 y el Haplotipo C^{90,91}. CYP2C8*4 (I264M) no ha sido relacionado con alteración en la actividad enzimática, si bien es cierto codifica una variante proteica que no ha sido suficientemente estudiada⁹². En cuanto a los haplotipos B y C representados por

CYP2C8*1B (rs7909236) y rs1113129 se ha encontrado una reducción de la actividad enzimática con el primero y un incremento de la actividad con el segundo⁹¹. Paclitaxel y las glitazonas comparten un mismo sustrato de metabolización, habiéndose demostrado que la concentración de ambos fármacos se correlaciona dada su dependencia del CYP2C8⁹³. En este sentido, se ha descrito una mayor actividad enzimática con el polimorfismo CYP2C8*3 que produciría un aumento en la excreción de metabolitos, lo que podría suponer una menor acumulación y por tanto, toxicidad del fármaco involucrado⁹⁰.

En cuanto a los transportadores, éstos son menos polimórficos que los CYP, pero también se han descrito polimorfismos potencialmente relevantes. En el ABCB1 (P-glicoproteína) los polimorfismos: 2677G>T/A; 1236C>T; 3435C>T⁹⁴ y en el gen ABCC2 (MRP2) el polimorfismo: -24C>T⁹⁵. En los transportadores de entrada codificados por los genes SLC01B1 y SLC01B3, las variantes V174A⁹² y S112A/M233I⁹⁶, respectivamente.

En el caso del docetaxel la relación entre la presencia de polimorfismos y el aclaramiento del fármaco parece confirmarse, encontrando variantes que actuarían como factores protectores y factores de riesgo para la toxicidad hematológica⁹⁷⁻⁹⁹, mientras que en el caso del paclitaxel los resultados obtenidos son contradictorios^{4,100,101}. Por otra parte, otros parámetros farmacocinéticos importantes, como las concentraciones de metabolitos, casi no se han estudiado.

Estos resultados no concluyentes pueden deberse a distintos problemas, como insuficiente potencia estadística, falta de control de covariables importantes, estudios retrospectivos inicialmente planteados con otros objetivos (por ejemplo, análisis de supervivencia) o falta de control de los datos de toxicidad (como la determinación de la dosis acumulada de taxano al inicio de la toxicidad o la falta de valoración del soporte hemoterápico).

La variabilidad en la farmacocinética de paclitaxel y su relación con efectos secundarios ha sido estudiada previamente en pacientes que presentaban neurotoxicidad. En el trabajo más extenso publicado por CNIO se seleccionaron 13 polimorfismos relevantes localizados en genes codificantes relacionados con

enzimas metabolizadoras de paclitaxel (CYP2C8, CYP3A4 and CYP3A5) y sus transportadores (OATP1B1, OATP1B3 and P-glycoprotein), que fueron analizados en 118 pacientes con cancer que habían recibido tratamiento con paclitaxel. Entre los resultados (tras ajustar por edad y esquema de tratamiento) se encontró que el haplotipo C del CYP2C8 y CYP3A5*3 eran factores protectores de neurotoxicidad (HR por alelo 0.55; 95% IC 0.34–0.89; P. 0.014; y HR por alelo 0.51; 95% IC 0.30–0.86; P. 0.012, respectivamente) y CYP2C8*3 se asoció con aumento de riesgo de neuropatía (HR por alelo 1.72; 95% IC 1.05–2.82; P. 0.032). Los resultados obtenidos con los transportadores y los otros genes estudiados fueron no concluyentes¹⁰².

Otros estudios de menor tamaño, como el de Green et al encontraron asociación con la variante CYP2C8*3 y un riesgo aumentado de neurotoxicidad, de acuerdo con los datos publicados por CNIO¹⁰⁰. Otros autores no encontraron significación estadística, aunque estos trabajos no están exentos de sesgos: Marsh et al, incluyeron un importante número de pacientes dentro de un ensayo fase III en el que se administraba una combinación de carboplatino + taxano en el que no se recogió la dosis acumulativa de paclitaxel¹⁰³ y Sissung et al evaluaron polimorfismos en ABCB1 en solo 22 pacientes¹⁰⁴.

Dada la evidencia actual, es esencial el desarrollo de nuevos estudios en farmacocinética que investiguen la toxicidad de los taxanos.

7. 2 POLIMORFISMOS RELACIONADOS CON LA DIANA DE LOS TAXANOS.

Debido al papel crucial de las β -tubulinas en la proliferación celular, las variaciones genéticas no están permitidas. Sin embargo, el isotipo hematológico VI es una excepción y se han descrito polimorfismos asociados a disminución del riesgo cardiovascular por modulación de la función plaquetaria (Q43P)¹⁰⁵ o variantes relacionadas con macrotrombocitopenia congénita (R318W)¹⁰⁶. Otras variaciones genéticas en los isotipos de β -tubulina descritas en líneas celulares se han asociado con resistencia a agentes anti-microtúbulo^{57,107,108}. Por otro lado, variaciones en la

composición de los isotipos de β -tubulina se ha asociado con una sensibilidad disminuída a este tipo de fármacos¹⁰⁹⁻¹¹¹.

Por todo ello, los polimorfismos en la β -tubulina pueden dar lugar a alteraciones proteicas y consecuentemente podrían producir diferencias en la unión de los taxanos a su diana terapéutica, los microtúbulos.

Si tenemos en cuenta que el isotipo VI sólo está presente en células hematológicas de acuerdo con la caracterización de los diferentes isotipos de β -tubulina realizada por el grupo de Rodriguez-Antona la presencia de variantes en el gen TUBB1 podría explicar la variabilidad interindividual en la mielosupresión producida por taxanos³⁸ (figura 8).

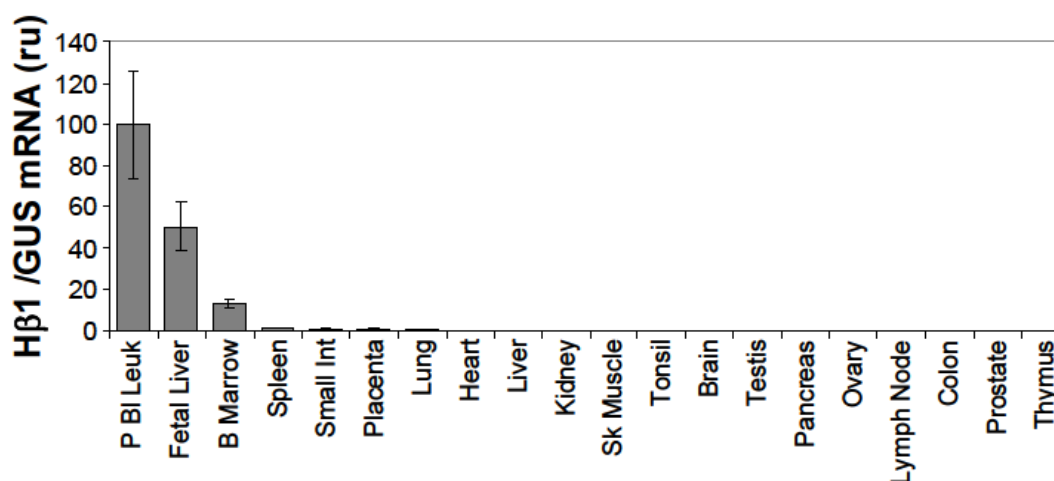


Figura 8. Expresión del isotipo VI de β -tubulina (H β 1) en tejidos humanos. Este isotipo es específico de células hematológicas, lo que lo convierte en un candidato ideal para el estudio de toxicidad hematológica por fármacos con acción anti-microtúbulo.
Leandro et al. Cytoskeleton (Hoboken). 2010 Apr;67(4):214-23.

Esta hipótesis ha sido estudiada en líneas celulares portadoras de polimorfismos en β -tubulina VI y en una serie de 49 pacientes con neoplasias hematológicas tratadas con paclitaxel de inducción a altas dosis (170mg/m² administrado de forma continua por vía intravenosa durante 24 horas). En este trabajo se describen

en total 4 polimorfismos (Q43P, T274M, R307H e Y55X) entre los cuales solo las células que portaban la alteración T274M se asociaron con una menor sensibilidad a paclitaxel emergiendo como un posible factor protector para la mielosupresión y encontrando significación estadística entre los pacientes estudiados que presentaron trombopenia y dicha variante en heterocigosis¹¹² (figura 9).

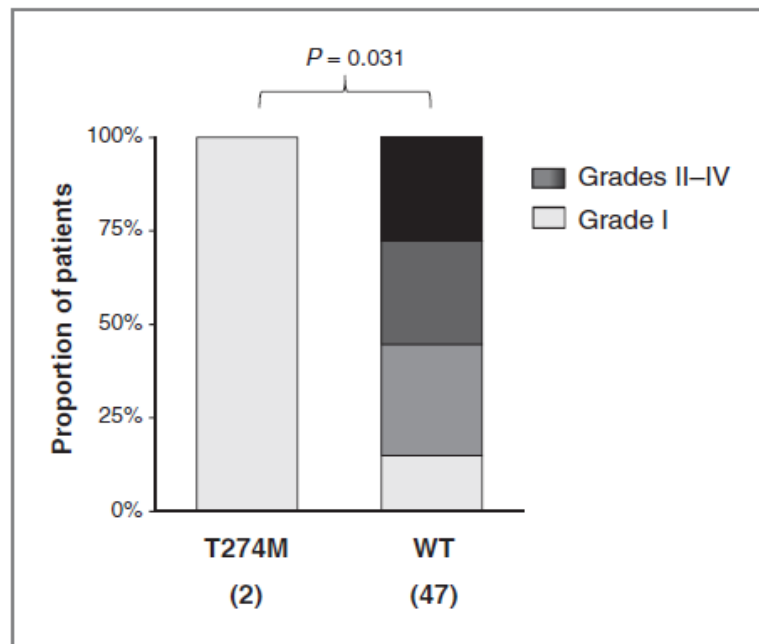
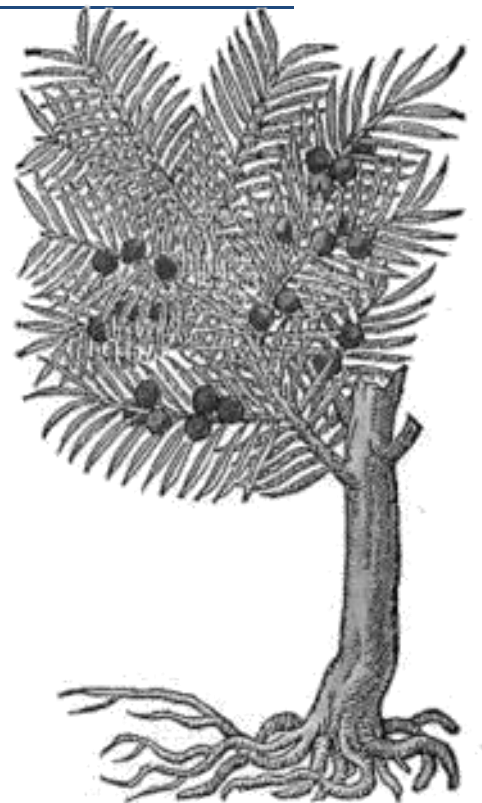


Figura 9. Los pacientes portadores del polimorfismo T274M de la beta-tubulina VI desarrollaron menos trombocitopenia tras tratamiento con paclitaxel (Fisher exact test). Leandro-García et al, 2012.

CAPÍTULO 2: BASE RACIONAL



La quimioterapia sigue siendo a día de hoy la base de tratamiento de una gran parte de los pacientes que son diagnosticados de cáncer, siendo los taxanos una de las terapias antineoplásicas más extendidas, habiendo demostrado ser eficaces en una larga lista de patologías tan destacables como el cáncer de mama, cáncer de pulmón o tumores genitourinarios. A diferencia de las nuevas terapias diana, que tienen un mecanismo de acción dirigido, los taxanos tienen un espectro de acción amplio por el cual afectan a todas las células del organismo que poseen un alto índice de replicación y consecuentemente, el número de efectos secundarios derivados es extenso y es un factor clave en el día a día de una consulta de Oncología Médica.

El manejo de la toxicidad es esencial, tanto en aquellos pacientes con fin paliativo en el que se busca como objetivo principal el mejorar la calidad de vida, como en pacientes con enfermedad precoz, en el que secuelas derivadas de este tratamiento podrían condicionar o incluso limitar el desarrollar su vida con total normalidad.

Existen grandes diferencias interindividuales en la aparición de efectos secundarios derivados de la toxicidad por quimioterapia, entre los que destaca la mielosupresión por ser un factor limitante de dosis y por su relevancia clínica.

La toxicidad hematológica puede cursar en forma de neutropenia aumentando consecuentemente el riesgo de infecciones para el paciente que es sometido a un grado de inmunodepresión, puede debutar en forma de trombopenia que conlleva riesgo de sangrado o puede aparecer en forma de anemia, que es una de las toxicidades más frecuentes y cuya sintomatología limita la calidad de vida de los pacientes que la padecen. De hecho en muchos de los casos, los efectos adversos se acumulan, pudiendo incluso desembocar en un desenlace fatal.

Otro punto a tener en cuenta dentro de la mielosupresión derivada de la quimioterapia es la adición de medidas preventivas o de soporte al tratamiento antineoplásico, que conllevan asimismo una repercusión clínica (por los efectos secundarios derivados de los mismos como el cuadro pseudogripal y el dolor óseo causado por los factores estimulantes de colonias o el riesgo de transmisión de infecciones y reacciones alérgicas que supone realizar una transfusión), además del coste económico que supone tanto de forma directa como indirecta por la necesidad aumentada de atención en Hospital de Día o los posibles ingresos derivados de toxicidad hematológica grave. De hecho, en la práctica clínica habitual es frecuente la asistencia a pacientes oncológicos en urgencias por cuadros febriles en el contexto de neutropenia o hemorragias secundarias a trombopenia, episodios que son especialmente peligrosos en personas que padecen otras patologías concomitantes que requieren tratamiento inmunosupresor crónico, anticoagulantes o simplemente que por el hecho de tener un tumor diseminado se encuentran en una situación clínica frágil en los que las posibilidades de complicaciones se multiplican.

Desgraciadamente a día de hoy, no tenemos herramientas útiles que nos permitan distinguir que pacientes van a presentar toxicidad hematológica y que pacientes van a presentar una buena tolerancia al mismo tratamiento.

En los últimos años, los conocimientos en la farmacocinética y farmacodinámica como agentes anti-microtúbulo de este grupo de quimioterápicos ha avanzado considerablemente, aunque en el momento actual no existen marcadores moleculares capaces de predecir los efectos secundarios de los taxanos. Respecto a la toxicidad hematológica, existe una gran variabilidad interindividual, y de este modo pacientes con un mismo esquema de tratamiento pueden desarrollar grados de mielosupresión muy diversos, por lo que el oncólogo es incapaz de conocer antes de realizar su prescripción el riesgo real que padece cada paciente que se somete a un tratamiento con docetaxel o paclitaxel.

La identificación de marcadores predictivos de la toxicidad hematológica de los taxanos, es pues, un importante reto existente y de una gran relevancia clínica. La evidencia existente hasta el momento (expuesta en el capítulo anterior) apunta a que gran parte de la variabilidad que existe en la biodisponibilidad de los taxanos podría ser explicada por polimorfismos presentes en los citocromos que regulan el metabolismo de los mismos (que afectan a su farmacocinética) y/o alteraciones en su diana terapéutica la β -tubulina (que afectarían a su farmacodinamia).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

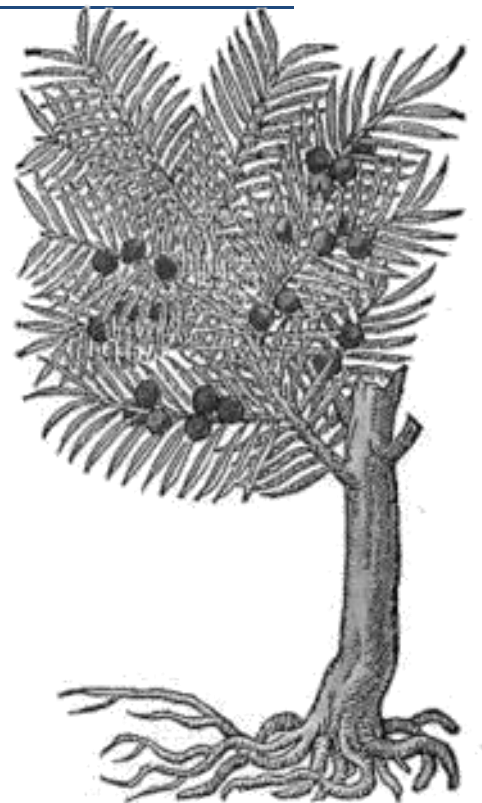
La toxicidad hematológica es un efecto adverso relevante y frecuente durante el tratamiento con taxanos, siendo uno de los mayores problemas asociados a esta toxicidad la gran variabilidad interindividual existente, impredecible en el momento actual puesto que las bases moleculares son aún desconocidas.

Dado que existen polimorfismos importantes en los genes que regulan la metabolización y el transporte de los taxanos, nuestra hipótesis de partida es que variantes en estos genes de línea germinal podrían causar diferencias interindividuales en la toxicidad hematológica. También proponemos que las variaciones genéticas en la diana terapéutica de los taxanos (β -tubulina, y particularmente, del isotipo hematológico VI) podrían conferir un riesgo diferente de desarrollar toxicidad hematológica.

Los objetivos de este trabajo son:

- I. Analizar de forma descriptiva las variables clínicas relacionadas con los pacientes tratados con monoterapia en taxanos (docetaxel y paclitaxel) en el Hospital Universitario Fundación Alcorcón durante los años 2000-2009.
- II. Estudiar de forma descriptiva la relación de polimorfismos asociados a los taxanos con las variables clínicas y anatomopatológicas clásicas en la práctica asistencial habitual.
- III. Evaluar la relación de estos polimorfismos relacionados con la farmacocinética y farmacodinamia de los taxanos y la toxicidad hematológica (neutropenia, trombopenia y anemia).
- IV. Realizar un análisis de supervivencia con el fin de encontrar variables de asociación entre el tratamiento con taxanos y el pronóstico.

CAPÍTULO 3: MATERIAL Y MÉTODOS



1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio retrospectivo unicéntrico exploratorio que pretende evaluar la posible asociación de 3 polimorfismos relacionados con la farmacocinética y un polimorfismo relaciona con la farmacodinamia de los taxanos, seleccionados mediante estrategia de genes candidatos, con el fin de analizar su posible relación con la toxicidad hematológica de los mismos y su relevancia clínica, en pacientes con tumores sólidos tratados con monoterapia con paclitaxel o docetaxel.

2. SELECCIÓN DE POLIMORFISMOS A ANALIZAR

Los polimorfismos analizados en este estudio fueron recogidos mediante estrategia de genes candidatos, basándonos en la frecuencia alélica en personas caucásicas y principalmente en la evidencia existente que relacionaba estas variantes con el metabolismo y diana terapéutica de los taxanos.

Finalmente se escogieron 4 polimorfismos: 1 polimorfismo asociado con la farmacocinética de paclitaxel y docetaxel (CYP3A5*3), 2 polimorfismos asociados con la farmacocinética de paclitaxel (CYP2C8*3 y CYP2C8 Haplotipo C) y 1 polimorfismo asociado con la farmacodinámica de paclitaxel y docetaxel localizado en el isotipo VI de la β -tubulina que es específico de la línea hematológica (tabla 3).

SNP	GEN	Nombre común del alelo	Localización	Efecto	Fármaco implicado	Frecuencia en la población	Frecuencia alélica menor
-----	-----	------------------------	--------------	--------	-------------------	----------------------------	--------------------------

rs776746	CYP3A5	CYP3A5*3	7:99270539	Defecto splicing	Docetaxel y paclitaxel	N/N 0.906 N/P 0.094 P/P -	0.05
rs11572080	CYP2C8	CYP2C8*3	10:96827030	Variante proteica	Paclitaxel	N/N 0.788 N/P 0.176 P/P 0.035	0.12
rs1113129	CYP2C8	CYP2C8-HapC	10:96811045	Haplotipo de baja actividad	Paclitaxel	N/N 0.659 N/P 0.306 P/P 0.035	0.19
rs35565630	TUBB1	-	20:57599303	Menor afinidad	Docetaxel y paclitaxel	N/N 0.941 N/P 0.059 P/P -	0.03

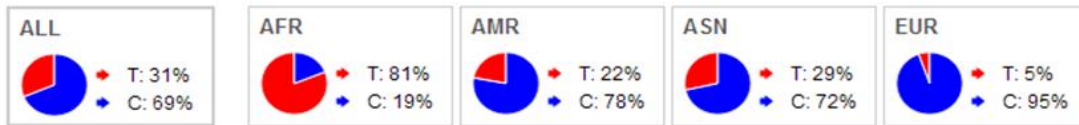
Tabla 3. Descripción de los polimorfismos incluidos en el estudio. Información obtenida de <http://ensembl.org>. N/N= Forma normal. N/P= Heterocigoto para el polimorfismo. P/P=Homocigoto para el polimorfismo

2.1 FRECUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS:

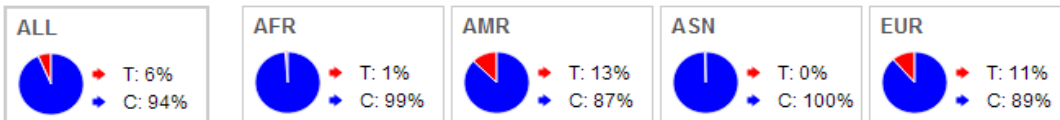
Los polimorfismos más relevantes que se han identificados asociados al metabolismo de los taxanos son el CYP3A5*3 presente en un 5% de la población europea, la variante CYP2C8*3 presente en un 11% y el haplotipo C de CYP2C8 en el que se ha descrito una frecuencia del 22%.

El polimorfismo menos frecuente fue aquel asociado con la farmacodinamia de docetaxel y paclitaxel, presente en el 3% de la población, que se encuentra en el gen TUBB1 que codifica el isotipo VI de la β -tubulina por ser específica de la línea hematológica (figura 10).

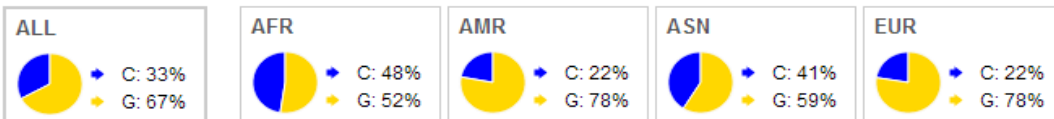
1000 Genomes allele frequencies CYP3A5*3



1000 Genomes allele frequencies CYP2C8*3



1000 Genomes allele frequencies CYP2C8 Haplotype C



1000 Genomes allele frequencies Polimorfismo en TUBB1

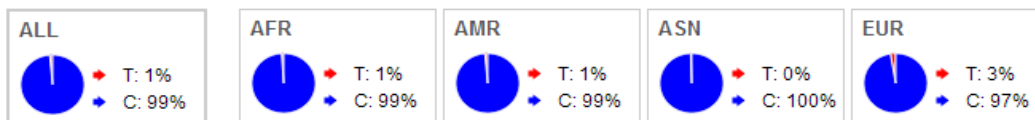


Figura 10. Representación de las frecuencias de los polimorfismos incluidos en el estudio, en las diferentes subpoblaciones. Adaptado de <http://ensembl.org>

2.2 LOCALIZACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS:

Dada la localización conocida de los polimorfismos, se seleccionaron oligonucleótidos o sondas identificativas, que ya habían sido empleados previamente para estas regiones en los experimentos del grupo de Genética Humana del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas sobre estos SNP^{102,112} (figura 11).

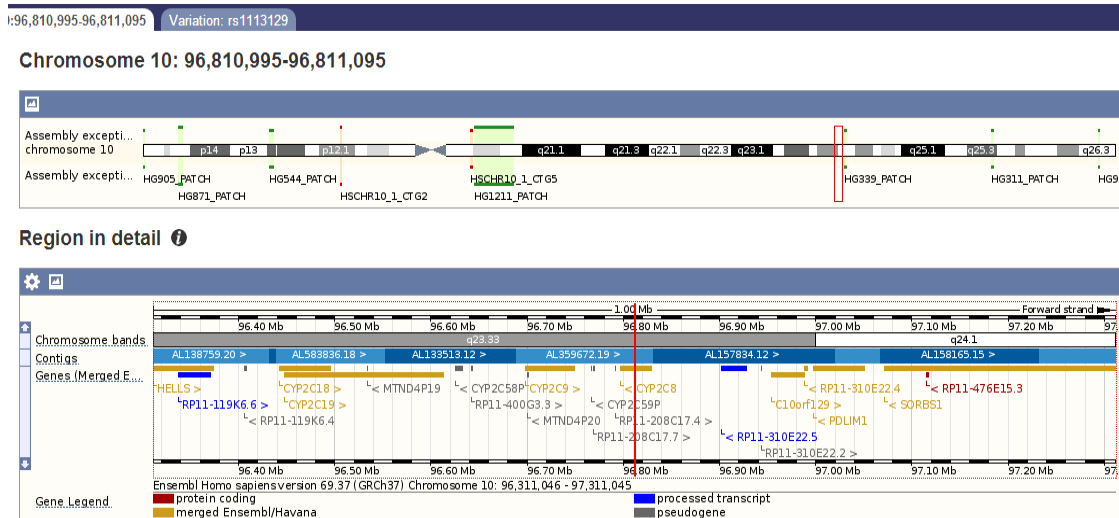


Figura 11. Localización del SNP CYP2C8 Haplotipo C en el cromosoma 10. En esta representación pueden apreciarse además sus relaciones con otros genes del mismo cromosoma.

3. SELECCIÓN DE SUJETOS DE ESTUDIO

La población seleccionada corresponde a aquellos pacientes pertenecientes al AREA 8 (Hospital Univesitario Fundación Alcorcón) que recibieron tratamiento en monoterapia con taxanos.

Con la colaboración del servicio de Farmacia del Hospital se obtuvo un listado de 363 pacientes que de forma retrospectiva habían recibido tratamiento con docetaxel o paclitaxel entre enero de 2000 y diciembre de 2009, que fue confirmado posteriormente utilizando como herramienta de búsqueda la base de datos de GestiOnc® entre más de 3000 pacientes oncológicos.

Se incluyeron inicialmente 363 casos, de los cuales se desestimaron 30 por tratarse de pacientes duplicados que habían recibido al menos en 2 ocasiones tratamiento en monoterapia con paclitaxel o docetaxel. Entre los 333 pacientes restantes, 36 fueron rechazados en un segundo tiempo por no cumplir los criterios de inclusión.

Finalmente se obtuvo material parafinado en 197 de estos 297 casos restantes que cumplían criterios de inclusión, en los cuales se realizó el estudio de genotipado posterior y el análisis de polimorfismos (figura 12).

Los pacientes seleccionados cumplieron los siguientes criterios:

a. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Edad mayor de 18 años.
- Diagnóstico de tumor sólido confirmado mediante estudio histológico.
- Tratamiento previo con quimioterapia con taxanos (paclitaxel o docetaxel).
- Disponibilidad de material anatómico-patológico del tumor.
- Disponibilidad de hemogramas coincidentes con la administración de los ciclos de quimioterapia con taxanos.
- Haber completado al menos un ciclo de quimioterapia.

b. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes tratados con poliquimioterapia concomitante. Se permitió la asociación con otros fármacos no mielosupresores como las terapias anti-HER2 o los bifosfonatos.
- Disponibilidad de material anatomopatológico exclusivamente mediante estudio citológico.
- Disponibilidad de material anatomopatológico exclusivamente tumoral.

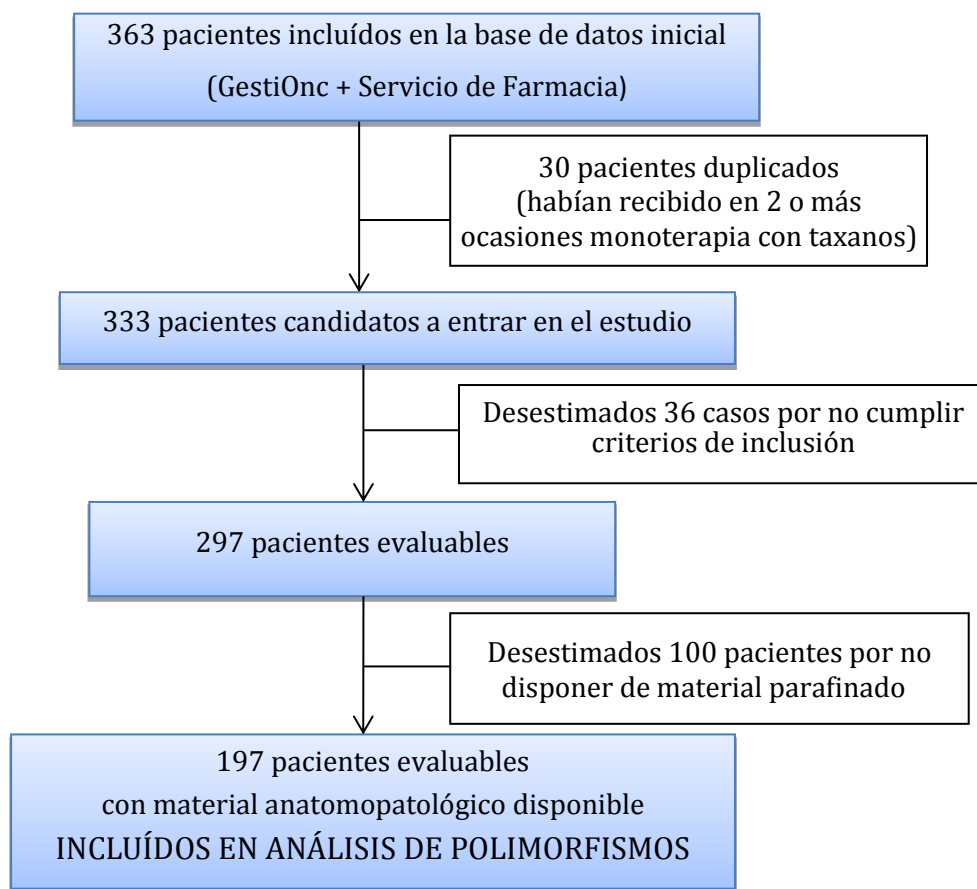


Figura 12. Diagrama de flujo en el que se describe como se realizó la selección final de pacientes incluidos en el estudio. De los 363 casos incluidos inicialmente en la base de datos, 297 pacientes fueron incluidos en el análisis descriptivo y 197 pacientes (de los cuales se obtuvo material histológico para realizar genotipado) se incluyeron en el análisis de polimorfismos.

3. JUSTIFICACIÓN DE TAMAÑO MUESTRAL

En el Hospital Universitario Fundación Alcorcón se administra paclitaxel en monoterapia o están en seguimiento tras su uso, 60 pacientes al año (fundamentalmente pacientes con cáncer de mama y pulmón) y la cifra para docetaxel en monoterapia se aproxima a 30 casos al año (fundamentalmente pacientes con cáncer de mama, pulmón y próstata).

De acuerdo con la literatura un 25-35% de los pacientes tratados con paclitaxel desarrollan toxicidad hematológica relevante (grado 2 o superior).^{68,69} En el caso de docetaxel, que es más hematotóxico pero se administra con mayor frecuencia profilaxis con filgastrim se espera un 5% de neutropenias, 15-20% de anemias y un 3% trombocitopenias.^{70,71}

Teniendo en cuenta la información previa, el número de muestras incluídas en el estudio fue el que permitía obtener una potencia estadística del 80%. Buscando un Hazard Ratio (HR) de 4.0 para un polimorfismo con una frecuencia alélica del 15% y con una incidencia del efecto adverso del 25% en los pacientes estudiados, se estimó que se deberían incluir 128 pacientes en el estudio.

4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

4. 1 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y DATOS CLÍNICOS

Consideraciones previas

El protocolo del estudio fue inicialmente aprobado por el comité ético del Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Todos los pacientes incluídos en el estudio fueron recogidos retrospectivamente, reflejando en la historia clínica electrónica su inclusión en el estudio.

Se realizó anonimización de las muestras mediante una doble disociación de datos. El conjunto de muestras y datos clínicos fue remitido a CNIO mediante una

referencia codificada creada al efecto. A su vez en el centro se creó una segunda referencia codificada para el procesamiento de las mismas, con el fin de que la identidad del paciente quede absolutamente resguardada. La tabla con los registros de los casos fue remitida a CNIO ocultando los datos de identidad de los pacientes, incluyendo únicamente el código del estudio asignado en el hospital.

Obtención de muestras de pacientes

Se obtuvieron muestras con material archivado (tejido parafinado) con el fin de aumentar el número de casos para el estudio. El inconveniente de trabajar con este tipo de material es que la peor calidad del DNA extraído puede llevar a una pérdida de hasta un 10% de las muestras incluidas, y en algunos casos, dificultad para la asignación de genotipo debido a alteraciones somáticas.

Con la colaboración del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Fundación Alcorcón se identificaron los bloques de parafina correspondientes al tumor primario de dichos pacientes, seleccionando un bloque representativo.

Las muestras fueron transportadas posteriormente a CNIO, identificadas con el código anonimizado del estudio, donde se realizaron los cortes con microtomo de las muestras obteniendo secciones de 30 micras.

Obtención de datos clínicos

A partir de la historia clínica del paciente se creó una base de datos en el que se recogieron las variables demográficas y los datos clínicos más relevantes: edad, sexo, peso, talla, localización tumoral, histología, fecha de diagnóstico, estadio, comorbilidad, esquema de quimioterapia administrado, fecha de inicio y fin del tratamiento con taxanos, tipo de tratamiento (adyuvante/paliativo), dosis total acumulada de quimioterapia (mg), respuesta obtenida a la línea con taxanos,

situación actual (vivo con/sin enfermedad, muerto con/sin enfermedad)(figura 13).

Entre las variables más importantes para este estudio destaca la recogida de la toxicidad hematológica, que se recogió mediante el grado de toxicidad de acuerdo con la versión 2 de la NCI Common Toxicity Criteria revisando los hemogramas correspondientes a las dosis de administración de quimioterapia con paclitaxel o docetaxel. Para la neutropenia se estableció una cifra de corte de 1500 neutrófilos/mm³ por ser el valor a partir del cual pueden indicarse retrasos en el tratamiento con taxanos, correspondiente a un grado 2 de toxicidad. En el caso de la anemia se estableció un valor de Hemoglobina de 10g/dl por ser el valor de corte en el que podría indicarse soporte hemoterápico con eritropoyetina o suplementos de hierro, correspondiendo a una toxicidad grado 2. Para la trombopenia la cifra fijada fue de 100.000 plaquetas/mm³ por ser a partir de este recuento cuando se indican retrasos de tratamiento con taxanos dada la ausencia de maniobras eficaces profilácticas y terapéuticas, relacionándose con un grado de toxicidad 1. Estas variables se recogieron en la misma hoja Excel (figura 14).

Para determinar este dato se recurrió a los análisis sanguíneos que se forma rutinaria se llevan a cabo a lo largo del tratamiento, facilitados por el Administrador de Datos de la aplicación asistencial GPC gracias a la colaboración del Dr. Fernando Cava. Otras variables relacionadas con la toxicidad hematológica que se recogieron fueron el soporte con factores estimulantes de colonias o las líneas previas de tratamiento. Además de recoger la existencia de toxicidad se determinó la relevancia de la toxicidad recogiendo las consecuencias terapéuticas (retrasos, disminuciones de dosis o suspensión del tratamiento) y las consecuencias clínicas (necesidad de administrar antibióticos o GCS-F en el caso de la neutropenia, requerimientos transfusionales, necesidad de suplementos de hierro o eritropoyetina, ingresos o fallecimientos secundarios).

Código de Paciente	Fecha Nacimiento	Fecha Última Revisión	Fecha Muerte	Peso (kg)	Talla (cm)	Localización Tumor	histología	Edad	Sexo	Situación actual	Estadio	Comorbilidad	Esquema de quimioterapia	Fecha de inicio quimioterapia	Fecha de fin quimioterapia	Tipo de Tratamiento	Dosis total	Respuesta obtenida a Qmt
hemtax-001	2-dic-27	17-feb-10		78	164	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	80	Hombre	Vivo con	REC	Si	Docetaxel 75.21 d	10-dic-07	16-jun-08	palatativa	1278	Respuesta Parcial
hemtax-002	27-abr-40	03-mar-10		108	163	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	68	Hombre	Vivo con	IV	si	Docetaxel 75.21 d	28-ene-08	24-ago-09	palatativa	1296	Enfermedad Estable
hemtax-003	4-abr-36	25-jul-07	1-sep-07	80	154	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	71	Hombre	Muerto con	REC	Si	Docetaxel 75.21 d	04-jul-07	25-jul-07	palatativa	270	Progresion
hemtax-005	9-feb-33	15-mar-10		116	174	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	76	Hombre	Vivo con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	25-may-09	21-dic-09	palatativa	1386	Progresion
hemtax-006	2-ago-33	26-ago-09	1-oct-09	58	156	ESTOMAGO	ADENOCARCINOMA	76	Hombre	Muerto con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	07-abr-09	07-jul-09	palatativa	572	Progresion
hemtax-007	28-ene-37	26-oct-07	5-dic-07	65	160	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	70	Hombre	Muerto con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	26-feb-07	16-abr-07	palatativa	384	Progresion
hemtax-008	14-sep-36	12-feb-07	20-abr-07	88	174	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	70	Hombre	Muerto con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	05-jun-06	18-sep-06	palatativa	834	Respuesta Parcial
hemtax-009	19-may-47	04-jun-08	4-jul-08	88	170	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	61	Hombre	Muerto con	IV	No	Docetaxel 75.21 d	13-may-08	04-jun-08	palatativa	303	Respuesta Parcial
hemtax-010	4-abr-35	30-mar-09		88	168	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	74	Hombre	Perdido	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	04-mar-09	30-mar-09	palatativa	302	Desconocido
hemtax-011	5-sep-40	23-mar-10		96	156	MAMMA	ADENOCARCINOMA	66	Mujer	Vivo con	REC	Si	Docetaxel 75.21 d	11-dic-06	26-ene-07	palatativa	456	Respuesta Parcial
hemtax-013	10-jun-31	05-abr-10	22-ago-10	62	152	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	78	Hombre	Muerto con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	29-oct-09	15-mar-10	palatativa	894	Respuesta Parcial
hemtax-016	7-jul-26	22-mar-10		85	167	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	83	Hombre	Vivo con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	27-ago-09	16-dic-09	palatativa	460	Progresion
hemtax-017	1-may-40	21-dic-09	8-ene-10	56	151	MAMMA	ADENOCARCINOMA	66	Mujer	Muerto con	REC	No	Docetaxel 75.21 d	10-nov-09	07-ene-10	palatativa	250	Progresion
hemtax-018	23-nov-51	07-dic-09		61	165	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	58	Hombre	Perdido	IV	No	Docetaxel 75.21 d	07-jul-08	18-dic-08	palatativa	796	Progresion
hemtax-019	5-dic-31	13-jul-09	1-sep-09	1	1	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	77	Hombre	Muerto con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	02-feb-09	09-jul-10	palatativa	1043	Progresion
hemtax-020	13-oct-44	22-mar-10		83	172	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	66	Hombre	Vivo con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	02-feb-09	31-ago-09	palatativa	1502	Enfermedad Estable
hemtax-022	17-jun-44	10-mar-10	2-ene-11	90	164	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	65	Hombre	Muerto con	REC	Si	Docetaxel 75.21 d	19-ene-06	15-may-06	palatativa	834	Enfermedad Estable
hemtax-023	17-oct-52	19-sep-07	18-oct-07	75	165	MAMMA	ADENOCARCINOMA	54	Mujer	Muerto con	REC	No	Docetaxel 75.21 d	02-feb-09	31-ago-09	palatativa	1502	Progresion
hemtax-024	15-nov-42	10-mar-10		113	181	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	66	Hombre	Vivo con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	26-may-08	01-dic-08	palatativa	1528	Respuesta Parcial
hemtax-025	3-jun-32	10-mar-10		73	165	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	76	Hombre	Vivo con	IV	Si	Docetaxel 75.21 d	22-oct-08	11-may-09	palatativa	1370	Progresion
hemtax-026	9-ago-34	20-abr-09	28-may-08	77	160	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	73	Hombre	Muerto con	REC	Si	Docetaxel 75.21 d	08-nov-07	31-mar-08	palatativa	973	Progresion
hemtax-027	2-ene-27	24-nov-08	16-dic-08	71	158	PROSTATA	ADENOCARCINOMA	80	Hombre	Muerto con	REC	Si	Docetaxel 75.21 d	15-jun-07	01-oct-07	palatativa	798	Progresion

Figura 13 Cuestionario clínico en el que se recogen las características de los pacientes clínicos (identificados por el código del estudio)

GRANULOCITOS									
Soporte filgrastim profiláctico	Toxicidad Granulocitos	Cifra neutrofilos basal	Fecha inicio Toxicidad Granulocitos	Toxicidad Granulocitos INICIA	Fecha cifra absoluta más baja	Cifra absoluta más baja	Consecuencias Terapéuticas	Consecuencias clínicas	Dosis acumulada en neutropenia más grave (n°)
No	No								
No	Si	1740	09-oct-06	920	09-oct-06	920	Retrasos	No actuaciones	238
No	No								
No	No								
No	No								
No	No								
No	No								
No	No								
No	Si	1950	03-feb-09	970	03-feb-09	970	Retrasos	No actuaciones	254
No	No								
No	No								
No	No								
No	No								
No	No								
No	No								
No	No								
No	Si	1650	26-ago-08	790	26-ago-08	790	Retrasos	No actuaciones	154
No	No								
No	No								
No	Si	1300	30-abr-02	830	30-abr-02	830	Retrasos	No actuaciones	128
No	No								

PLAQUETAS									
¿Toxicidad Plaquetas?	Cifra plaquetas basal	Fecha inicio Toxicidad Plaquetas	Toxicidad Plaquetas INICIA	Fecha Toxicidad Plaquetas Más Gr	Cifra absoluta Plaquetas más ba	Consecuencias Terapéuticas	Consecuencias clínicas	Dosis acumulada en trombopenia más grave (mg)	
No									
No									
No									
No									
No									
No									
Si		07-nov-08	76000,0	07-nov-08	76000,0	No cambios	No actuaciones	149	
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									
No									

Hemoglobina									N° Esquemas previos
¿Toxicidad Hb?	Hb Basal (gr/dl)	Fecha inicio Toxicidad Hb	Toxicidad Hb INICIA	Toxicidad Hb MÁS GRAVE	Cifra absoluta Hb más baja	Consecuencias Terapéuticas	Consecuencias clínicas	Dosis acumulada en Hb más grave (mg)	
No									1
Si	11,9	14-nov-06	9,5	14/11/2006	9,1	Reducción dosis	Epo + Hierro i.v.	714,0	1
No									
Si	11,3	06-sep-05	9,4	06/09/2005	9,4	No cambios	No actuaciones	264,0	1
No									
No									
No									
Si	11,0	07-nov-08	9,4	07/11/2008	9,4	No cambios	No actuaciones	149,0	1
Si	12,7	23-nov-05	9,7	23/11/2005	9,7	No cambios	No actuaciones	1044,0	1
Si	10,8	03-feb-09	9,4	03/02/2009	9,4	No cambios	No actuaciones	254,0	1
Si	10,0	25-jun-04	8,7	05/07/2004	7,4	No cambios	Transfusión Hemática	496,0	4
No									1
No									1
No									1
No									1
Si	9,4	18-may-04	8,3	28/06/2004	6,9	No cambios	Transfusión Hemática	930,0	
Si	10,6	05-feb-07	9,9	05/02/2007	9,9	No cambios	No actuaciones	363,0	4
No									1
Si	9,2	26-ago-08	8,7	22/09/2008	8,0	No cambios	Transfusión Hemática	523,0	2
No									2
Si	11,5	02-mar-06	9,8	09/03/2006	9,7	No cambios	Enteceptin-Hemostar	1057,0	1
No									1
Si	10,9	03-jun-02	9,5	10/06/2002	9,1	No cambios	No actuaciones	242,0	1

Figura 14. Detalle del cuestionario clínico en el que se recogieron las toxicidades hematológicas clasificadas en neutropenia, trombopenia y anemia.

4. 2 EXTRACCIÓN Y PROCESAMIENTO DE ADN

Extracción de ADN embebido en parafina con kit de Quiagen®

Los cortes de parafina de 20 micras fueron dispuestos en un tubo de 1.5 o 2ml. Trabajando en campana, se añadieron 600µl de xileno a cada tubo, como disolvente orgánico y se mezclaron en el vórtex, centrifugando posteriormente a una velocidad máxima durante 5 minutos a temperatura ambiente, hasta lograr 2 fases. El sobrenadante fue retirado cuidadosamente mediante pipeta sin arrastrar el pellet. El paso previo de lavado con xileno fue repetido en 2-3 ocasiones hasta asegurar un resultado adecuado.

Posteriormente se añadieron 1000µ de etanol absoluto al pellet para eliminar los residuos de xileno centrifugando la mezcla a velocidad máxima durante 5 minutos a temperatura ambiente, hasta lograr de nuevo 2 fases en cada muestra. A continuación se retiró el etanol manteniendo el pellet en el tubo, repitiendo el lavado con etanol en una segunda ocasión.

El pellet fue incubado manteniendo el tubo abierto a 37°C durante 10-15 minutos hasta lograr la evaporación de los restos de etanol y después se resuspendió el pellet en 400µl de Buffer ATL. Se añadieron 40µl de proteinasa k a cada muestra incubando a 55°C durante una noche con el fin de lograr la lisis completa del tejido.

El siguiente paso consistió en añadir a cada muestra Buffer AL e incubarlas a 70°C durante 10 minutos con el fin de asegurar la inactivación de la enzima. Se transfiere la mezcla a una columna con tubo de recolección añadiendo diferentes buffer y descartando el sobrenadante hasta eluir el ADN extraído.

Cuantificación del ADN genómico mediante PicoGreen®

La concentración de todos los ADNs incluidos en el estudio se cuantificó empleando el sistema Quant-iT PicoGreen dsDNA Reagent (Invitrogen, Eugene, OR, USA). Este reactivo es un agente intercalante, capaz de unirse al ADN y emitir fluorescencia de una forma directamente proporcional a la cantidad de ADN

presente en la reacción. El método se basa en la comparación del valor de fluorescencia de la muestra problema con los valores obtenidos por muestras de concentración creciente y conocida.

Brevemente, el protocolo consiste en la preparación de una recta patrón con diluciones seriadas de ADN genómico (Clontech, Mountain View, CA, USA), cubriendo un rango de concentraciones entre 0 y 160ng/mcl. Estos ADNs se dispensan en duplicado en una placa opaca de 96 pocillos (Falcon, BD Biosciences, San Jose, CA, USA), y junto a ellos, se pipetea 2µl de cada una de las muestras problema. El reactivo PicoGreen, convenientemente protegido de la luz, se prepara a una concentración de 1:400 en buffer TE 1X (10mM Tris, 1mM EDTA, pH 7.5), y se dispensan 195µl de esta dilución a cada pocillo. La placa se agita brevemente en un agitador de placas, se incuba en oscuridad durante cinco minutos y se centrifuga durante un minuto. A continuación, se mide la fluorescencia de cada muestra a una longitud de onda de 520nm tras excitación a 480nm, empleando el aparato DTX 800 Multimode Detector (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA). Con los datos de fluorescencia se construye una recta patrón, y tras comprobar que existe una buena correlación lineal de los datos ($r^2 \rightarrow 1$), se interpolan las muestras problema para calcular su concentración, como se muestra en la figura 14.

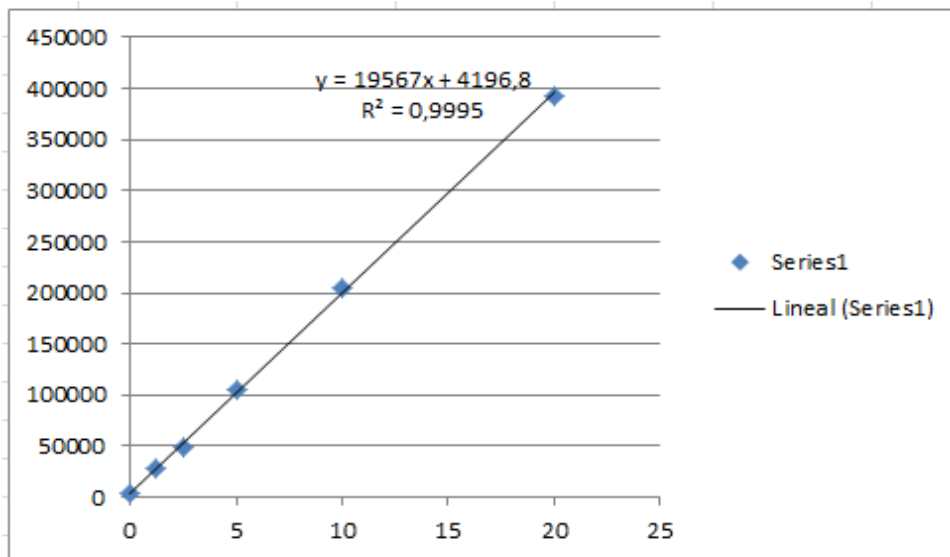


Figura 15. Cuantificación de ADN mediante método PicoGreen®. A partir de unas concentraciones de ADN conocidas se establece una recta y a partir de los datos de fluorescencia se extrapola la información de las nuevas muestras.

4. 3 PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Teniendo en cuenta que el ADN procedente de parafina se degrada con rapidez, las muestras fueron posteriormente almacenadas a 4°C.

Posteriormente, utilizamos un robot Beckman Coulter Biomek NX (Brea, CA, USA) para dispensar 15ng de ADN de cada muestra desde placas de 96 pocillos a placas de 384, donde se realizaron las reacciones de PCR y genotipado.

4. 4 AMPLIFICACIÓN MEDIANTE PCR (*POLIMERASE CHAIN REACTION*)

La PCR es una técnica biológica molecular desarrollada en 1986 por Kary Mullis, cuyo objetivo era obtener un gran número de copias de un fragmento de ADN particular, partiendo de un mínimo. Esta técnica se fundamenta en la propiedad natural de las ADN polimerasas para replicar hebras de ADN, y emplea ciclos de altas y bajas temperaturas alternadas para separar las hebras de ADN recién

formadas tras cada fase de replicación y, a continuación, dejar que vuelvan a unirse las polimerasas para que vuelvan a duplicarlas.

Actualmente el proceso de PCR está automatizado mediante un termociclador, que permite calentar y enfriar los tubos de reacción.

Mediante una pipeta automática se preparó sobre un volumen total de 4 μ l, el compuesto para llevar a cabo la reacción, el cual consta de:

- El ADN genómico problema. Utilizamos 15ng de ADN, dispensando 2 μ l de una dilución de 7.5g/ μ l.
- La solución KASPar reaction mix, que contiene la polimerasa modificada, su cofactor MgCl₂, el tampón de reacción y los cebadores universales marcados con fluorescencia.
- El reactivo específico de cada reacción, con los cebadores sentido y antisentido diseñados por *Kbiosciences* para amplificar la región de interés.
- En algunos casos, la reacción se suplementa con MgCl₂ adicional, hasta una concentración final de 2.2mM.

En nuestro experimento utilizamos una reacción de PCR convencional, de acuerdo con las condiciones indicadas por el proveedor de los cebadores con el fin de optimizar el posterior genotipado:

- Un paso inicial de desnaturalización a 94°C durante 15 min.
- Descenso de temperatura hasta los 61°C durante 60 segundos, tiempo durante el cual se logra la unión de las sondas a las secuencias buscadas. Este paso se repite durante 10 ciclos, disminuyendo en cada ciclo la temperatura hasta alcanzar los 55°C (“annealing”).
- A continuación se realizan 25 ciclos de desnaturalización/extensión: 94°C durante 10 s, seguidos de 1 minuto a 55°C. A la temperatura de 55°C la polimerasa actúa obteniendo la amplificación de las regiones buscadas seleccionadas mediante las sondas.

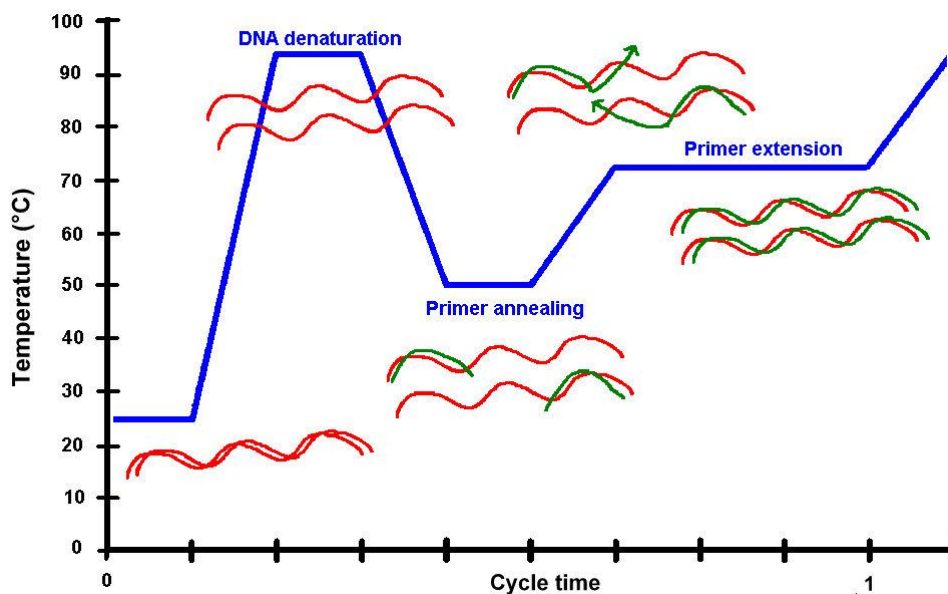


Figura 16. Esquema representativo de la reacción de PCR. En la primera fase (desnaturalización) se separan las hebras de ADN, en la segunda fase ("annealing") se consigue la fijación de las sondas a las secuencias buscadas y en la tercera fase se alternan de forma cíclica la temperatura de desnaturalización y la temperatura de anillamiento logrando la amplificación de las regiones deseadas (fase de extensión).

4. 5 GENOTIPADO MEDIANTE PLATAFORMA KASPAR®

El sistema de genotipado KASPar fue la plataforma elegida ya que permite el genotipado de un alto número de muestras a un coste menor.

Se realizó genotipo de los 4 polimorfismos seleccionados en un total de 197 muestras. Dado que las sondas habían sido empleadas con anterioridad en el laboratorio para estudios previos, su capacidad de discriminación ya había sido probada. No obstante, se utilizaron como controles casos con genotipo ya conocido.

Principios metodológicos

El genotipado de polimorfismos de un único nucleótido mediante la plataforma KASPar SNP Genotyping System® (Kbioscience, Herts, UK) se basa en la detección

directa de un producto de PCR como consecuencia de la liberación de un fluorocromo.

El sistema de genotipado KASPar es un método capaz de discriminar SNPs mediante una reacción de PCR competitiva alelo-específica, utilizando el principio de “transferencia de energía por resonancia de fluorescencia” (FRET), y aprovechando la actividad polimerasa para producir la emisión de fluorescencia. La enzima Taq polimerasa que se emplea se encuentra modificada, caracterizándose por carecer de actividad exonucleasa.

Los componentes que intervienen en el genotipado se muestran en la figura 17, y consisten en:

- Dos cebadores sentido sin marcar, que compiten por la unión al ADN molde. Cada uno de ellos tiene en 3' la base complementaria a cada uno de los alelos del SNP a genotipar, respectivamente, de forma que solo se unirán al ADN problema en presencia de la base correspondiente. Además, en 5' estos cebadores portan sendas colas de oligonucleótidos universales, con secuencia desconocida y propiedad de KASPar, que permiten la hibridación posterior con cebadores universales marcados.
- Un cebador antisentido común sin marcar, que confiere especificidad de locus, pero que se une en presencia de ambos alelos del SNP.
- Dos cebadores universales marcados (master mix), cada uno de ellos con una secuencia complementaria a las colas de los cebadores sentido. Estos cebadores tienen unidas dos moléculas: un fluorocromo (FAM o VIC) y un grupo receptor de fluorescencia o quencher. La estructura de horquilla de esta molécula hace que fluorocromo y quencher estén muy próximos, de forma que no hay emisión de fluorescencia detectable.

KASP Genotyping Chemistry

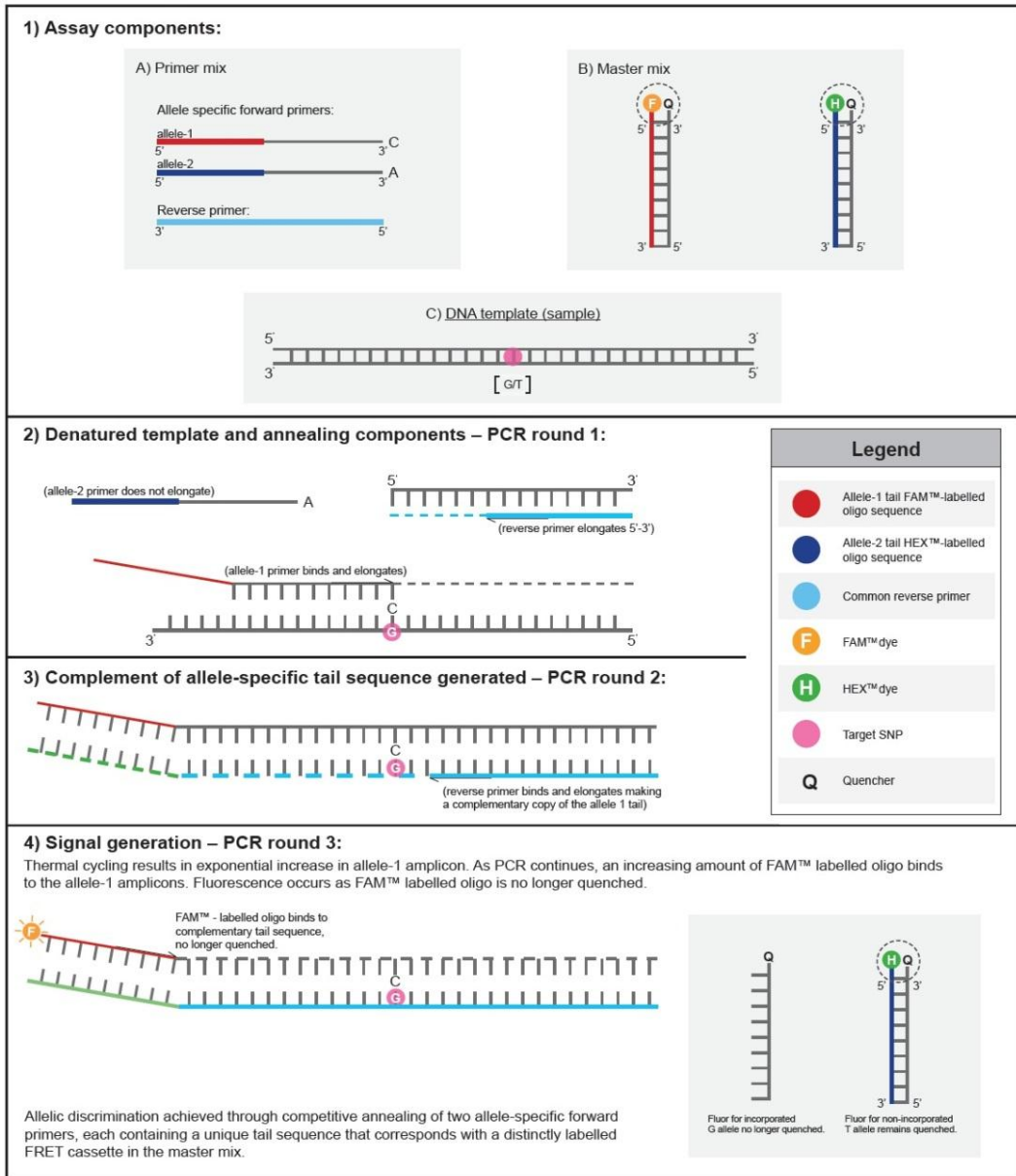


Figura 17. Representación esquemática del genotipado mediante el sistema Kaspar. Inicialmente las sondas compiten por la unión al ADN en función de la secuencia del SNP. Cuando se añaden las colas universales, son reconocidas por los cebadores marcados, cuyo alejamiento del quencher permite la emisión de fluorescencia. <http://www.lggenomics.com>

El proceso de genotipado comienza con la hibridación competitiva de los cebadores o sondas en función de la variante de interés. Durante la fase de extensión, se añaden las colas universales a los amplicones de la región del SNP. En los siguientes ciclos, los cebadores universales marcadores serán capaces de unirse a esas colas, sustituyendo a los cebadores iniciales. El alejamiento del fluorocromo del quencher (que actúa como neutralizante) produce emisión de fluorescencia detectable a la longitud de onda de FAM, VIC, o ambos, que indicará la presencia de un alelo, otro o los dos, respectivamente (figura 17).

Interpretación de resultados

El análisis del genotipado mediante KASPAR se realiza utilizando el mismo equipo. La fluorescencia a tiempo final, que es el resultado de la cantidad de ADN inicial, y sobre todo, de la presencia de un determinado alelo de la variante a estudiar, se detectó utilizando el equipo ABI PRISM® 7900 HT Sequence Detector (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Después, mediante el programa SDS, versión 2.2.2, suministrado por la misma casa comercial, se analizaron los distintos grupos para cada SNP (homocigotos para el alelo wildtype, heterocigotos y homocigotos del alelo polimórfico), siempre se tuvo en cuenta el patrón de fluorescencia (intensidad y capacidad de discriminación) obtenido en el grupo inicial de controles en el que se probó cada sonda, de forma que, aquellas muestras para las que el programa no asignó un genotipo automáticamente, se agruparon de forma manual si reunían las condiciones adecuadas (figura 18). Finalmente, los genotipos se exportaron, ya en formato de texto (“al1al1”, “al2al2”, “both”, “undetermined”), primero a un archivo de texto sin formato (*.txt) y luego a una tabla Excel, para su posterior conversión en los genotipos correspondientes y análisis estadístico.

Una vez confeccionada la tabla, se aplicó la Ley o Equilibrio de Hardy-Weinberg para comprobar si la frecuencia alélica era aceptable y se comparó además con la frecuencia alélica esperada mediante la base de datos *Ensemble Genome Browser* (www.ensembl.org) asegurando que los resultados obtenidos eran consistentes.

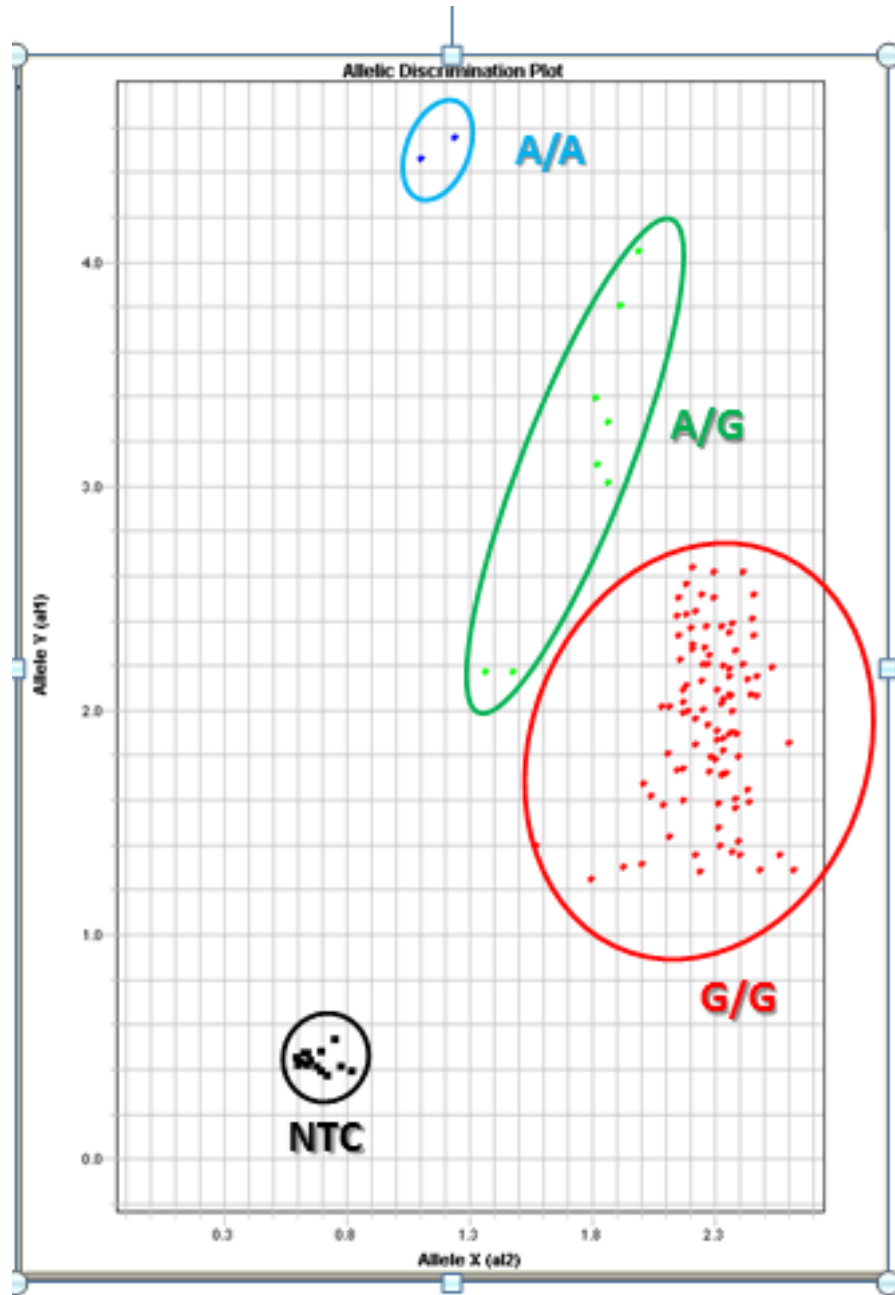


Figura 18. Análisis de los genotipos obtenidos con la plataforma KASPar. La imagen muestra la asignación automática de los genotipos que realiza el programa SDS 2.2.2, en función de los valores de fluorescencia obtenidos para cada muestra, representadas como puntos de colores en los ejes cartesianos.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó para llevar a cabo el análisis estadístico el programa SPSS v19. Los datos fueron extraídos de una tabla Excel en la que se recogió la información clínica de los pacientes y posteriormente se añadieron los resultados de la determinación de los 4 polimorfismos.

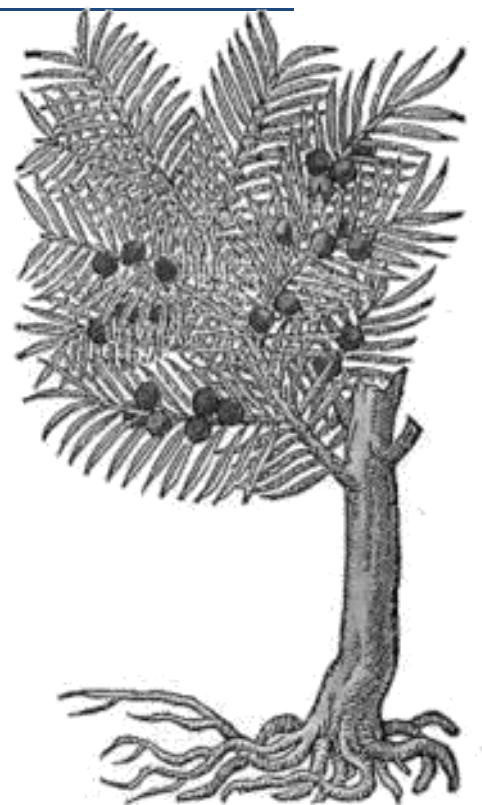
El análisis entre la toxicidad hematológica (neutropenia, trombopenia y anemia) y la presencia de polimorfismos para los 3 patrones de herencia se realizó mediante regresión logística binaria. Para encontrar la asociación entre el tiempo o la dosis acumulada de quimioterapia hasta la aparición de citopenias la regresión de COX fue el método escogido.

Se emplearon asimismo curvas de Kaplan-Meier para mostrar de una forma más descriptiva la distribución de la muestra y se analizó la asociación de las variables mediante test log-rank.

Se aplicó un análisis multivariable para corregir posibles sesgos o variables que pudieran afectar al resultado. Sin embargo, dado que este trabajo tiene un carácter exploratorio los valores de p no se ajustaron para comparaciones múltiples.

Para el análisis de la variable supervivencia global se utilizó el método Kaplan-Meier, tomando la fecha de diagnóstico del cáncer y la última revisión en consulta. En caso de existir evento, la fecha empleada fue la correspondiente al fallecimiento del paciente. Estos datos se obtuvieron a partir de la historia clínica electrónica de los individuos incluidos en el estudio.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS



A continuación se describen los resultados de la serie de 197 pacientes analizados, que habían recibido monoterapia con taxanos en el Hospital de Alcorcón, entre los años 2000-2009.

1. EVALUACIÓN DESCRIPTIVA

1.1 FACTORES DEMOGRÁFICOS

Sexo

De acuerdo a la distribución por sexos un 50.3% de la muestra fueron hombres (99/197), mientras un 49.7% fueron mujeres (98/197) (figura 19).

Edad

Teniendo en cuenta la edad al diagnóstico de cáncer, la edad media de la serie fue 62.18 (mediana 63.00, DT 11.62). La edad media en las mujeres de la serie fue 58.94 (mediana 59.50, DT 12.15) hombres de la serie fue de 65.38 (mediana 67, DT 10.15).

Índice de masa corporal

El índice de superficie corporal (IMC) medio de la serie fue de 26.26 (mediana 25.80, DT 4.80). En mujeres la media de IMC fue 25.96 (mediana 25.40, DT 4.48). En hombre la media de IMC fue 26.55 (mediana 26.8, DT 5.10)

Localización tumoral

Se incluyeron pacientes con cáncer de mama 37.1% (73/197), cáncer de pulmón 18.8% (37/197), cáncer de próstata 14.2% (28/197), tumores uroteliales 9.1% (18/197), tumores de cabeza y cuello 7.1% (14/197), tumores ginecológicos

(ovario y útero) 6.6% (13/197), tumores digestivos 5.6% (11/197), tumores de origen desconocido 1.5% (3/197) (figura 20).

Por sexos, el cáncer de mama fue el tumor mayoritario en mujeres (74.5%), seguido de los tumores ginecológicos (13.3%). El resto de los tumores se presentaron en las mujeres de la serie con una frecuencia inferior al 5%. Respecto a los hombres, el tumor mayoritario de la serie fue el cáncer de pulmón (34.3%), seguido de cáncer de próstata (28.3%), tumores uroteliales (15.2%), tumores de cabeza y cuello (13.1%) y tumores digestivos (7.1%).

Histología

La histología más frecuente fue adenocarcinoma 33.50% (66/197, entre ellos 1 adenocarcinoma de células en anillo de sello, 1 bronco-alveolar, 1 endometriode, 1 células claras y 1 seroso), seguida de carcinoma ductal infiltrante 32% (63/197). Otras histologías fueron 13.2% de carcinomas epidermoides (26/197), tumores de células transicionales 8.1% (16/197), carcinoma de células grandes 5.01% (10/197), carcinoma lobulillar infiltrante 2.54% (5/197), carcinoma microcítico 1.52% (3/197), otros 2.54% (5/197, 4 tumores de mama no CDI y 1 tumor epitelial indiferenciado).

Por sexos, y de acuerdo con la localización tumoral más frecuente en mujeres, el 64.3% de los tumores de las pacientes incluídas en la serie fueron carcinomas ductal infiltrante, seguido en 2º lugar de adenocarcinomas con una frecuencia del 64.3%. En el caso de los hombres recogidos en la serie, las histologías más frecuentes fueron adenocarcinoma (47.5%), carcinoma epidermoide (24.2%) y tumores de células transicionales (13.1%) (figura 21).

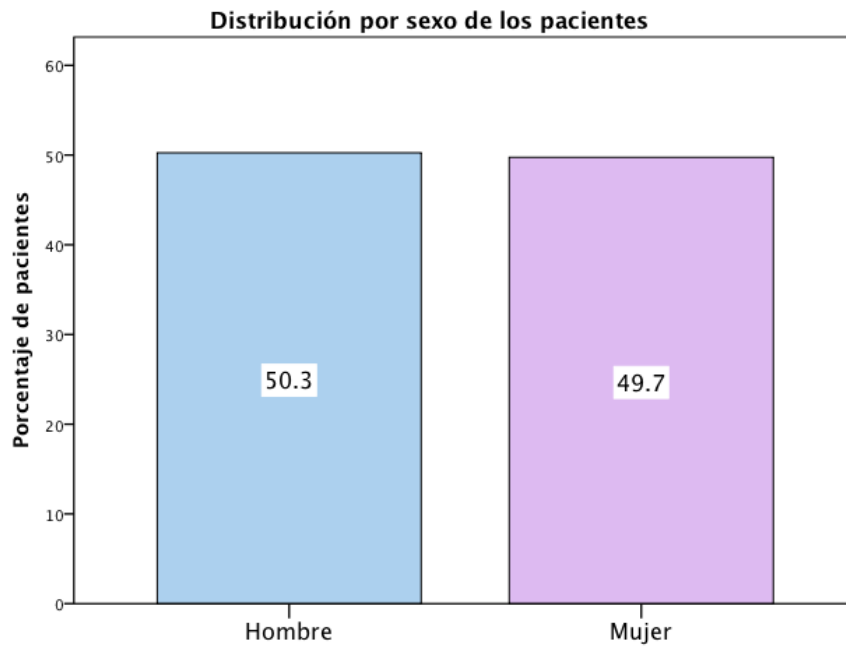


Figura 19. Distribución de la serie por sexo (n=197)

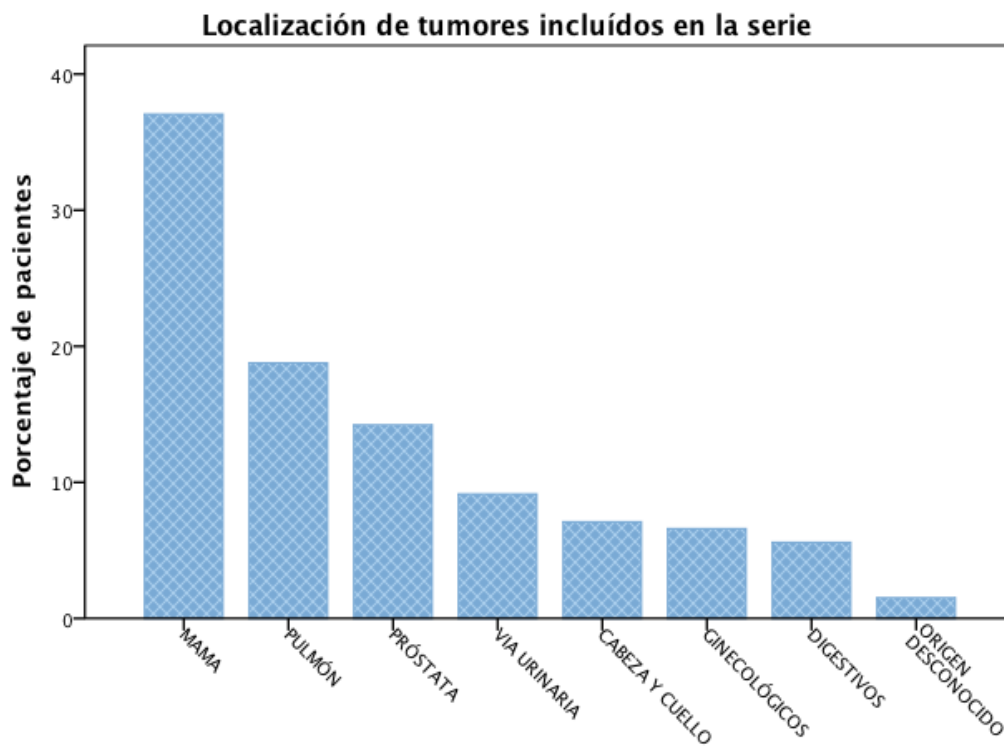


Figura 20. Distribución de la serie por localización tumoral (n=197)

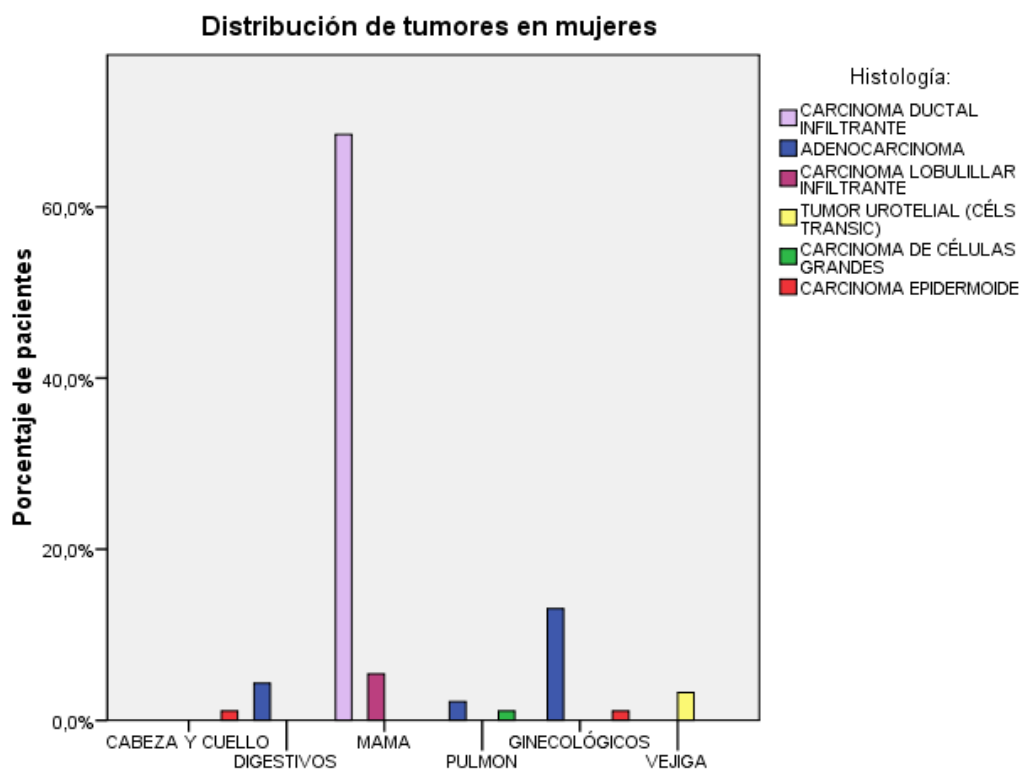
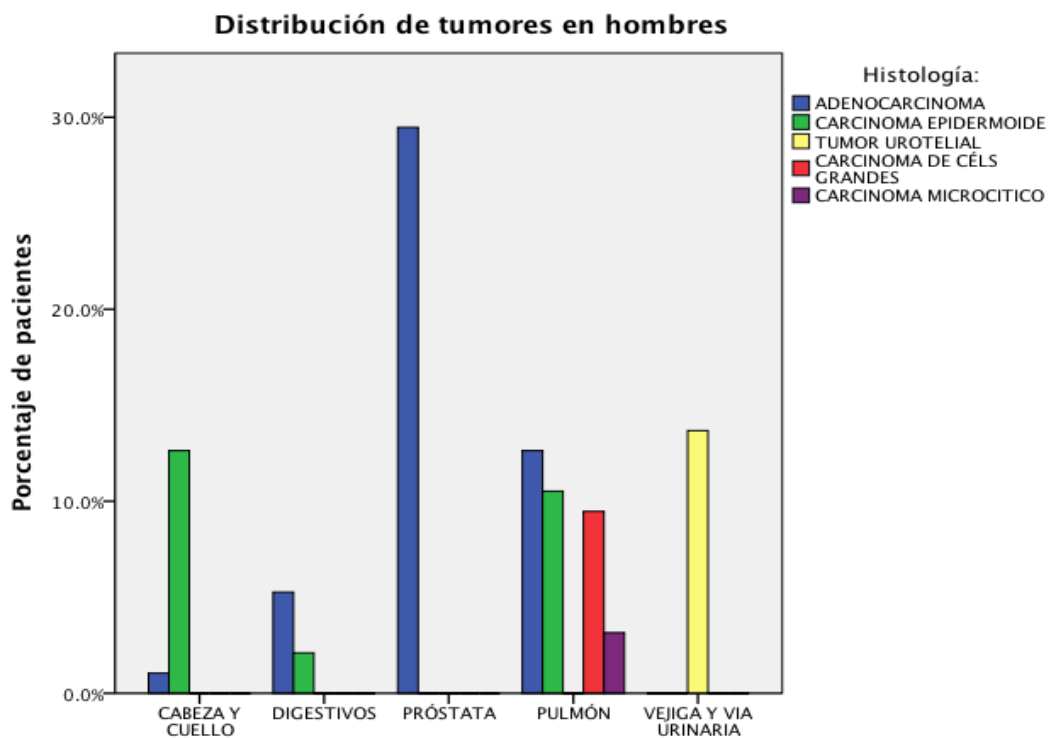


Figura 21. Distribución de la serie por localización tumoral e histología

1. 2 FACTORES RELACIONADOS CON EL TRATAMIENTO

Estadio tumoral

La mayoría de los pacientes incluidos en la serie recibieron quimioterapia en monoterapia con taxanos en estadio IV (40.6%) o bien tras recaída a distancia de una enfermedad localizada (34.5%). Entre los estadios localizados, lo más frecuente fue el estadio II (12.2%), seguido de estadio III (9.1%) y por ultimo estadio I (2.5%). Si tenemos en cuenta la localización tumoral, todos los pacientes que recibieron quimioterapia en un estadio inicial se encontraron en los pacientes con cáncer de mama (5/197 con estadio I, 24/197 con estadio II). Respecto a los tumores localmente avanzados, estadio III, se encontraron en pacientes con cáncer de mama (16/197), cáncer de pulmón (2/197) y tumores ginecológicos (2/197). Los pacientes con tumores de cabeza y cuello (ORL), tumores digestivos, cáncer de próstata y tumores uroteliales recibieron monoterapia con taxanos en estadio IV o tras recaída a distancia de una enfermedad localizada (figura 22).

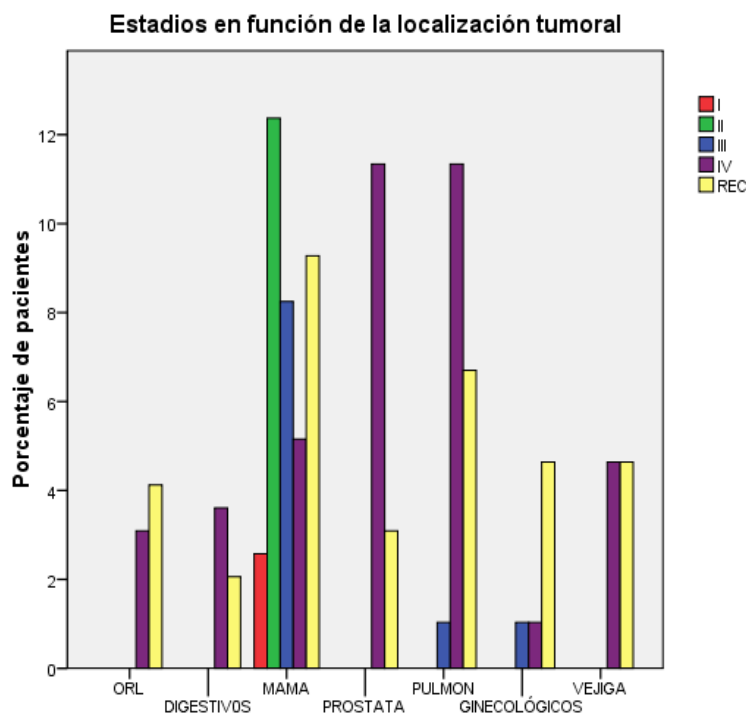


Figura 22. Distribución por localización tumoral y estadio

Indicación del tratamiento con quimioterapia

El 74.1% de los pacientes incluidos en la serie recibieron monoterapia con taxanos con finalidad paliativa (146/197), 22.3% lo recibieron tras una intervención quirúrgica, con finalidad adyuvante (44/197) y en 7 casos, 3.6% de la serie, el tratamiento citostático tuvo una indicación neoadyuvante (figura 23).

Si clasificamos la muestra en función de la localización tumoral, los pacientes con cáncer de mama y pulmón fueron los únicos en los que se registraron casos de quimioterapia neoadyuvante (6 y 1 caso respectivamente). Respecto a la quimioterapia adyuvante sólo se registró en pacientes con cáncer de mama, pulmón y tumores ginecológicos (42, 1, y 1 caso respectivamente) (figura 24).

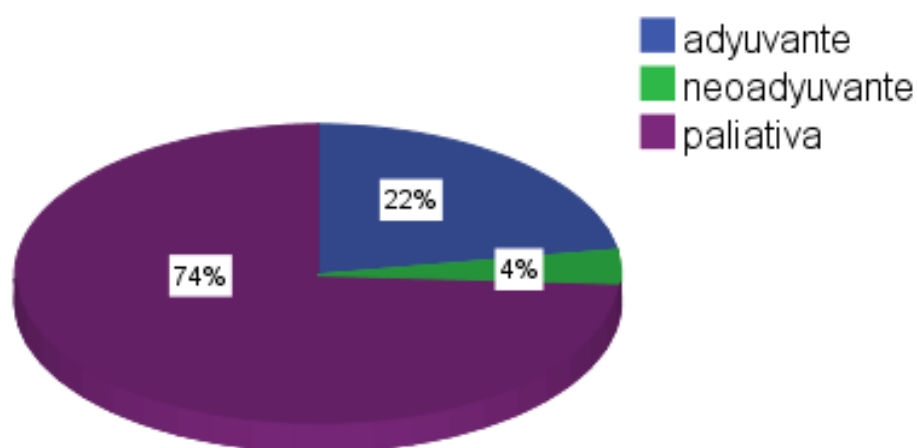


Figura 23. Distribución de la serie en función del tipo de tratamiento

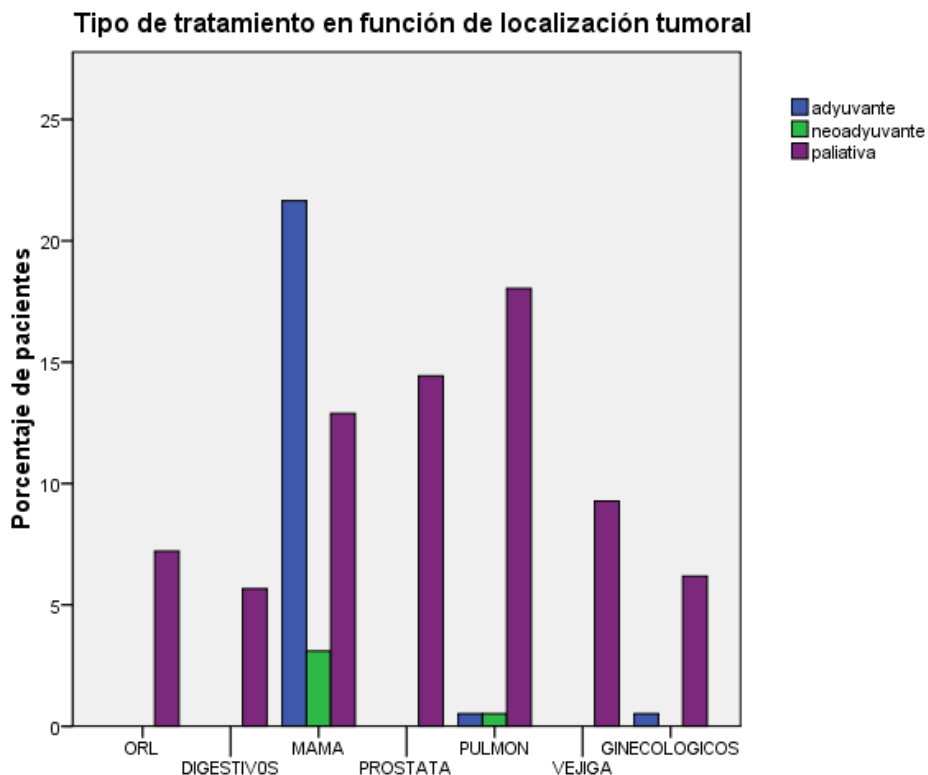


Figura 24. Distribución de la serie en función de la localización tumoral y el tipo de tratamiento

Esquemas de quimioterapia.

Los esquemas de quimioterapia más utilizados en esta serie fueron paclitaxel 80mg/m² administrado de forma semanal (70/197, 35.5%), docetaxel 75mg/m² administrado de forma trisemanal (58/197, 29.4%) y docetaxel 100mg/m² administrado cada 21 días (50/197, 25.4%). Otros esquemas empleados de forma minoritaria en los pacientes incluidos fueron paclitaxel semanal a dosis de 100mg/m² (4.1%) y 150mg/m² (1.5%) dentro de ensayo clínico, paclitaxel 175mg/m² trisemanal (2.7%), docetaxel semanal (1.5%) y un paciente recibió docetaxel 60mg/m² cada 21 días (figura 25).

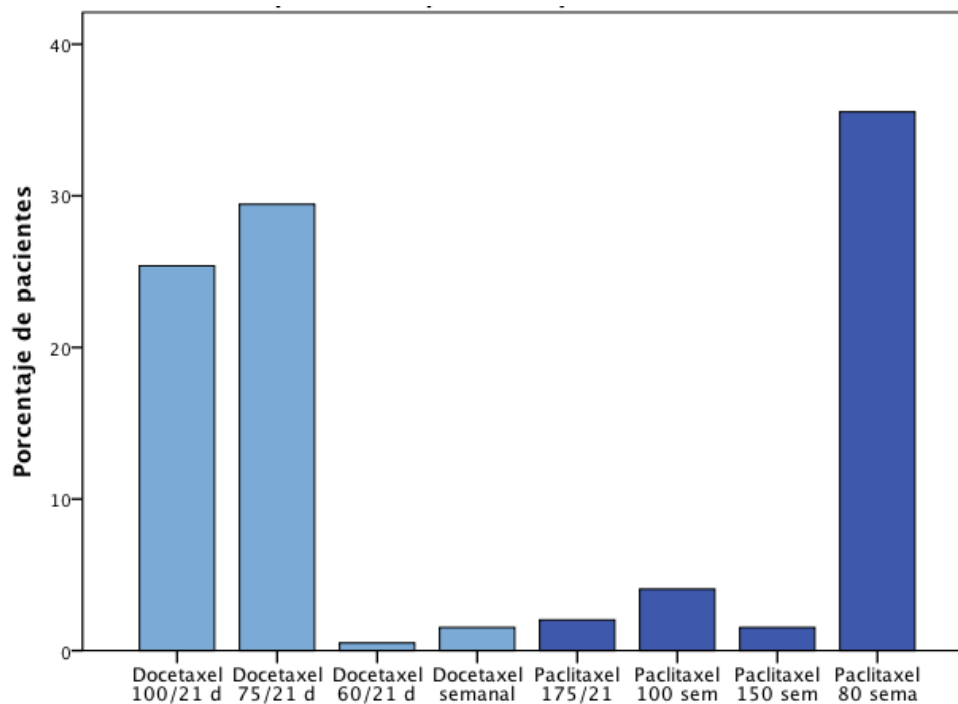


Figura 25. Distribución de la serie en función del esquema de quimioterapia

Si tenemos en cuenta la finalidad del tratamiento y de acuerdo con lo presentado previamente, la mayor parte de los casos en la muestra recibieron monoterapia en taxanos de forma paliativa, siendo paclitaxel 80mg/m² administrados de forma semanal el régimen más empleado (31.98%, 63/197 pacientes), seguido de docetaxel 75mg/m² trisemanal (26.40%, 52/197 pacientes), y por último docetaxel 100mg/m² administrado cada 21 días (11.68%, 23/197 pacientes).

Respecto a la quimioterapia adyuvante el esquema más empleado fue docetaxel 100mg/m² trisemanal (11.68%, 23/197 casos), seguido de paclitaxel 80mg/m² administrado de forma semanal (3.55%, 7/197 pacientes) y docetaxel 75mg/m² administrado cada 21 días (2.54%, 5/197 casos).

En cuanto a la quimioterapia neoadyuvante, el esquema más empleado fue docetaxel 100mg/m² cada 21 días (2.03%, 4/197 pacientes) (figura 26).

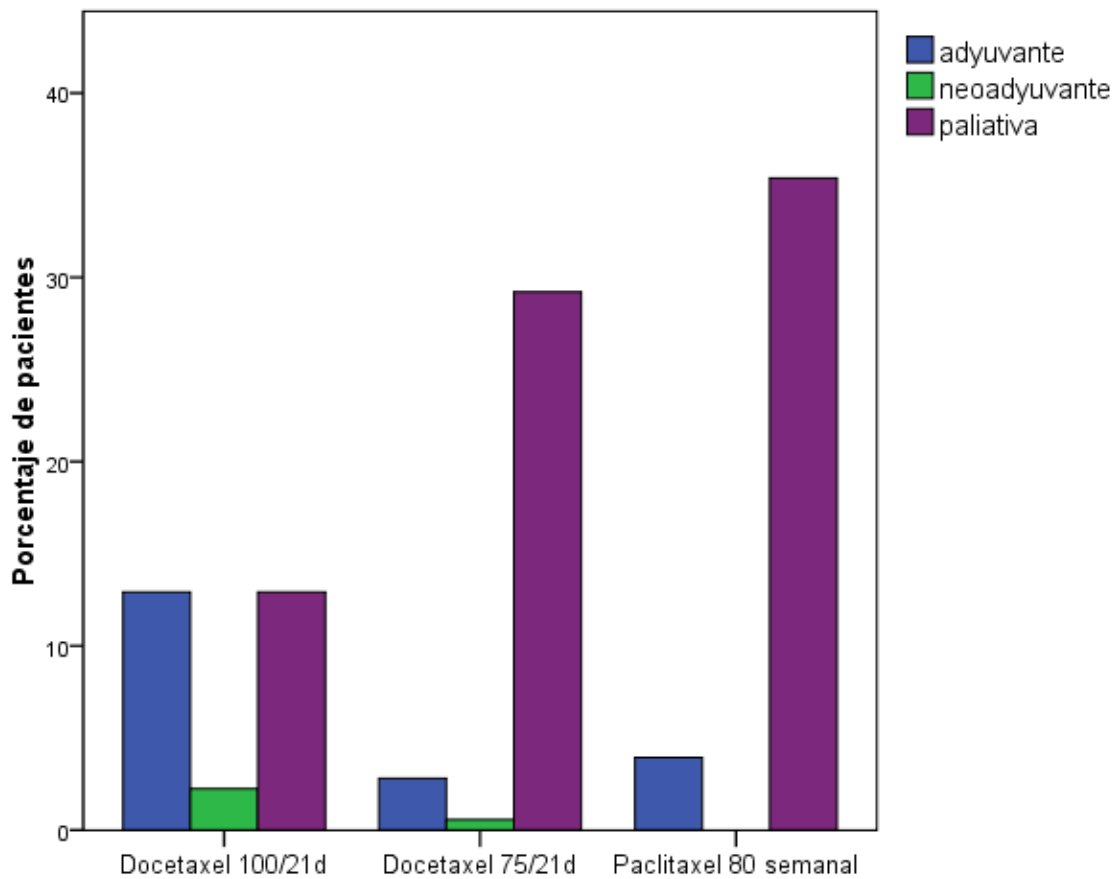


Figura 26. Esquemas de quimioterapia más empleados e indicación de los mismos (finalidad adyuvante, neoadyuvante o paliativa)

Líneas de quimioterapia previas. La mayor parte de los pacientes incluídos en la serie habían recibido al menos una línea de quimioterapia previa (151/197, 76.6%): 124 pacientes un esquema previo, 18 pacientes dos, 4 pacientes 3 líneas previas y 5 pacientes habían recibido 4 líneas de quimioterapia. Sólo 46 pacientes de nuestra muestra (23.35%) recibieron monoterapia con taxanos sin haber recibido quimioterapia previamente (figura 27).

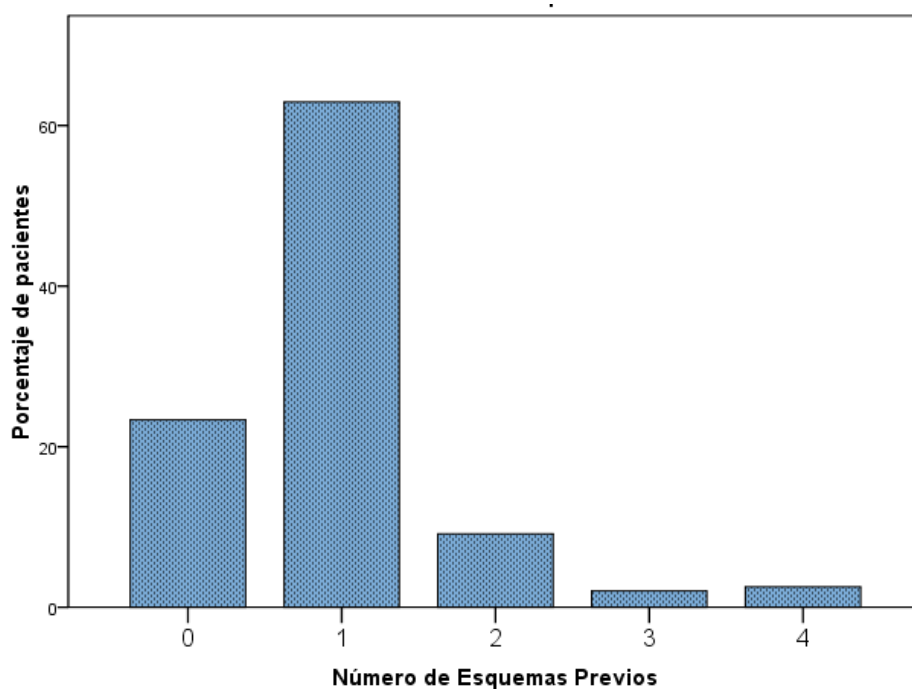


Figura 27. Número de esquemas previos que los pacientes habían recibido antes de iniciar quimioterapia con taxanos

Respuesta a la quimioterapia. La mayor parte de los pacientes incluidos en la serie no obtuvieron beneficio clínico tras la administración de quimioterapia paliativa. La respuesta mayoritaria tras recibir monoterapia con taxanos fue progresión (54.1%, 79/146), seguida de respuesta parcial (26. 7%, 39/147), enfermedad estable (13%, 19/147) y respuesta completa (4. 1%, 6/147). En 3 pacientes se desconoce la evaluación de respuesta. Se excluyeron del análisis aquellos pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante o neoadyuvante.

En la figura 28 pueden observarse las diferentes respuestas a la quimioterapia paliativa en función de los esquemas más empleados. En la figura 29 pueden observarse las diferentes respuestas a la quimioterapia paliativa en función de la localización tumoral.

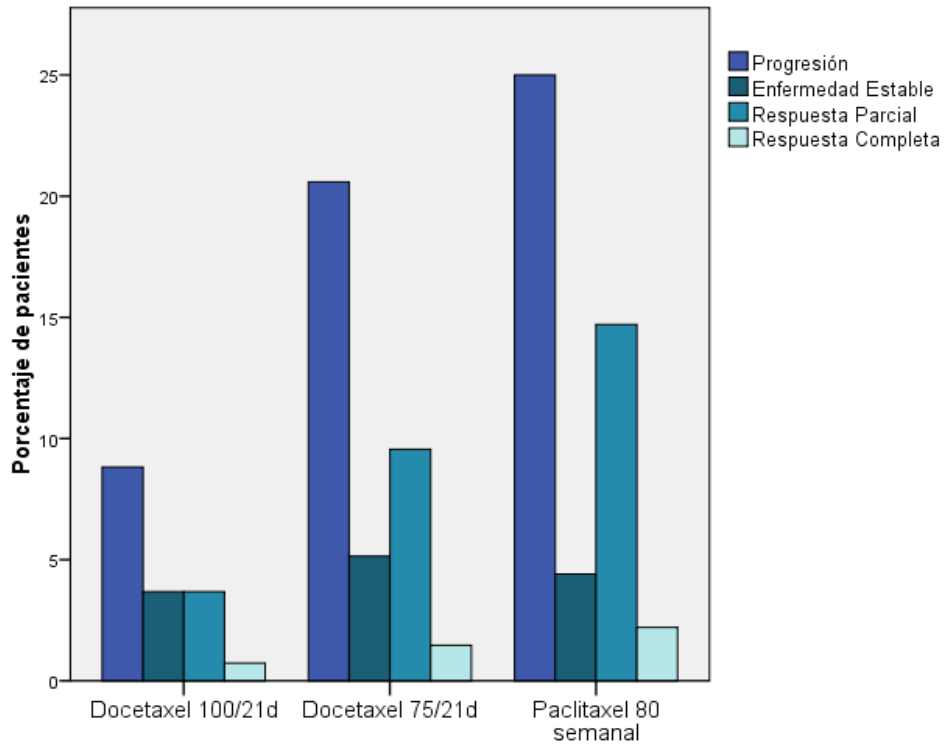


Figura 28. Respuesta tumoral en función del esquema de quimioterapia paliativa

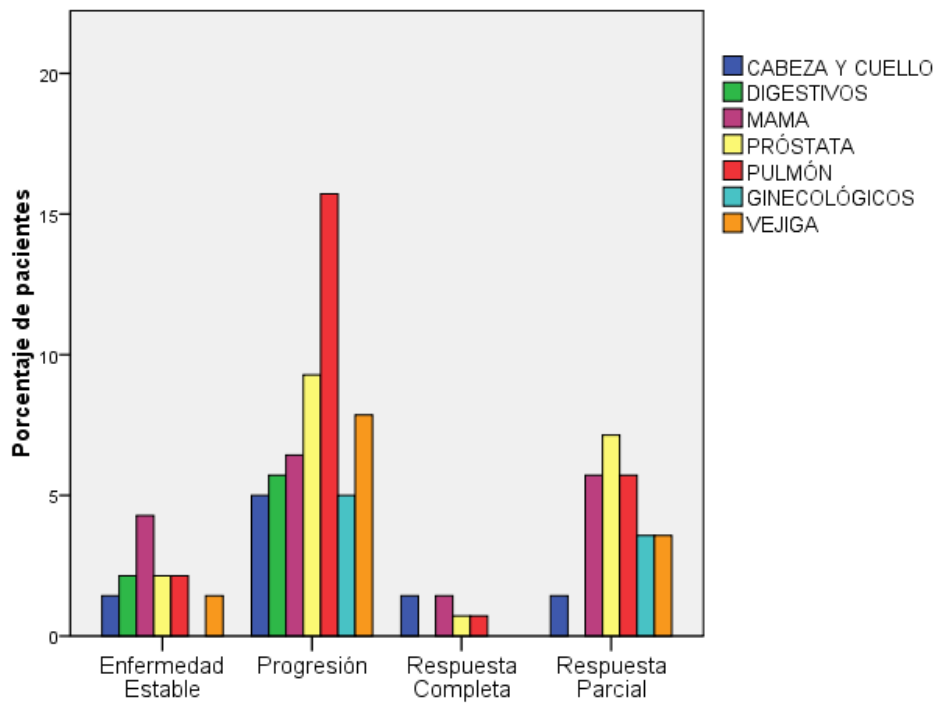


Figura 29. Respuesta tumoral en los distintos tipos de cáncer tratados con quimioterapia paliativa

1.3 FACTORES RELACIONADOS CON TOXICIDAD HEMATOLÓGICA POR TAXANOS

Frecuencia de toxicidad

Se encontró toxicidad hematológica significativa (neutropenia $<1000/\text{mm}^3$ y/o trombopenia $<100.000/\text{mm}^3$ y/o $\text{Hb}<10\text{g/dl}$) en 73 de los 197 pacientes incluidos (37.06%). De los cuales, un 14.7% tuvo neutropenia (29/197), un 5.1% tuvo trombopenia (10/197) y un 29.9% presentó anemia (59/197) (figura 30).

Según el sexo, 57.5% de los pacientes con toxicidad hematológica fueron hombres, frente a un 42.5% de mujeres de la muestra.

Según el tipo de tratamiento, el 87.7% de los pacientes que presentaron toxicidad recibieron monoterapia con taxanos con finalidad paliativa, seguido de un 12.3% de pacientes que recibieron quimioterapia con finalidad adyuvante. No se registraron casos de neutropenia, trombopenia o anemia en pacientes tratados con quimioterapia neoadyuvante.

Según el esquema de quimioterapia, el tratamiento con el que más mielosupresión se registró fue paclitaxel $80\text{mg}/\text{m}^2$ semanal (50.7%, 37/73) seguido de docetaxel $75\text{mg}/\text{m}^2$ administrado cada 21 días (23.3%, 17/73), y por último docetaxel $100\text{mg}/\text{m}^2$ trisemanal (17.8%, 13/73). El resto de los esquemas incluidos en la serie presentaron una toxicidad hematológica significativa por debajo del 5% (figura 31).

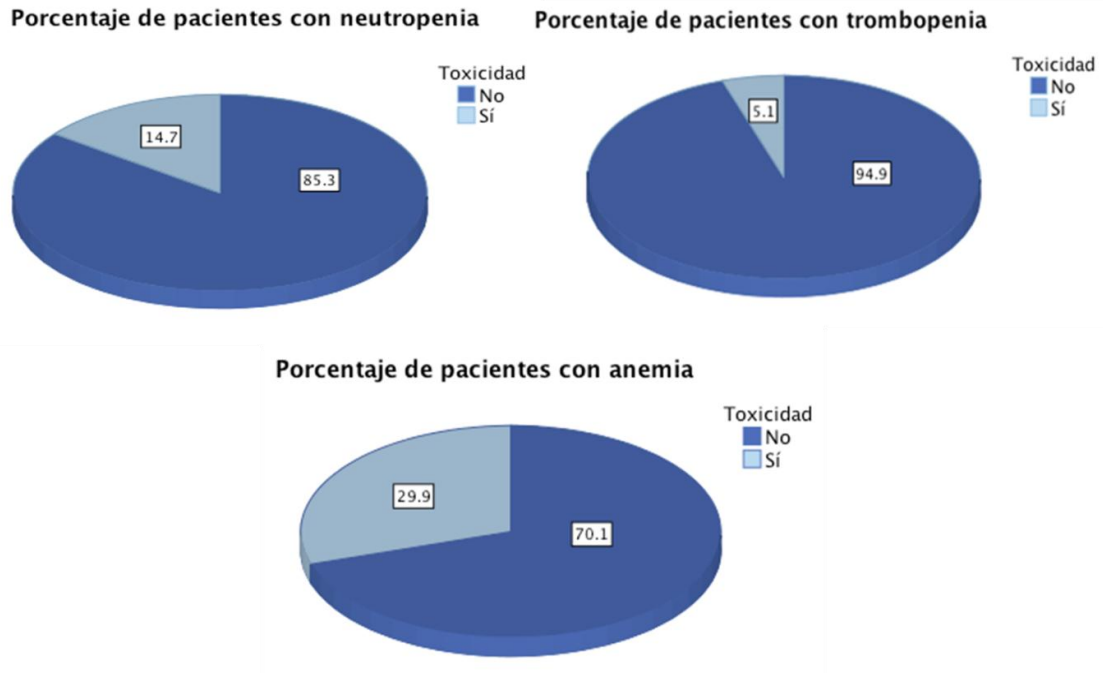


Figura 30. Distribución de toxicidad hematológica en la serie

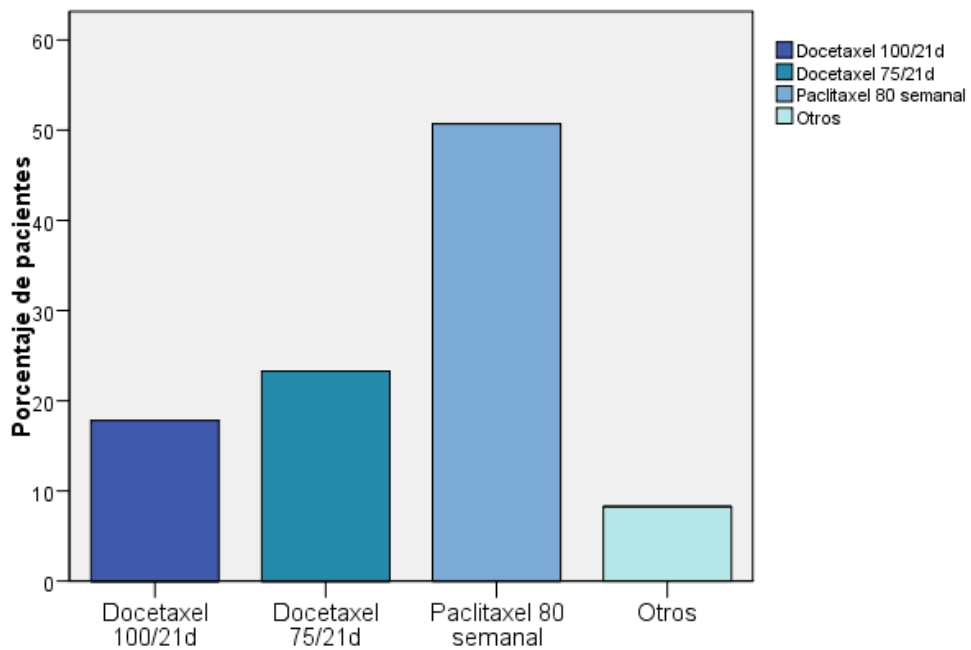


Figura 31. Toxicidad hematológica en función de los esquemas de quimioterapia

Soporte con factores estimulantes de colonias profiláctico

Un 37.1% (73/197) de los pacientes incluidos en nuestra serie recibieron soporte con filgrastim. De los 73 pacientes que recibieron soporte con factores estimulantes de colonias (G-CSF), 52 fueron mujeres (71.2%) y 21 fueron hombres (28.8%).

Según el tipo de tratamiento, un 57.5% fueron pacientes que recibieron quimioterapia paliativa con taxanos, un 35.6% fueron pacientes que recibieron quimioterapia adyuvante y un 6.8% fue prescrito en un tratamiento neoadyuvante.

Si tenemos en cuenta los esquemas de quimioterapia, docetaxel 100mg/m² fue el esquema en el que más pacientes recibieron soporte con G-CSF (64.4%, 47 de los 50 pacientes que recibieron este tratamiento), seguido de docetaxel 75mg/m² (31.5%, 23/73). En el resto de esquemas la utilización de filgrastim profiláctico fue inferior al 2%.

Consecuencias terapéuticas

Se evaluaron las consecuencias terapéuticas en los pacientes que presentaron toxicidad hematológica.

Neutropenia. Entre los 29 pacientes que presentaron neutropenia, en la mayoría (69.0%) se registraron consecuencias terapéuticas: 3 pacientes tuvieron que finalizar el tratamiento, 4 pacientes requirieron reducción de dosis, 7 pacientes requirieron retraso en la administración de quimioterapia y 6 pacientes requirieron tanto retraso en la administración de quimioterapia como reducción de dosis. En 9 de los 29 pacientes que presentaron neutropenia (31.0%) no se registraron cambios en la actitud terapéutica tras presentar el paciente un recuento de neutrófilos <1000/mm³.

Trombopenia. Entre los 10 pacientes que presentaron trombopenia sólo un paciente requirió retraso y reducción de dosis. Los 9 pacientes restantes no sufrieron cambios en la actitud terapéutica.

Anemia. Entre los 59 pacientes que presentaron anemia, en la mayoría (74.6%) no se detectaron consecuencias terapéuticas. En el resto (25.4%) se registraron los siguientes cambios: En 6 pacientes fue necesario suspender el tratamiento, en 5 pacientes fue necesaria una reducción de dosis, en 3 pacientes se retrasó la administración del taxano, y en un paciente se requirió tanto retrasar la administración como reducir la dosis

Consecuencias clínicas

Se evaluaron las consecuencias clínicas en los pacientes que presentaron toxicidad hematológica.

Neutropenia. Entre los 29 pacientes que presentaron neutropenia la mayoría (62.1%) presentaron consecuencias clínicas: 8 pacientes tuvieron que recibir soporte con filgrastim, 8 pacientes requirieron ingreso por presentar neutropenia febril, un paciente recibió antibioterapia oral profiláctica y un paciente presentó una infección severa.

Trombopenia. Entre los 10 pacientes que presentaron trombopenia sólo un paciente presentó hemorragia. En el resto la trombopenia fue asintomática.

Anemia. Entre los 59 pacientes que presentaron anemia, en la mayoría (59.3%) se detectaron consecuencias clínicas: en 25 pacientes fue necesaria la transfusión de concentrados de hematíes (en 2 de ellos además de administró hierro intravenoso y en 2 de ellos se inició tratamiento con eritropoyetina), 9 pacientes requirieron soporte con eritropoyetina (en 6 de ellos además se prescribieron suplementos de hierro) y un paciente recibió tratamiento con hierro intravenoso.

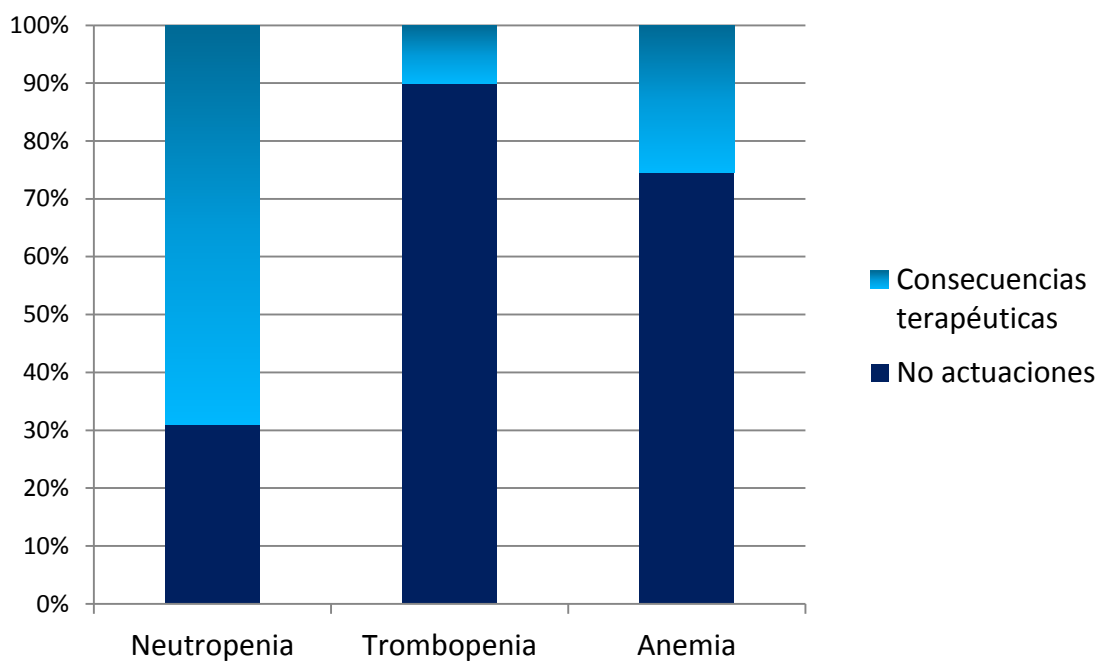
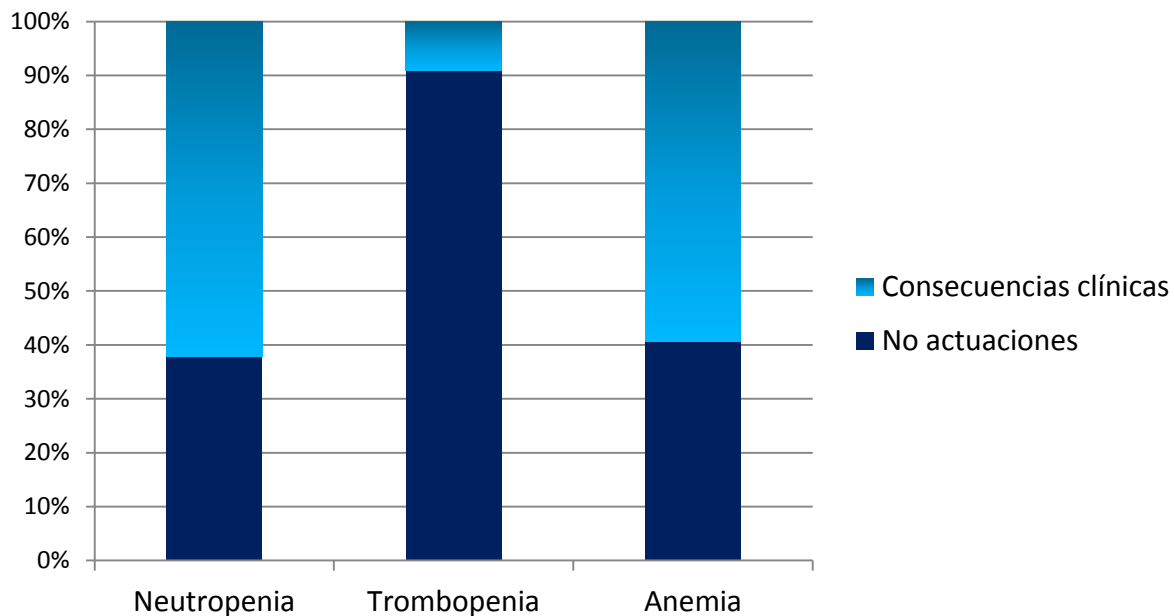


Figura 32. Consecuencia clínicas y terapéuticas de la toxicidad hematológica de los pacientes incluidos en la serie, tratados con monoterapia con taxanos.

1. 4 FRECUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS ESTUDIADOS EN LA SERIE

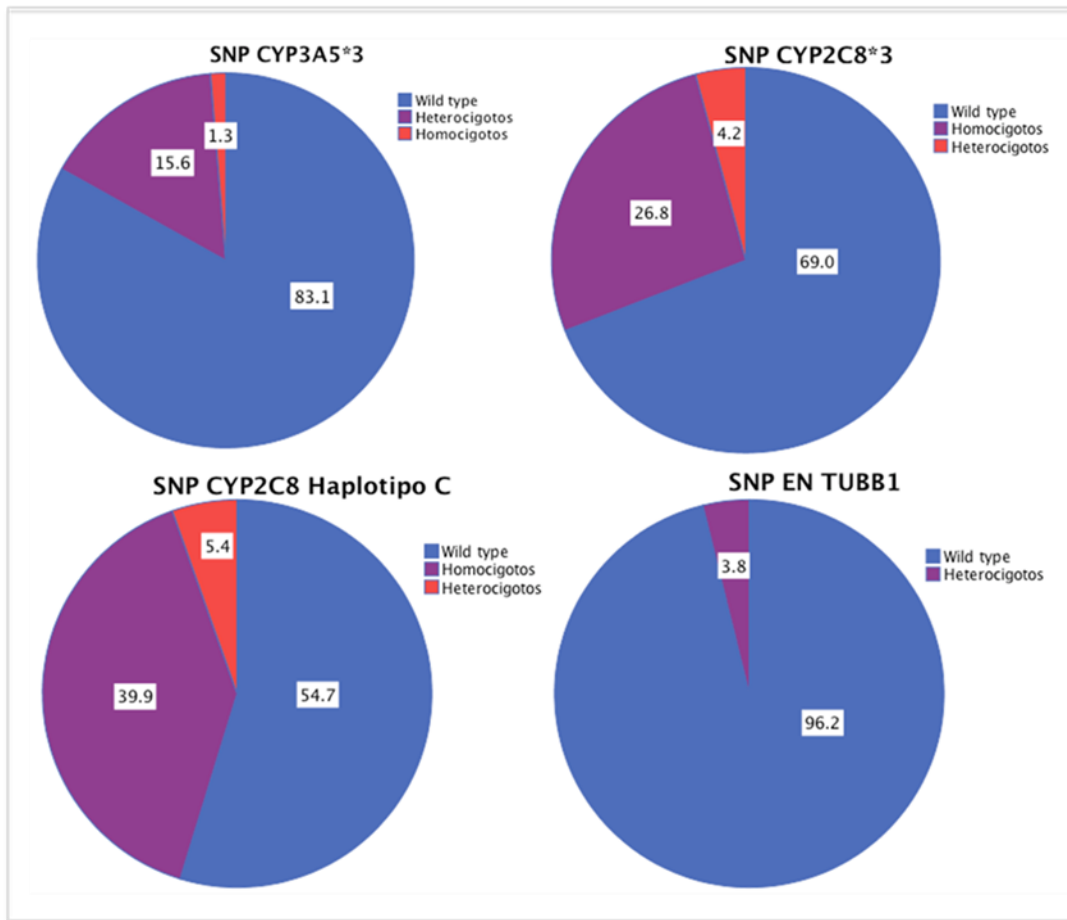


Figura 33. Frecuencia génica de los SNP analizados en la serie

La frecuencia génica de los SNP fue:

- CYP3A*3 (rs776746): 15.6% heterocigotos, 1.2% homocigotos.
- CYP2C8*3 (rs11572080): 26.8% heterocigotos, 4.2% homocigotos.
- CYP2C8 haplotipo C (rs1113129): 39.9% heterocigotos, 5.4% homocigotos.
- TUBB1 (rs35565630): 3.8% heterocigotos, no se encontraron homocigotos (figura 33).

El porcentaje de muestras indeterminadas, en relación con las limitaciones del análisis de ADN en parafina osciló entre el 7.6% y el 24.9% en función de los SNP estudiados.

Las frecuencia alélica de los SNP se calcularon con la siguiente fórmula $(P/P \times 2 + N/P)/(P/P + P/N + N/N) \times 2$ y este fue el resultado:

- CYP3A*3 (rs776746): 28/154= 0.182.
- CYP2C8*3 (rs11572080): 59/168= 0.351.
- CYP2C8 haplotipo C (rs1113129): 75/148= 0.507.
- TUBB1 (rs35565630): 7/182= 0.038.

CYP3A*3 (rs776746)

De los 26 pacientes portadores de este polimorfismo en homocigosis o heterocigosis, fueron más frecuentemente mujeres (57.7%) que hombres (42.3%).

La mayor parte de los pacientes portadores del SNP recibieron quimioterapia con finalidad paliativa (57.7%), seguido de un 34.6% de pacientes que recibieron tratamiento con taxanos de forma adyuvante y un 7.7% de casos que recibieron el tratamiento con finalidad neoadyuvante.

De acuerdo con el esquema de quimioterapia, este polimorfismo está presente en 8 pacientes tratados con docetaxel 75mg/m² trisemanal, en 8 pacientes tratados con paclitaxel 80mg/m² semanal, en 7 pacientes tratados con docetaxel 100mg/m² administrado cada 21 días, en 2 pacientes tratados con paclitaxel 100mg/m² semanal, y en un paciente tratado con paclitaxel 175mg/m² trisemanal.

Respecto a la presencia de toxicidad en los portadores de este SNP, 2 pacientes presentaron neutropenia, 2 pacientes presentaron trombopenia y 6 pacientes en nuestra serie tuvieron anemia.

SNP en TUBB1 (rs35565630)

Entre los 7 pacientes portadores de este polimorfismo, 4 fueron hombres y 3 fueron mujeres.

De acuerdo a la finalidad de la quimioterapia, 5 de ellos la recibieron de manera paliativa y 2 con intención adyuvante. El esquema más frecuente en este grupo fue docetaxel 100mg/m² trisemanal (57.1%) seguido de paclitaxel 80mg/m²

administrado de forma semanal (28.6%) y un paciente que recibió docetaxel 75mg/m² trisemanal.

Respecto a la toxicidad, sólo un paciente presentó neutropenia, ningún paciente portador presentó trombopenia, y en 2 pacientes se registró anemia significativa.

CYP2C8*3 (rs11572080)

Este polimorfismo se presentó en 52 pacientes, siendo la mayoría hombres (63.5%) frente a mujeres (36.5%).

La mayor parte de los pacientes portadores del SNP recibieron quimioterapia con finalidad paliativa (82.7%), seguido de adyuvante (15.4%) y tan sólo un paciente recibió quimioterapia neoadyuvante.

De acuerdo con el esquema de quimioterapia, la mayor parte de los casos portadores del SNP recibieron tratamiento con paclitaxel 80mg/m² de forma semanal (48.1%), seguido de docetaxel 75mg/m² trisemanal (25.0%) y docetaxel 100mg/m² cada 21 días (21.2%). El resto de esquemas se presentaron con una frecuencia menor al 2%.

Respecto a la presencia de toxicidad, 10 pacientes portadores del SNP presentaron neutropenia, 3 pacientes trombopenia y en 22 casos se registró anemia.

CYP2C8 haplotipo C (rs1113129)

De los 67 pacientes portadores de este polimorfismo, 40 fueron mujeres (59.7%) y 27 fueron hombres (40.3%).

La mayor parte de los pacientes portadores del SNP recibieron quimioterapia con finalidad paliativa (67.2%), seguido de adyuvante (26.9%) y 4 pacientes recibieron quimioterapia con intención neoadyuvante (6%).

De acuerdo con el quema de quimioterapia, la mayor parte de los casos portadores del SNP recibieron tratamiento con paclitaxel 80mg/m² de forma semanal (44.8%), seguido de docetaxel 100mg/m² trisemanal (28.4%) y docetaxel 75mg/m² cada 21 días (13.4%). El resto de esquemas se presentaron con una frecuencia menor al 5%.

Respecto a la presencia de toxicidad en los portadores del polimorfismo, 10 pacientes presentaron neutropenia significativa en nuestra serie, 4 pacientes trombopenia y 24 pacientes tuvieron anemia.

2. ANÁLISIS DE TOXICIDAD HEMATOLÓGICA Y SU ASOCIACIÓN CON VARIABLES CLÍNICAS.

2.1. PACLITAXEL

Neutropenia. Se realizó un análisis univariable mediante regresión logística binaria, ponderando filgrastim y corrigiendo por diferentes variables que podrían estar relacionadas con neutropenia: edad, sexo, índice de masa corporal, (IMC) esquema de quimioterapia, administración semanal vs trisemanal, dosis total acumulada del fármaco (mg), tipo de tratamiento (paliativo/adyuvante) y haber recibido líneas previas.

La única variable que resultó asociada significativamente a neutropenia fue la edad, con un valor de $p=0.004$, y por tanto se debería incluir en el análisis multivariable (tabla 4).

Presencia de neutropenia y variables clínicas (RLB)				
I.C. 95%	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	0,004	1,117	1,036	1,204
Sexo	0,845	1,135	0,318	4,057
IMC	0,823	1,1	0,476	2,545
Esquema de quimioterapia	0,999	8,08E+08	0	.
Pac80sem vs Pac175trisem	0,999	0	0	.
Dosis total acumulada	0,379	1	0,999	1,001
Tipo de tratamiento	0,419	0,414	0,049	3,51
Nº esquemas_previos	0,647	1,164	0,608	2,232

Tabla 4. Presencia de neutropenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.

Cuando realizamos el análisis de los factores clínicos con las variables “días hasta la aparición de neutropenia” y “dosis hasta la aparición de neutropenia”, de nuevo encontramos asociación estadísticamente significativa con la edad, congruentemente con los resultados previos (tabla 5).

Días hasta neutropenia y variables clínicas (COX)					Dosis hasta neutropenia y variables clínicas (COX)				
	P	HR	I.C. 95%			P	HR	I.C. 95%	
			Inf	Sup				Inf	Sup
Edad	,005	1,089	1,027	1,156	Edad	,002	1,099	1,035	1,168
Sexo	,851	,892	,272	2,928	Sexo	,856	,896	,273	2,937
IMC	,756	1,132	,518	2,473	IMC	,847	1,078	,502	2,316
Esquema QT	,959	25730,5	,000	3,437E	Esquema QT	,966	90811,	,000	1,424E
Pac80sem vs Pac175trisem	,728	,048	,000	1313453,862	Pac80sem vs Pac175trisem	,662	,047	,000	44252,819
Tipo de tto	,450	,452	,057	3,556	Tipo de tto	,373	,393	,050	3,072
Dosis total	,169	,999	,998	1,000	Dosis total	,247	,999	,998	1,000
Nº esquemas	,563	1,186	,664	2,119	Nº esquemas	,641	1,150	,640	2,065

Tabla 5. Relación entre días y dosis hasta la aparición de neutropenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.

Trombopenia. Se realizó un análisis univariable mediante regresión logística binaria, corrigiendo por diferentes variables que podrían estar relacionadas con trombopenia: edad, sexo, índice de masa corporal, (IMC) esquema de quimioterapia, administración semanal vs trisemanal, dosis total acumulada del fármaco (mg), tipo de tratamiento (paliativo/adyuvante) y haber recibido líneas previas.

No se obtuvo significación estadística para ninguna de las variables (tabla 6).

Presencia de trombopenia y variables clínicas (RLB)				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	0,567	1,024	0,945	1,11
Sexo	0,666	1,5	0,238	9,465
IMC	0,640	0,737	0,205	2,648
Esquema de quimioterapia	0,999	2,31E+08	0	.
Pac80sem vs Pac175trisem	0,999	0	0	.
Dosis total acumulada	0,872	1	0,999	1,001
Tipo de tratamiento	0,887	1,179	0,122	11,361
Nº esquemas previos	0,952	1,031	0,384	2,767

Tabla 6. Presencia de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.

En el análisis de asociación entre los factores clínicos con las variables “días hasta la aparición de trombopenia” y “dosis hasta la aparición de trombopenia”, tampoco se encontró significación estadística (tabla 7).

Días hasta trombopenia y variables clínicas (COX)					Dosis hasta trombopenia y variables clínicas (COX)				
	P	HR	I.C. 95%			P	HR	I.C. 95%	
			Inf	Sup				Inf	Sup
Edad	,728	1,015	,933	1,104	Edad	,737	1,015	,932	1,105
Sexo	,369	,354	,037	3,405	Sexo	,383	,365	,038	3,508
IMC	,983	,986	,268	3,626	IMC	,942	,953	,259	3,507
Esquema QT	,976	23171,3	,000	1,922E	Esquema QT	,971	23709,5	,000	7,258E
Pac80sem vs Pac175trise m	,841	,048	,000	4,324E	Pac80sem vs Pac175trise m	,807	,047	,000	-
Dosis total	,766	1,000	,998	1,001	Dosis total	,808	1,000	,998	1,001
Tipo de tto	,804	,751	,078	7,229	Tipo de tto	,800	1,341	,139	12,934
Nº esquemas	,733	,795	,213	2,972	Nº esquemas	,755	,814	,223	2,966

Tabla 7. Relación entre días y dosis hasta la aparición de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.

Anemia. Se realizó un análisis univariable mediante regresión logística binaria, corrigiendo por diferentes variables que podrían estar relacionadas con la anemia: edad, sexo, índice de masa corporal, (IMC) esquema de quimioterapia, administración semanal vs trisemanal, dosis total acumulada del fármaco (mg), tipo de tratamiento (paliativo/adyuvante) y haber recibido líneas previas.

Presencia de anemia y variables clínicas (RLB)				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	0,443	1,015	0,978	1,053
Sexo	0,222	1,718	0,72	4,099
IMC	0,538	0,834	0,467	1,487
Esquema de QT	0,661	0,5	0,023	11,088
Pac80sem versus trisem	0,911	1,121	0,149	8,413
Dosis total acumulada	0,346	1	1	1
Tipo de tratamiento	0,023	1,163	0,034	0,776
Nº esquemas previos	0,046	1,733	1,009	2,979

Tabla 8. Presencia de anemia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.

Se encontró asociación estadística para el tipo de tratamiento y el número de esquemas previos (tabla 8).

En cuanto al análisis realizado para las variables “días hasta la aparición de anemia” y “dosis de paclitaxel acumulada hasta la aparición de anemia”, se encontró de nuevo significación estadística para la dosis total de fármaco y para el número de esquemas que los pacientes habían recibido con anterioridad. Asimismo, en el caso de la variable “dosis de paclitaxel acumulada hasta la aparición de anemia” se encontró también significación estadística para la dosis total acumulada del fármaco (tabla 9).

Días hasta anemia y variables clínicas (COX)					Dosis hasta anemia y variables clínicas (COX)				
	P	OR	I.C. 95%			P	HR	I.C. 95%	
			Inf	Sup				Inf	Sup
Edad	0,452	1,01	0,983	1,038	Edad	0,195	1,019	0,99	1,049
Sexo	0,222	1,23	0,883	1,713	Sexo	0,561	1,108	0,784	1,565
IMC	0,713	0,92	0,591	1,434	IMC	0,64	0,898	0,573	1,408
Esquema QT	0,733	7,80E	0,187	3,259	Esquema QT	0,222	4,04E	0,094	1,73
Pac80sem vs Pac175trise m	0,73	1,287	0,308	5,377	Pac80sem vs Pac175trise m	0,235	2,412	0,564	10,319
Tipo tto	0,061	3,936	0,94	16,481	Tipo tto	0,041	0,224	0,053	0,943
Dosis total	0,372	1	0,999	1	Dosis total	0,012	0,999	0,998	1
Nº esquemas	0,053	1,34	0,996	1,803	Nº esquemas	0,041	1,358	1,012	1,822

Tabla 9. Relación entre días y dosis hasta la aparición de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con paclitaxel.

2.2 DOCETAXEL

Neutropenia. Se realizó un análisis univariable mediante regresión logística binaria, con el fin de encontrar la asociación entre la presencia de neutropenia y las diferentes variables que podrían estar relacionadas con dicha toxicidad: edad, sexo, índice de masa corporal, (IMC) esquema de quimioterapia, dosis total acumulada del fármaco (mg), tipo de tratamiento (paliativo, adyuvante o neoadyuvante) y haber recibido líneas previas.

La única variable que resultó asociada significativamente a neutropenia fue el número de esquemas previos, con un valor de $p=0.010$, y por tanto se incluyó en el análisis multivariable posterior (tabla 10).

Presencia de neutropenia y variables clínicas (RLB)				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	,369	1,021	,975	1,069
Sexo	,307	,584	,209	1,638
Esquema de quimioterapia	,385	,326	,026	4,087
Tipo de tratamiento	,054	,243	,058	1,025
Dosis total acumulada	,989	1,000	,998	1,002
N ^a esquemas previos	,010	,283	,109	,736

Tabla 10. Presencia de neutropenia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.

Cuando realizamos el análisis de los factores clínicos con las variables “días hasta la aparición de neutropenia” y “dosis hasta la aparición de neutropenia”, de nuevo encontramos asociación estadísticamente significativa con el número de esquemas previos (tabla 11).

Días hasta neutropenia y variables clínicas (COX)					Dosis hasta neutropenia y variables clínicas (COX)				
	P	HR	I.C. 95%			P	HR	I.C. 95%	
			Inf	Sup				Inf	Sup
Edad	,455	1,016	,975	1,058	Edad	,362	1,019	,978	1,062
Sexo	,423	,676	,260	1,760	Sexo	,337	,627	,242	1,624
IMC	,650	,876	,495	1,551	IMC	,621	,866	,488	1,534
Esquema QT	,590	1,266	,538	2,979	Esquema QT	,403	1,425	,621	3,270
Tipo de tto	,079	,288	,072	1,158	Tipo de tto	,053	,252	,062	1,018
Dosis total	,302	,999	,998	1,001	Dosis total	,251	,999	,997	1,001
N ^a esquemas	,016	,351	,149	,826	N ^a esquemas	,012	,332	,141	,781

Tabla 11. Relación entre días y dosis hasta la aparición de neutropenia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.

El tratamiento profiláctico con factores estimulantes de colonias es uno de los factores más importantes asociados a la existencia de neutropenia ($p=0.006$), por

lo que a la hora de realizar el análisis de toxicidad se ponderó a los individuos en función de la terapia previa con o sin filgrastim.

Trombopenia. Se realizó un análisis univariable mediante regresión logística binaria, corrigiendo por diferentes variables que podrían estar relacionadas con trombopenia: edad, sexo, índice de masa corporal, (IMC) esquema de quimioterapia, administración semanal vs trisemanal, dosis total acumulada del fármaco (mg), tipo de tratamiento (paliativo, adyuvante o neoadyuvante) y haber recibido líneas previas. De nuevo la única variable que resultó asociada significativamente a toxicidad fue el número de esquemas previos, con un valor de $p=0.010$, y por tanto se incluyó en el análisis multivariable posterior (tabla 12).

Presencia de trombopenia y variables clínicas (RLB)				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	,825	1,009	,932	1,093
Sexo	,649	1,528	,245	9,517
IMC	,218	,416	,103	1,680
Esquema de quimioterapia	,061	,070	,004	1,136
Tipo de tratamiento	,495	,500	,068	3,661
Dosis total acumulada	,437	,999	,995	1,002
Nº esquemas previos	,048	,110	,012	,985

Tabla 12. Presencia de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.

A continuación realizamos el análisis de los factores clínicos con las variables “días hasta la aparición de trombopenia” y “dosis hasta la aparición de trombopenia”, encontrando de forma congruente con lo anterior asociación estadísticamente significativa con el número de esquemas previos (tabla 13).

Días hasta trombopenia y variables clínicas (COX)					Dosis hasta trombopenia y variables clínicas (COX)				
	P	HR	I.C. 95%			P	HR	I.C. 95%	
			Inf	Sup				Inf	Sup
Edad	,787	1,011	,935	1,092	Edad	,800	1,010	,934	1,092
Sexo	,681	1,455	,243	8,716	Sexo	,696	1,428	,238	8,557
IMC	,227	,432	,110	1,688	IMC	,216	,421	,107	1,658
Esquema QT	,356	2,139	,426	10,737	Esquema QT	,311	2,310	,456	11,694
Tipo de tto	,513	,517	,071	3,743	Tipo de tto	,484	,490	,067	3,606
Dosis total	,345	,998	,995	1,002	Dosis total	,309	,998	,995	1,002
Nº esquemas	,050	,116	,014	,999	Nº esquemas	,050	,116	,013	,995

Tabla 13. Relación entre días y dosis hasta la aparición de trombopenia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.

Anemia. Se realizó un análisis univariable mediante regresión logística binaria, corrigiendo por diferentes variables que podrían estar relacionadas con la anemia: edad, sexo, índice de masa corporal, (IMC) esquema de quimioterapia, dosis total acumulada del fármaco (mg), tipo de tratamiento (paliativo, adyuvante o neoadyuvante) y haber recibido líneas previas.

No se encontró asociación estadística para ninguna de las variables (tabla 14).

Presencia de anemia y variables clínicas (RLB)				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	,764	1,006	,966	1,048
Sexo	,484	,719	,286	1,810
IMC	,166	,656	,361	1,191
Esquema de quimioterapia	,999	4,039E+08	,000	.
Tipo de tratamiento	,072	,381	,134	1,089
Dosis total acumulada	,692	1,000	,998	1,001
Nº Esquemas previos	,178	,595	,280	1,265

Tabla 14. Presencia de anemia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.

A continuación realizamos el análisis de los factores clínicos con las variables “días hasta la aparición de anemia” y “dosis hasta la aparición de anemia”, encontrando asociación estadísticamente significativa con la dosis total acumulada de docetaxel,

que fue incluida en los análisis multivariados realizados posteriormente (tabla 15).

Días hasta anemia y variables clínicas (COX)					Dosis hasta anemia y variables clínicas (COX)				
	P	HR	I.C 95%			P	HR	I.C 95%	
			Inf	Sup				Inf	Sup
Edad	,870	1,003	,967	1,041	Edad	,808	1,004	,969	1,041
Sexo	,713	,851	,361	2,009	Sexo	,624	,810	,349	1,881
IMC	,083	,602	,339	1,068	IMC	,080	,610	,351	1,060
Esquema QT	,848	,928	,431	1,998	Esquema QT	,832	,923	,439	1,939
Tipo de tto	,108	,440	,162	1,197	Tipo de tto	,102	,435	,160	1,180
Dosis total	,021	,998	,996	1,000	Dosis total	,005	,997	,995	,999
Nº Esquemas	,496	,785	,391	1,577	Nº Esquemas	,324	,714	,366	1,394

Tabla 15. Relación entre días y dosis hasta la aparición de anemia y variables clínicas en pacientes tratados con docetaxel.

3. EVALUACIÓN DE TOXICIDAD HEMATOLÓGICA Y SU ASOCIACIÓN CON POLIMORFISMOS ASOCIADOS A LA FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DE LOS TAXANOS.

Para el análisis de los SNP se dividió la muestra en dos grupos en función del fármaco empleado (paclitaxel o docetaxel) de acuerdo con la diferente relación de los mismos con los polimorfismos a estudio. En el caso de docetaxel, no se realizó análisis de los SNP CYP2C8*3 y CYP2C8 haplotipo C, al no estar relacionados con el metabolismo del fármaco, siguiendo nuestra estrategia de genes candidatos.

Se crearon nuevas variables clasificando a los pacientes de la serie en 3 grupos de acuerdo con los diferentes patrones de herencia posibles de los 4 polimorfismos:

- Modelo aditivo: N/N=0, N/P=1, P/P=2
- Modelo dominante: N/N=0, N/P=1, P/P=1
- Modelo recesivo: N/N=0, N/P=0, P/P=1

(N) Alelo normal, (P) Alelo con polimorfismo

3.1 PACLITAXEL

El número de pacientes con disponibilidad de material anatomopatológico que habían recibido tratamiento con paclitaxel en monoterapia en nuestra muestras ascendía a 85 casos. Entre ellos, 50.6% fueron hombres y 49.4% mujeres.

Este grupo incluye a 22 pacientes con cáncer de mama, 18 pacientes con tumores uroteliales, 15 pacientes con cáncer de pulmón, 13 pacientes con tumores ginecológicos, 12 pacientes con tumores de cabeza y cuello y 2 pacientes con tumores digestivos.

La mayor parte de los pacientes portadores de polimorfismos se trataron con el esquema paclitaxel 80mg/m² semanal (82.4%), seguido de paclitaxel 100mg/m² semanal (9.4%), paclitaxel 175mg/m² administrado cada 21 días (4.7%) y

paclitaxel 150mg/m² semanal (3.5%). El 82.4% de estos tratamientos tuvieron finalidad paliativa, exceptuando 15 pacientes (17.6% de la muestra), que recibieron monoterapia con taxanos con finalidad adyuvante.

En este subgrupo sólo 2 pacientes (2.4%) recibieron soporte con filgrastim profiláctico. Respecto a la toxicidad, presentaron neutropenia significativa 11 pacientes (12.9%), se detectó trombopenia en 5 pacientes (5.9%) y anemia en 36 pacientes (42.4%) (figura 34).

Respecto al número de líneas previas, la mayor parte de pacientes que recibieron paclitaxel en monoterapia habían recibido previamente otro esquema de quimioterapia: 67.1% una línea anterior, 11.8% 2 líneas, 51.2% 3 líneas y 5.9% 4 líneas.

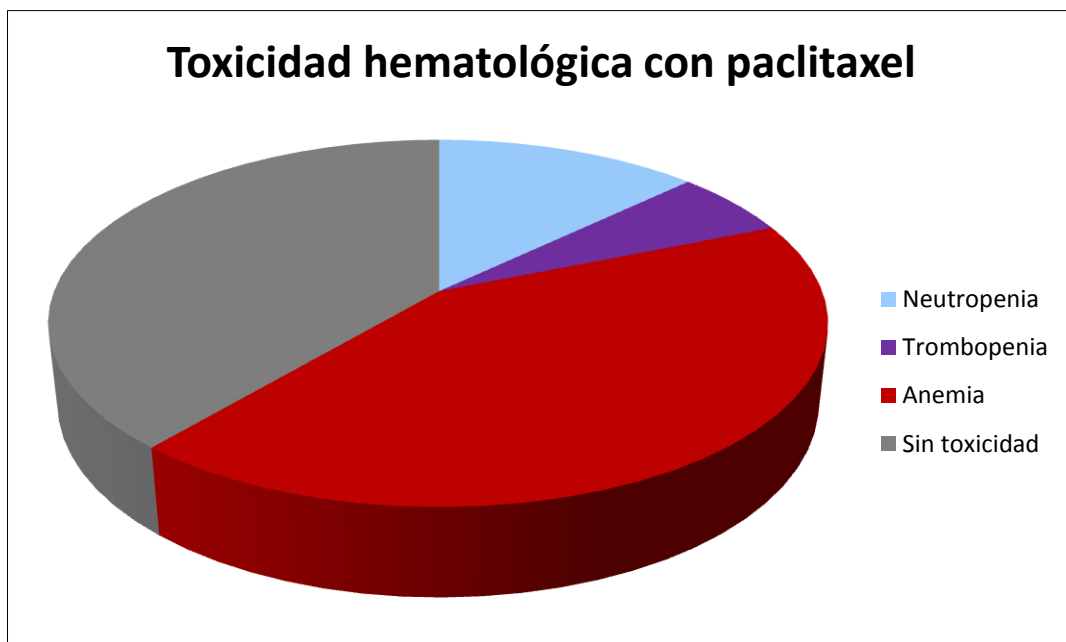


Figura 34. Distribución de la toxicidad hematológica en pacientes tratados con paclitaxel

3.1.1 Frecuencia de polimorfismos

a) CYP3A5*3 (rs776746).

Se encontraron 10 pacientes heterocigotos para el polimorfismo y un paciente homocigoto en la muestra. La frecuencia génica de este SNP fue de 14.86% (11/74) y la frecuencia alélica de 0.08.

b) SNP en TUBB1 (rs35565630)

Se encontraron 2 pacientes heterocigotos para el polimorfismo y ningún paciente homocigoto en la muestra. La frecuencia génica de este SNP fue de 2.4% (2/82) y la frecuencia alélica de 0.012.

c) CYP2C8*3 (rs11572080)

Se encontraron 24 pacientes heterocigotos para el polimorfismo y 3 pacientes homocigotos en la muestra. La frecuencia génica de este SNP fue de 35.06% (27/77) y la frecuencia alélica de 0.19.

d) CYP2C8 haplotipo C (rs1113129)

Se encontraron 29 pacientes heterocigotos para el polimorfismo y 7 pacientes homocigotos en la muestra. La frecuencia génica de este SNP fue de 53.73% (36/67) y la frecuencia alélica de 0.32 (figura 35).

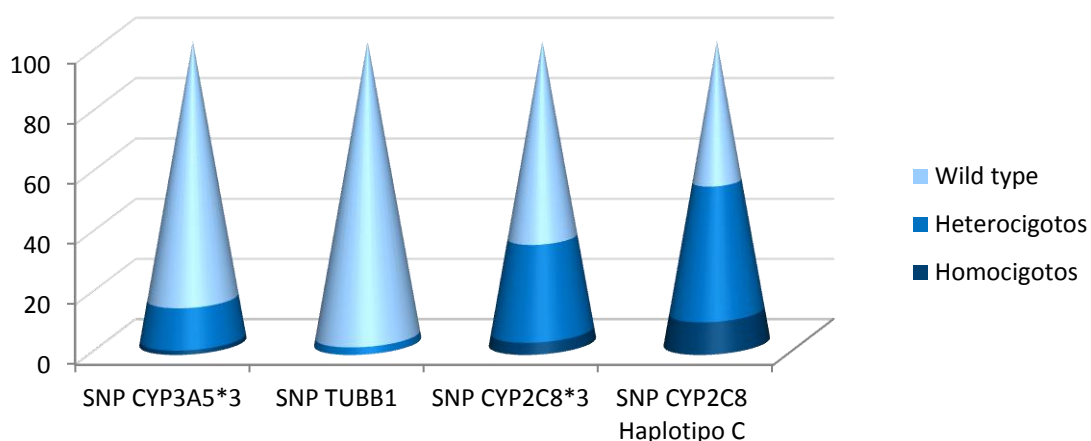


Figura 35. Frecuencia de los SNP estudiados en los pacientes tratados con paclitaxel.

3.1.2 Neutropenia y asociación con portadores de polimorfismos

Dado que el soporte con factores estimulantes de colonias es un factor de confusión se censuran del análisis los casos que reciben factores estimulantes de colonias, ya que sólo 2 pacientes en tratamiento con paclitaxel recibieron filgrastim.

a) Presencia de neutropenia.

Se analiza mediante regresión logística binaria la asociación de neutropenia y el hecho de ser portador de SNP por medio de los 3 modelos de herencia previamente descritos (aditivo, dominante y recesivo), mediante un análisis univariable y posteriormente se realiza un análisis multivariable, ajustado por la edad, ya que fue el único factor clínico que se asoció de una forma significativa al descenso en la cifra de neutrófilos.

No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de neutropenia y ser portador de los polimorfismos genéticos estudiados (tabla 16).

MODELO ADITIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I.C. 95%		P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (A)	.999	.000	.000	.	.999	.000	.000	.
rs35565630 (A)	.187	6.800	.393	117.579	.348	4.035	.220	74.175
rs11572080 (A)	.704	1.235	.416	3.665	.948	.961	.291	3.169
rs1113129 (A)	.868	.908	.293	2.815	.948	.961	.291	3.169

MODELO DOMINANTE								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I.C. 95%		P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (D)	.999	.000	.000	.	.999	.000	.000	.
rs35565630 (D)	.187	6.800	.393	117.579	.348	4.035	.220	74.175
rs11572080 (D)	.478	1.594	.439	5.789	.348	4.035	.220	74.175
rs1113129 (D)	.667	1.398	.305	6.412	.836	1.158	.289	4.636

MODELO RECESIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I.C. 95%		P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (R)	1.000	.000	.000	.	1.000	.000	.000	.
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1							
rs11572080 (R)	.999	.000	.000	.	.999	.000	.000	.
rs1113129 (R)	.999	.000	.000	.	.999	.000	.000	.

Tabla 16. Análisis mediante regresión logística binaria entre portadores de SNP y presencia de neutropenia, en pacientes tratados con paclitaxel.

b) Días hasta inicio de neutropenia.

Se analiza la asociación entre el tiempo hasta la aparición de neutropenia (medido en días) y el hecho de ser portador de SNP por medio de los 3 modelos de herencia previamente descritos, mediante un análisis univariable y multivariable, ajustado por la edad, utilizando regresión de Cox y Kaplan Meier, sin encontrar asociación estadísticamente significativa (tabla 17).

MODELO ADITIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (A)	.394	.051	.000	48.366	.981	.000	.000	.
rs35565630 (A)	.154	4.505	.569	35.657	.284	3.103	.391	24.637
rs11572080 (A)	.685	1.227	.458	3.284	.959	.973	.342	2.771
rs1113129 (A)	.905	.937	.321	2.733	.627	1.368	.387	4.843

MODELO DOMINANTE								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (D)	.398	.039	.000	73.262	.983	.000	.000	.
rs35565630 (D)	.154	4.505	.569	35.657	.284	3.103	.391	24.637
rs11572080 (D)	.468	1.552	.473	5.093	.867	1.107	.334	3.668
rs1113129 (D)	.675	1.359	.324	5.696	.485	1.679	.392	7.196

MODELO RECESIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (R)	.803	.049	.000	1.028E+09	.991	.000	.000	.
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1							
rs11572080 (R)	.657	.047	.000	34643.787	.986	.000	.000	.
rs1113129 (R)	.538	.042	.000	1006.343	.988	.000	.000	.

Tabla 17. Análisis mediante regresión de COX entre portadores de SNP y los días hasta la aparición de neutropenia, en pacientes tratados con paclitaxel.

En las curvas Kaplan Meier destaca la ausencia de individuos afectados entre los portadores tanto homocigotos como heterocigotos del polimorfismo relacionado con el metabolismo del CYP 3A5, lo que podría ser explicado por un modelo dominante de herencia. Sin embargo, no se detecta significación estadística en la regresión de Cox.

En el análisis de TUBB1, el único paciente portador presentó neutropenia.

Respecto al SNP CYP2C8*3 no se encontró patrón de herencia ni significación estadística.

En el caso del CYP2C8 haplotipo C no se detectaron casos en el brazo de los portadores homocigotos, lo que podría ser explicado por un modelo recesivo de herencia. Sin embargo, no se detecta significación estadística en la regresión de Cox (figura 36).

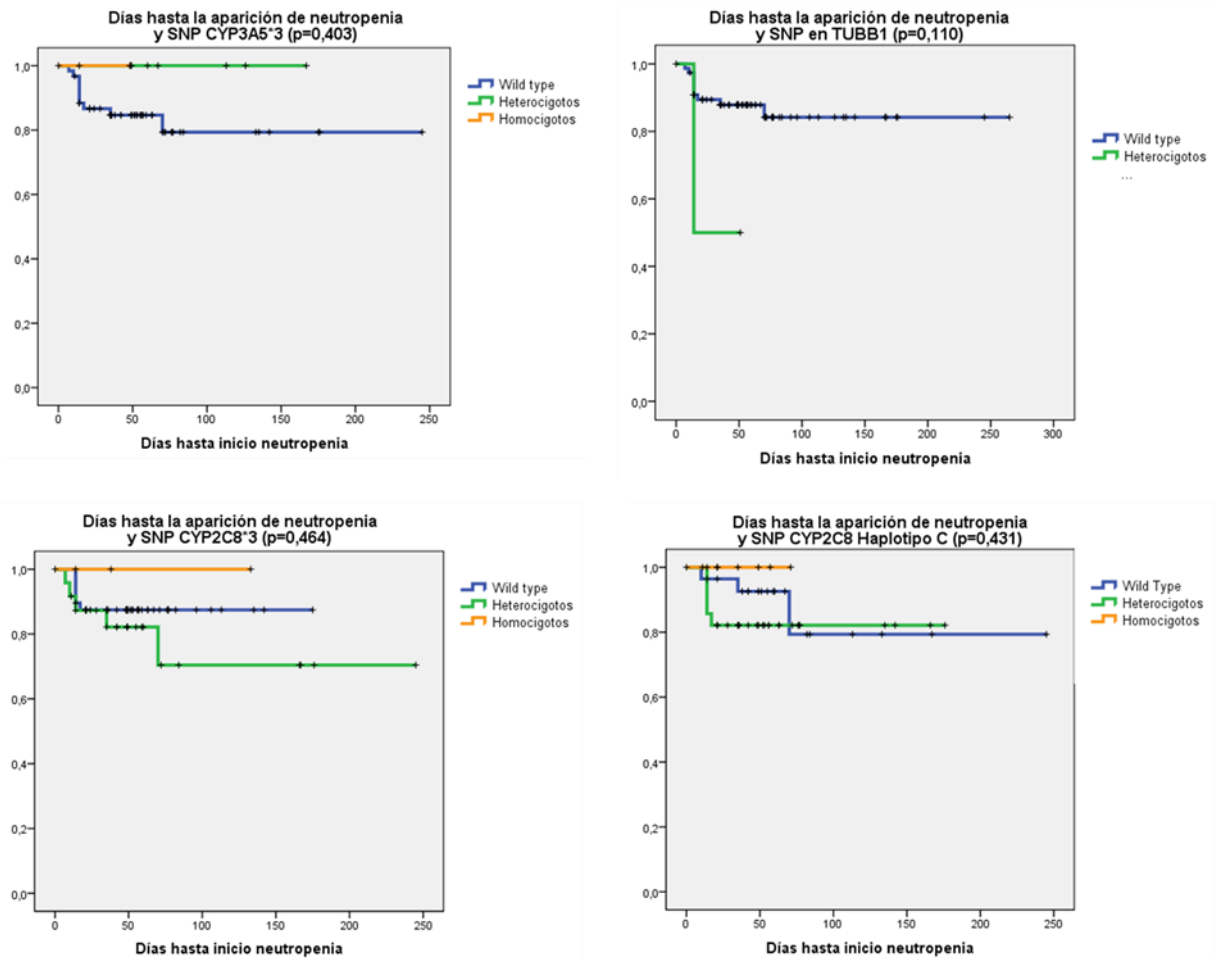


Figura 36. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de neutropenia, en pacientes tratados con paclitaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

c) Dosis acumulada hasta inicio de neutropenia.

Se analiza la asociación entre la dosis de quimioterapia (en miligramos) hasta la aparición de neutropenia y el hecho de ser portador de SNP por medio de los 3 modelos de herencia previamente descritos, mediante un análisis univariable y multivariable, ajustado por la edad, utilizando regresión de Cox y Kaplan Meier. No se encuentra significación estadística, aunque sí una tendencia a la significación en el caso del SNP en TUBB1 que no se confirma en el análisis multivariable (tabla 18).

MODELO ADITIVO								
	Univariable				Multivariable (ajustado por edad)			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (A)	.363	.049	.000	32.538	.979	.000	.000	.
rs35565630 (A)	.077	6.433	.820	50.472	.106	5.559	.693	44.586
rs11572080 (A)	.686	1.224	.459	3.270	.920	.948	.334	2.689
rs1113129 (A)	.898	.934	.327	2.667	.676	1.301	.378	4.482
MODELO DOMINANTE								
	Univariable				Multivariable (ajustado por edad)			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (D)	.368	.037	.000	47.949	.982	.000	.000	.
rs35565630 (D)	.077	6.433	.820	50.472	.106	5.559	.693	44.586
rs11572080 (D)	.464	1.558	.475	5.106	.899	1.081	.327	3.572
rs1113129 (D)	.649	1.395	.333	5.838	.520	1.603	.381	6.746
MODELO RECESIVO								
	Univariable				Multivariable (ajustado por edad)			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (R)	.790	.049	.000	2.217E+08	.991	.000	.000	.
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1							
rs11572080 (R)	.653	.047	.000	29561.368	.987	.000	.000	.
rs1113129 (R)	.519	.041	.000	661.582	.988	.000	.000	.

Tabla 18. Análisis mediante regresión de COX entre portadores de SNP y la dosis acumulada de paclitaxel hasta la aparición de neutropenia.

En concordancia con los análisis previos, se observa para CYP3A5 ausencia de individuos afectos entre los portadores tanto homocigotos como heterocigotos del polimorfismo, lo que podría ser explicado por un modelo dominante de herencia. Sin embargo, no se detecta significación estadística

En el caso del SNP CYP2C8*3 no se encontró patrón de herencia ni significación estadística.

Respecto a CYP2C8 haplotipo C no se detectaron casos en el brazo de los portadores homocigotos, lo que podría ser explicado por un modelo recesivo de herencia. Sin embargo, no se detecta significación estadística en la regresión de Cox.

En el análisis mediante logrank de la variante asociada a la β -tubulina VI se observa una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de neutropenia y el polimorfismo en TUBB1, que presentaría un patrón de herencia dominante ($p = 0.042$) (figura 37). Sin embargo no se confirma en el modelo multivariante.

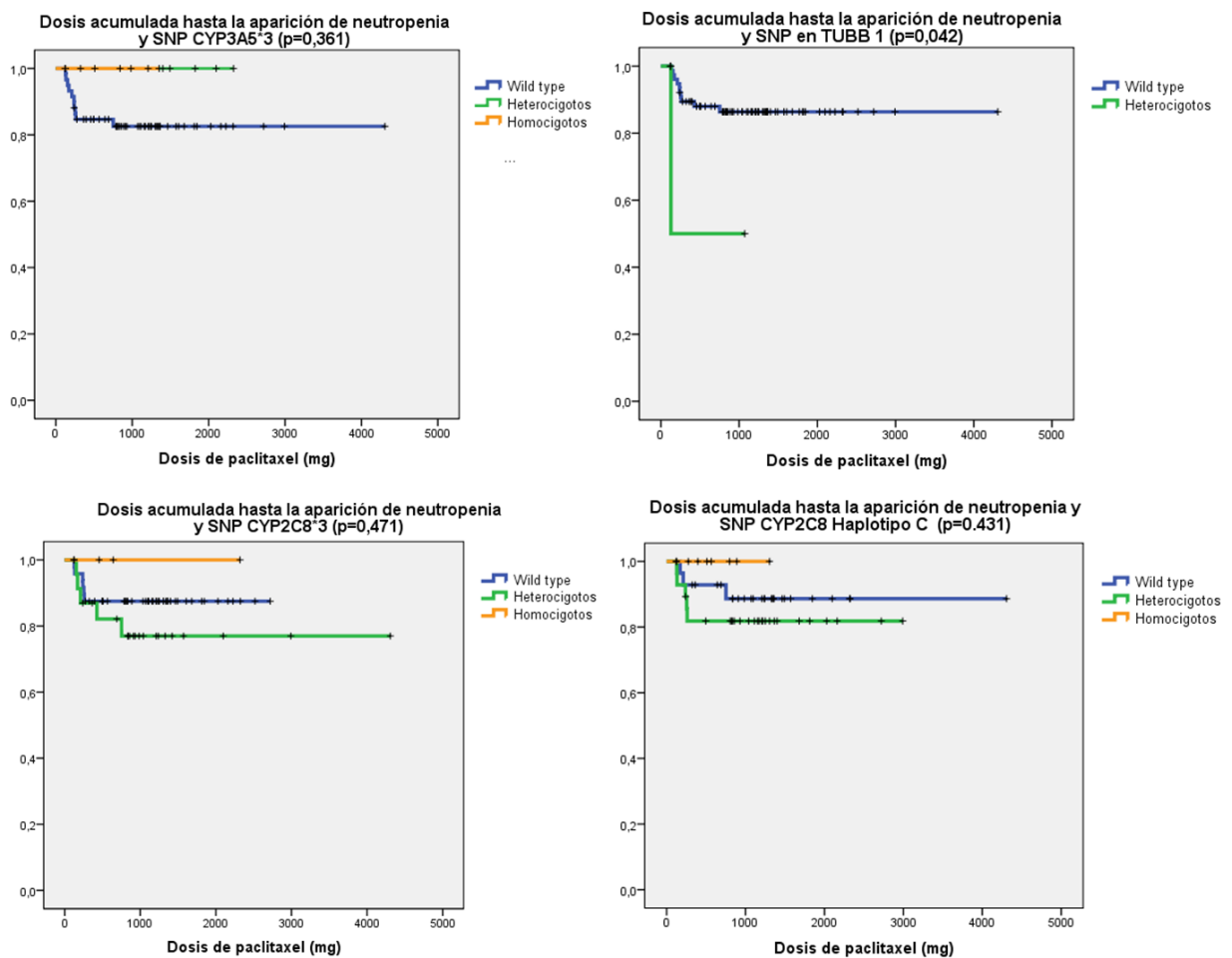


Figura 37. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de paclitaxel hasta la aparición de neutropenia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

3.1.3 Trombopenia y asociación con portadores de polimorfismos

a) Presencia de trombopenia.

Se analiza mediante regresión logística binaria la asociación entre trombopenia y el hecho de ser portador de SNP por medio de los 3 modelos de herencia previamente descritos: aditivo (A), dominante (D) y recesivo (R), mediante un análisis univariable. No se realiza análisis multivariable, porque ninguno de los factores clínicos resultaron asociados al descenso en los niveles de plaquetas con anterioridad.

No se encuentra asociación estadística significativa entre los SNP en CYP3A5*3 y TUBB1 y la existencia de trombopenia (tabla 19).

MODELO ADITIVO				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	0,999	0	-	-
rs35565630 (A)	0,999	0	-	-
rs11572080 (A)	0,614	0,578	0,068	4,877
rs1113129 (A)	0,639	0,674	0,13	3,501

MODELO DOMINANTE				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (D)	0,999	0	-	-
rs35565630 (D)	0,999	0	-	-
rs11572080 (D)	0,657	0,593	0,059	5,981
rs1113129 (D)	0,851	0,824	0,109	6,225

MODELO RECESIVO				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (R)	1	0	-	-
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1			
rs11572080 (R)	0,999	0	-	-
rs1113129 (R)	0,999	0	-	-

Tabla 19. Análisis mediante regresión logística binaria entre portadores de SNP y presencia de trombopenia, en pacientes tratados con paclitaxel.

b) Días hasta el inicio de trombopenia.

Se analizó la asociación entre ser portador de un polimorfismo en los genes a estudio y el tiempo que transcurre hasta la aparición de trombopenia.

Mediante regresión de COX se realizó un análisis univariable considerando los días transcurridos desde el inicio de la quimioterapia con paclitaxel y la aparición de trombopenia.

No se realiza análisis multivariable, porque ninguno de los factores clínicos resultaron asociados con la variable “días hasta la aparición de trombopenia”.

No se encontró tampoco asociación estadística significativa entre los SNP en CYP3A5*3 y TUBB1 y la existencia de trombopenia (tabla 20).

MODELO ADITIVO				
	P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,640	,052	,000	12366,073
rs35565630 (A)	,846	,048	,000	9,429E+11
rs11572080 (A)	,850	,813	,095	6,969
rs1113129 (A)	,942	1,067	,187	6,098

MODELO DOMINANTE				
	P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (D)	,643	,039	,000	36378,863
rs35565630 (D)	,846	,048	,000	9,429E+11
rs11572080 (D)	,923	,888	,081	9,798
rs1113129 (D)	,682	1,653	,150	18,259

MODELO RECESIVO				
	P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (R)	,884	,049	,000	2,464E+16
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1			
rs11572080 (R)	,821	,047	,000	1,447E+10
rs1113129 (R)	,721	,043	,000	1330732,935

Tabla 20. Análisis mediante regresión de COX entre portadores de SNP y los días hasta la aparición de trombopenia, en pacientes tratados con paclitaxel.

Mediante análisis de Kaplan Meier se analiza el patrón del modelo aditivo de los SNP y la presencia de trombopenia. De forma congruente con lo observado

previamente se encuentra un pequeño número de eventos, sin significación estadística (figura 38).

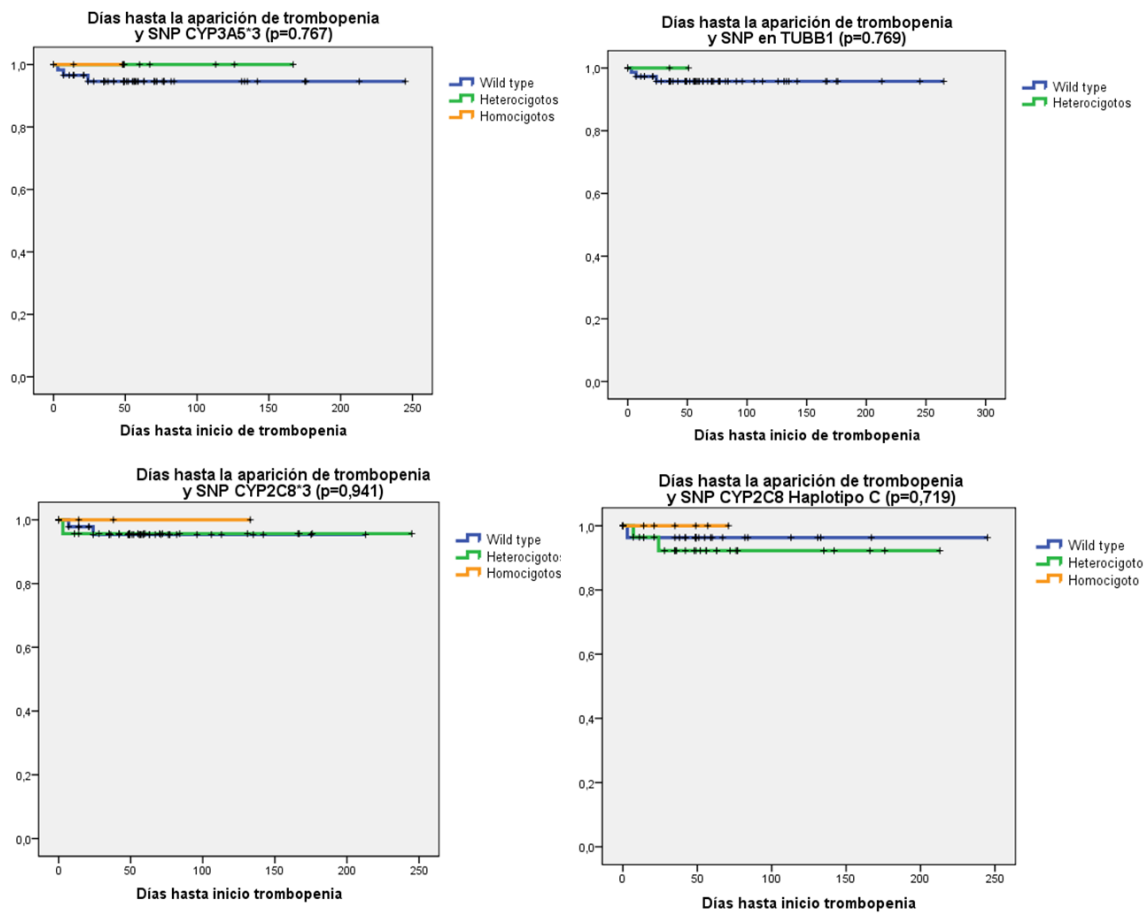


Figura 38. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de trombopenia, en pacientes tratados con paclitaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

c) Dosis hasta el inicio de trombopenia.

Se analiza la asociación entre ser portador de un SNP en alguno de los 4 genes estudiados y la dosis de paclitaxel administrada hasta la aparición de trombopenia.

Mediante regresión de COX se realizó un análisis univariable considerando la dosis de paclitaxel (en miligramos) desde el inicio de la quimioterapia y la aparición de trombopenia. No se encontraron factores clínicos asociados de una forma

significativa al descenso de plaquetas, por lo que no se realizó análisis multivariable.

No se encontró significación estadística entre la presencia de polimorfismos genéticos en CYP3A5, TUBB y CYP2C8, y la existencia de trombopenia (tabla 21).

MODELO ADITIVO				
	P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,629	,051	,000	9107,790
rs35565630 (A)	,861	,048	,000	2,781E+13
rs11572080 (A)	,841	,802	,093	6,916
rs1113129 (A)	,921	1,092	,195	6,101

MODELO DOMINANTE				
	P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (D)	,632	,038	,000	24712,636
rs35565630 (D)	,861	,048	,000	2,781E+13
rs11572080 (D)	,912	,873	,079	9,634
rs1113129 (D)	,650	1,743	,158	19,274

MODELO RECESIVO				
	P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (R)	,884	,049	,000	2,376E+16
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1			
rs11572080 (R)	,821	,047	,000	1,553E+10
rs1113129 (R)	,716	,042	,000	1052784,537

Tabla 21. Análisis mediante regresión de COX entre portadores de SNP y la dosis acumulada de paclitaxel hasta la aparición de neutropenia.

Mediante curvas de Kaplan Meier, se representa la relación de eventos entre los portadores y los individuos wild-type. No se encuentran eventos en los portadores de CYP3A5*3 y TUBB1. No se alcanza significación estadística (figura 39).

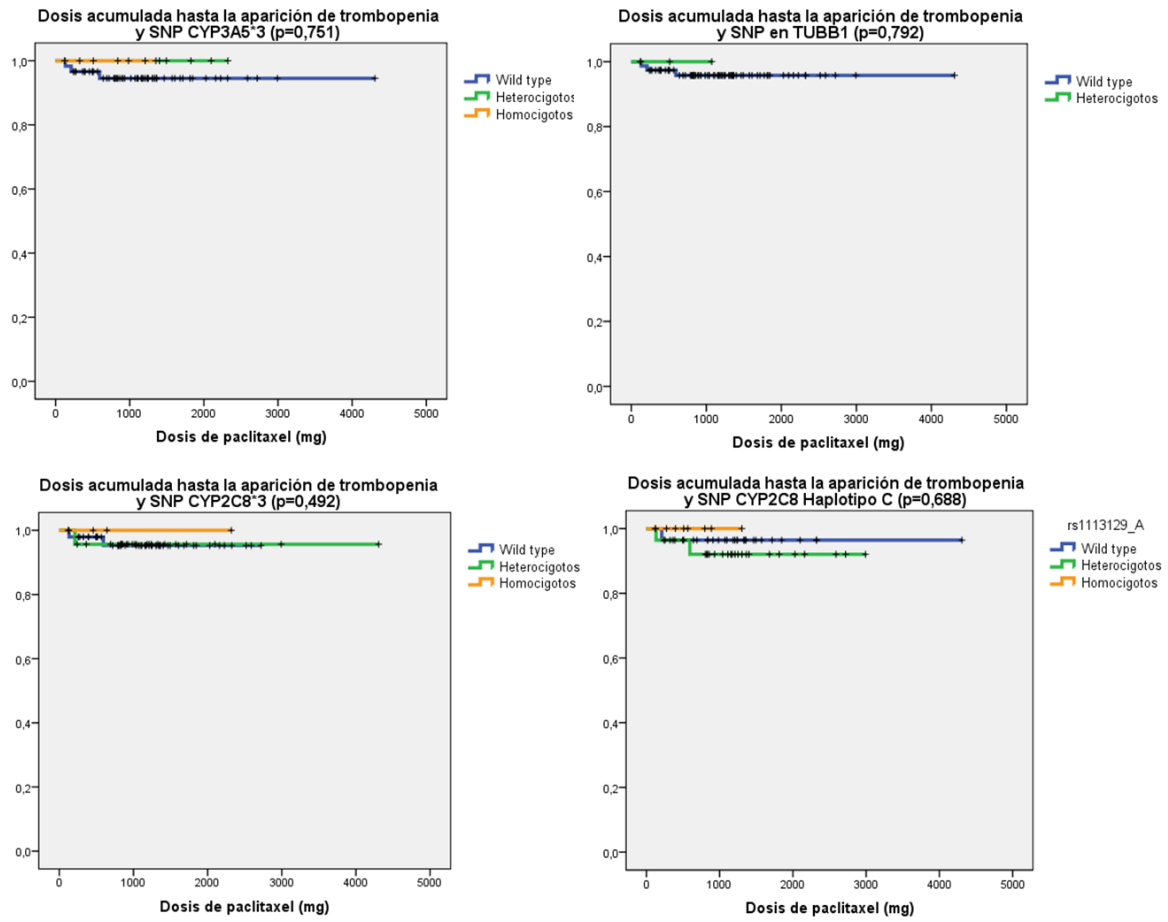


Figura 39. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de paclitaxel hasta la aparición de trombopenia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

3.1.4 Anemia y asociación con portadores de polimorfismos

a) Presencia de anemia.

Se analiza mediante regresión logística binaria la asociación entre anemia y el hecho de ser portador de SNP por medio de los 3 modelos de herencia previamente descritos: aditivo (A), dominante (D) y recesivo (R), mediante un análisis univariable. Posteriormente se realizó análisis multivariable incluyendo las variables tipo de tratamiento (adyuvante, neoadyuvante o paliativo) y el número de esquemas recibidos previamente a la terapia con taxanos, de acuerdo con los resultados del apartado 2. 1.

No se encuentra significación estadística entre la presencia de polimorfismos en los genes estudiados y la disminución de los niveles de hemoglobina en nuestra serie (tabla 22).

MODELO ADITIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I.C. 95%		P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (A)	0,218	0,434	0,115	1,636	0,686	0,732	0,162	3,313
rs35565630 (A)	0,833	1,353	0,082	22,406	0,927	1,141	0,068	19,111
rs11572080 (A)	0,265	1,584	0,706	3,554	0,179	1,834	0,757	4,443
rs1113129 (A)	0,303	1,478	0,703	3,107	0,547	1,291	0,562	2,963

MODELO DOMINANTE								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I.C. 95%		P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (D)	0,255	0,44	0,107	1,812	0,713	0,747	0,158	3,53
rs35565630 (D)	0,833	1,353	0,082	22,406	0,927	1,141	0,068	19,111
rs11572080 (D)	0,356	1,55	0,612	3,928	0,238	1,856	0,665	5,185
rs1113129 (D)	0,389	1,545	0,574	4,158	0,963	0,974	0,318	2,984

MODELO RECESIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I.C. 95%		P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (R)	1	0			1	0	0	.
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1							
rs11572080 (R)	0,417	2,75	0,239	31,654	0,313	3,69	0,292	46,58
rs1113129 (R)	0,411	1,944	0,399	9,483	0,189	3,551	0,535	23,568

Tabla 22. Análisis mediante regresión logística binaria entre ser portador de SNP y la presencia de anemia, en pacientes tratados con paclitaxel.

b) Días hasta la aparición de anemia.

Se analizó asimismo la asociación entre ser portador de un SNP en algunos de los genes a estudio y el tiempo transcurrido hasta la aparición de anemia.

Mediante regresión de COX se realizó un análisis univariable considerando el número de días entre el inicio de la quimioterapia con paclitaxel y la aparición de anemia. A continuación se realizó un análisis multivariable teniendo en cuenta los factores “tipo de tratamiento” y “número de esquemas previos recibidos” que fueron las 2 variables asociadas de una forma significativa a los días transcurridos hasta la aparición de anemia.

Respecto a los resultados, no se encontró significación estadística para ninguno de los cuatro polimorfismos en el análisis univariable. Sin embargo, en el análisis multivariable se observó una asociación estadísticamente significativa entre el CYP2C8 Haplotipo C y los días hasta la aparición de anemia, cuando se ajustó el análisis por tipo de tratamiento y número de esquemas previos, con una $p=0.045$ y un $HR=3,052$.

De esta forma, este SNP conferiría a los portadores homocigotos un riesgo aumentado para la aparición de anemia, en un modelo recesivo de herencia (tabla 23).

MODELO ADITIVO

	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (A)	0,311	0,558	0,181	1,724	,754	,825	,247	2,753
rs35565630 (A)	0,691	1,499	0,203	11,06	,743	1,400	,188	10,423
rs11572080 (A)	0,36	1,296	0,744	2,258	,215	1,445	,808	2,585
rs1113129 (A)	0,222	1,439	0,802	2,583	,413	1,320	,679	2,566

MODELO DOMINANTE								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (D)	0,35	0,567	0,172	1,864	,779	,839	,246	2,859
rs35565630 (D)	0,691	1,499	0,203	11,06	,743	1,400	,188	10,423
rs11572080 (D)	0,47	1,288	0,649	2,555	,247	1,533	,743	3,161
rs1113129 (D)	0,482	1,314	0,614	2,812	,960	,979	,431	2,225

MODELO RECESIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (R)	0,65	0,048	0	2,32E+04	,981	,000	,000	.
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1							
rs11572080 (R)	0,521	1,599	0,381	6,709	,462	1,733	,401	7,495
rs1113129 (R)	0,123	2,329	0,795	6,819	,045	3,052	1,023	9,108

Tabla 23 Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de anemia, en pacientes tratados con paclitaxel.

Mediante curvas de Kaplan-Meier se analizó el mismo parámetro con el modelo aditivo para los cuatro polimorfismos incluidos en el estudio, sin significación estadística con el fin de objetivar el patrón de la muestra.

En el polimorfismo CYP3A5*3 el único portador homocigoto no presentó evento. En el caso del SNP localizado en el gen TUBB1 no se encontraron portadores homocigotos.

Para el CYP2C8 haplotipo C las curvas correspondientes a individuos wild-type y heterocigotos se superponen, encontrándose un mayor número de eventos en el brazo de homocigotos (n=7), con significación estadística en el análisis multivariable descrito previamente (figura 40).

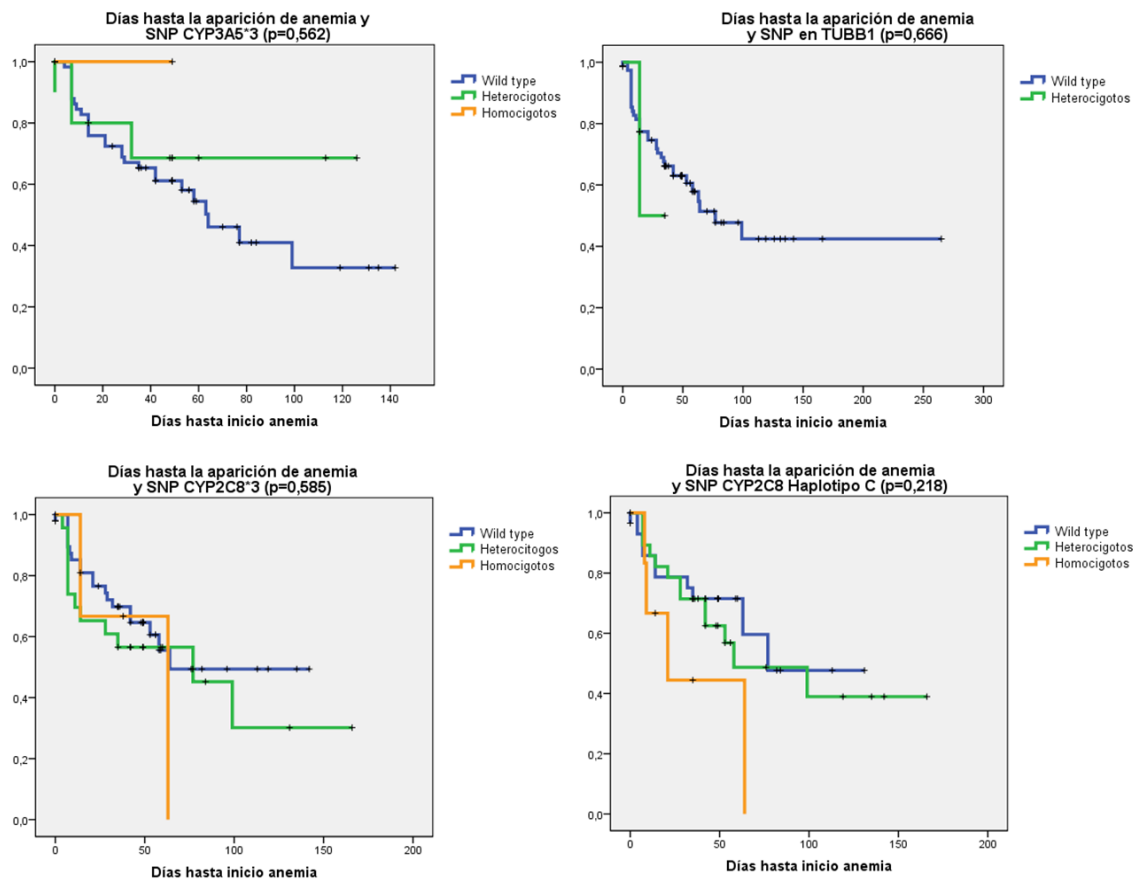


Figura 40. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de anemia, en pacientes tratados con paclitaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

b) Dosis hasta la aparición de anemia.

Se estudió por último la asociación entre ser portador de uno de los 4 polimorfismos en algunos de los genes a estudio y la dosis de paclitaxel administrada hasta la aparición de anemia. Para ello, se realizó mediante regresión de COX un análisis univariable considerando la dosis de paclitaxel (en miligramos) desde el inicio de la quimioterapia y la aparición de anemia. En un segundo lugar, teniendo en cuenta el análisis de factores clínicos asociados de una forma estadísticamente significativa con esta variable, se realizó un análisis multivariable, incluyendo el tipo de tratamiento (paliativo, adyuvante o

neoadyuvante), el número de esquemas previos y la dosis total acumulada de paclitaxel.

No se encuentra significación estadística en el análisis univariable para ninguno de los 4 polimorfismos. En cuanto al análisis multivariable, se observa una tendencia a la significación para el polimorfismo CY2C8*3 en el modelo aditivo ($p=0.073$, $HR=1.75$) y para el polimorfismo CYP2C8 haplotipo C de nuevo en el modelo recesivo ($p=0.07$, $HR=3.19$), de forma congruente con el análisis para “días hasta la aparición de anemia” (tabla 24).

MODELO ADITIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (A)	0,311	0,558	0,181	1,724	,584	,713	,212	2,395
rs35565630 (A)	0,691	1,499	0,203	11,06	,464	2,155	,276	16,826
rs11572080 (A)	0,36	1,296	0,744	2,258	,073	1,751	,948	3,231
rs1113129 (A)	0,222	1,439	0,802	2,583	,377	1,341	,699	2,572

MODELO DOMINANTE								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (D)	0,35	0,567	0,172	1,864	,602	,721	,211	2,465
rs35565630 (D)	0,691	1,499	0,203	11,06	,464	2,155	,276	16,826
rs11572080 (D)	0,47	1,288	0,649	2,555	,133	1,755	,842	3,658
rs1113129 (D)	0,482	1,314	0,614	2,812	,873	1,069	,471	2,430

MODELO RECESIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I.C. 95%		P	HR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (R)	0,65	0,048	0	2,32E+04	,987	,000	,000	.
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1							
rs11572080 (R)	0,521	1,599	0,381	6,709	0,234	2,492	0,554	11,206
rs1113129 (R)	0,123	2,329	0,795	6,819	,070	3,192	,911	11,192

Tabla 24. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de paclitaxel hasta la aparición de anemia.

A continuación se elaboraron curvas de Kaplan Meier, donde se objetivan los resultados previos. En el polimorfismo CYP3A5*3 el único portador homocigoto no

presentó evento. En el caso del SNP localizado en el gen TUBB1 no se encontraron portadores homocigotos.

Para el CYP2C8 haplotipo C las curvas correspondientes a individuos wild-type y heterocigotos se superponen, encontrándose un mayor número de eventos en el brazo de homocigotos (figura 41).

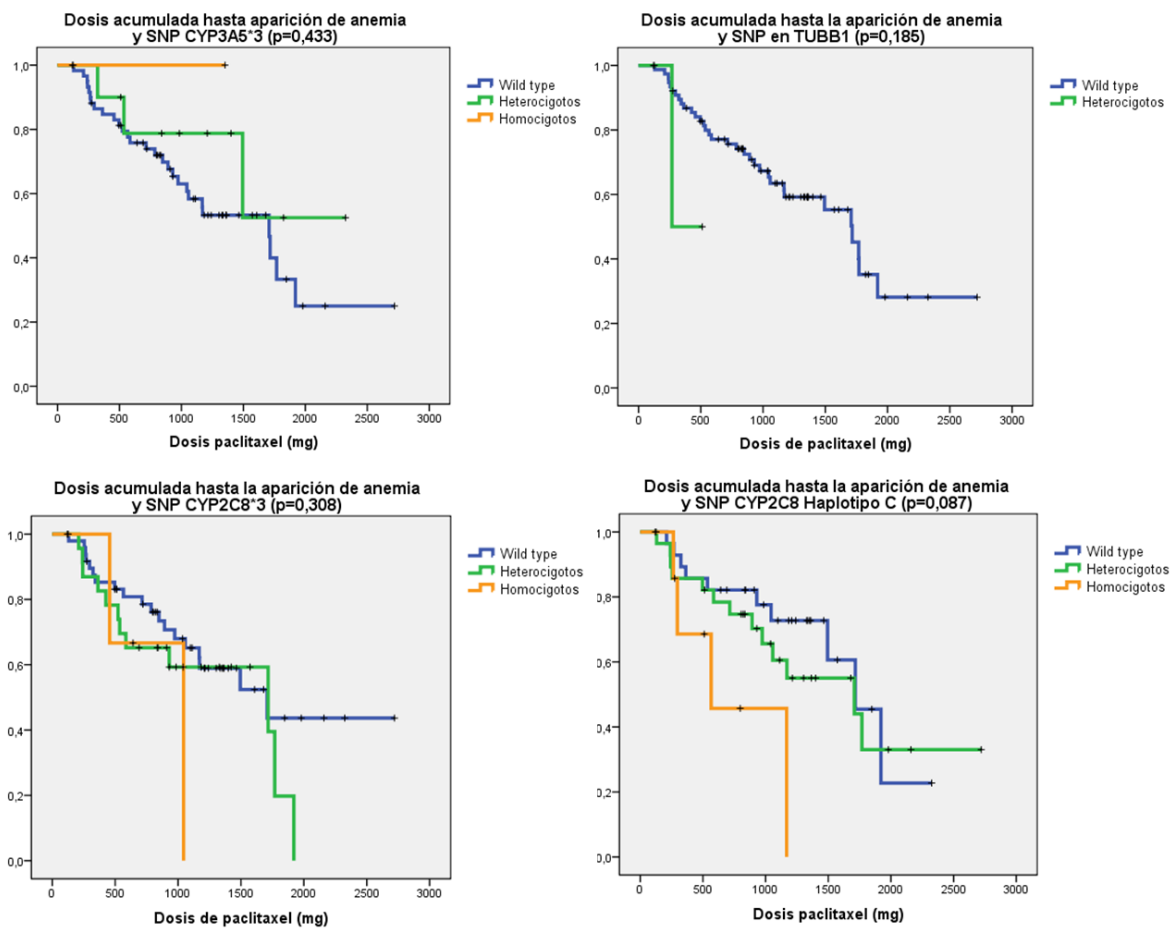


Figura 41. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de paclitaxel hasta la aparición de anemia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

3.1.5 Presencia de toxicidad hematológica en alguna de las 3 series y asociación con portadores de polimorfismos

Se crea una nueva variable en la que se asigna 1 a los pacientes que presentaron durante el tratamiento con paclitaxel algún tipo de toxicidad hematológica (neutropenia y/o trombopenia y/o anemia), y con el valor 0 aquellos pacientes en los que no se detectó mielosupresión significativa.

Se ponderó asimismo por aquellos pacientes que no recibieron tratamiento profiláctico con filgrastim, que como se ha descrito con anterioridad era un factor determinante en la presencia de neutropenia.

Mediante regresión logística binaria se estudió en un primer paso la asociación entre las diferentes variables clínicas y esta nueva variable, encontrando que el tipo de tratamiento recibido (paliativo, adyuvante o neoadyuvante) era la única variable que se asociaba de una forma significativa a la presencia de toxicidad en alguna de las 3 series ($p=0.023$) e incluyéndola posteriormente en el análisis multivariable.

Sin embargo, no se encontró significación estadística entre la presencia de citopenias en alguna de las 3 series y la presencia de polimorfismos.

3.2 DOCETAXEL

El número de pacientes con disponibilidad de material anatomopatológico que habían recibido tratamiento con docetaxel en monoterapia incluido en nuestro estudio fue de 112 pacientes.

La distribución de sexos fue 1:1, presentándose en la muestra un 50% de hombres y un 50% de mujeres. La mediana de edad fue 58 años (DS 10. 95).

En este grupo se incluyeron 51 pacientes con cáncer de mama, 28 pacientes con cáncer de próstata, 22 pacientes con cáncer de pulmón, 9 casos con tumores digestivos y 2 pacientes con tumores de cabeza y cuello.

La mayor parte de los pacientes portadores de polimorfismos se trataron con el esquema docetaxel 75/m² administrado cada 21 días (52. 7%), seguido de docetaxel 100mg/m² trisemanal (44. 6%) y un 3 pacientes que recibieron docetaxel semanal (2. 7%). El 67.9% de estos tratamientos tuvieron finalidad paliativa, seguido de terapias adyuvantes (25. 9%) y quimioterapia con finalidad neoadyuvante (6. 3%).

Entre los pacientes tratados con docetaxel recibieron factores estimulantes de colonias el 63. 4% de los casos. Respecto a la toxicidad, presentaron neutropenia significativa 18 pacientes (16. 1%), se detectó trombopenia en 5 pacientes (4. 5%) y anemia en 23 pacientes (20. 5%) (figura 42).

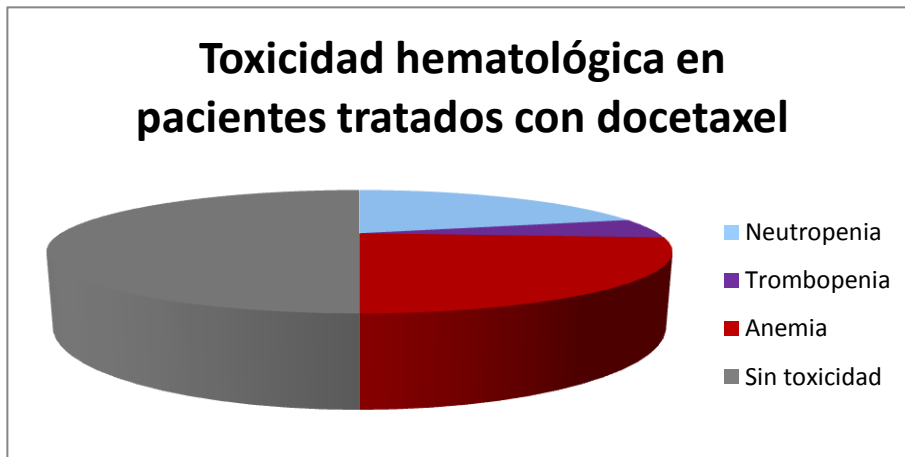


Figura 42. Distribución de la toxicidad hematológica en pacientes tratados con docetaxel

Respecto a la experiencia de toxicidad hematológica, los pacientes que recibieron docetaxel en monoterapia habían recibido previamente otro esquema de quimioterapia: 59.8% una línea anterior, 7.1% dos líneas y 2.7% tres líneas. En el 30.4% de la muestra docetaxel era la primera línea de tratamiento con quimioterapia.

3.2.1 Frecuencia de polimorfismos

a) CYP3A*3 (rs776746).

Se encontraron 14 pacientes heterocigotos para el polimorfismo y un paciente homocigoto en la muestra. La frecuencia génica de este SNP fue de 18.8% (15/80) y la frecuencia alélica de 0.10.

b) SNP en TUBB1 (rs35565630)

Se encontraron 5 pacientes heterocigotos para el polimorfismo y ningún paciente homocigoto en la muestra. La frecuencia génica de este SNP fue de 6.25% (5/80) y la frecuencia alélica de 0.025 (figura 43).

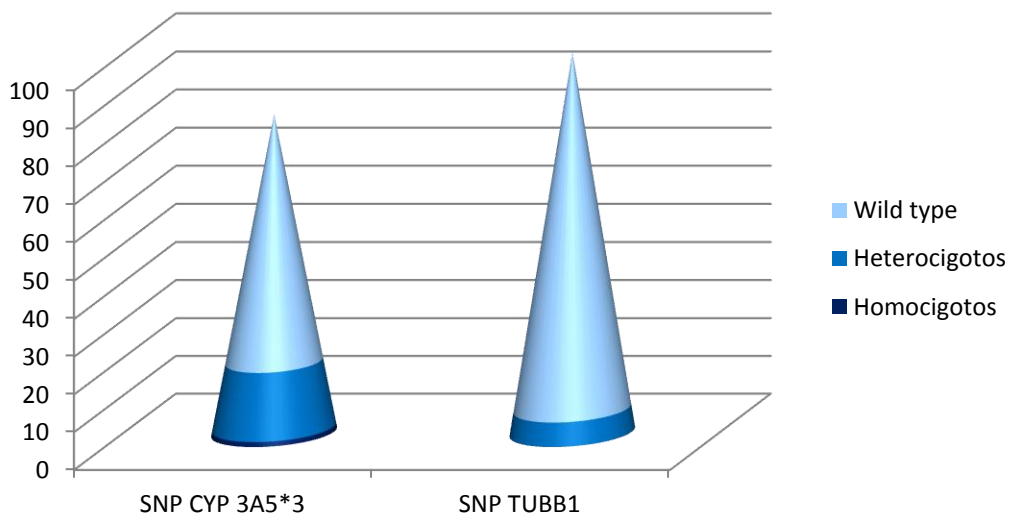


Figura 43. Frecuencia de SNPs en pacientes tratados con docetaxel.

3.2.2 Neutropenia y asociación con portadores de polimorfismos

Dado que el soporte con factores estimulantes de colonias es un factor de confusión se realizó análisis de los SNP clasificando a los pacientes en pacientes con y sin profilaxis con filgrastim con el fin de evitar el factor de confusión.

a) Presencia de neutropenia.

Se analiza mediante regresión logística binaria la asociación de neutropenia y el hecho de ser portador de SNP por medio de los 3 modelos de herencia previamente descritos: aditivo (A), dominante (D) y recesivo (R), mediante un análisis univariable. Posteriormente y de acuerdo con las variables clínicas asociadas a la presencia de neutropenia descritas en el apartado 2. 2, se realiza un análisis multivariable ajustado por el número de esquemas previos.

No se encuentra asociación estadística significativa entre los SNP en CYP3A5*3 y TUBB1 y la existencia de neutropenia (tablas 25 y 26).

UNIVARIABLE				
	P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746	,999	,000	,000	.

rs35565630	,999	,000	,000	.
MULTIVARIABLE				
	P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746	,999	,000	,000	.
rs35565630	,999	,000	,000	.
No hay casos homocigotos				

Tabla 25. Pacientes tratados con docetaxel que han recibido soporte con filgrastim(n=71). Regresión logística binaria entre presencia de neutropenia (SI/NO) y portadores de SNP. No existen individuos portadores homocigotos.

UNIVARIABLE				
	P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,480	1,834	,341	9,878
rs776746 (D)	,253	3,556	,405	31,233
rs776746 (R)	1,000	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	1,000	,000	,000	.
rs35565630 (R)	No hay casos homocigotos			
MULTIVARIABLE				
	P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,855	1,186	,191	7,355
rs776746 (D)	,510	2,231	,206	24,211
rs776746 (R)	1,000	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	1,000	,000	,000	.
rs35565630_R	No hay casos homocigotos			

Tabla 26. Pacientes tratados con docetaxel que no han recibido tratamiento profiláctico con filgrastim (n=41). Regresión logística binaria entre presencia de neutropenia (SI/NO) y portadores de SNP. No existen individuos portadores homocigotos para el SNP en TUBB1.

b) Días hasta la aparición de neutropenia.

Se analiza la asociación entre ser portador de un SNP en CYP3A5*3 o en TUBB1 y el tiempo que transcurre hasta la aparición de neutropenia, de la misma forma que se ha descrito previamente con paclitaxel.

Se realizó mediante regresión de COX un análisis univariable considerando los días transcurridos desde el inicio de la quimioterapia con docetaxel y la aparición de neutropenia. En un segundo lugar, teniendo en cuenta el análisis de factores clínicos asociados de una forma estadísticamente significativa con esta variable, se

realizó un análisis multivariable, incluyendo el número de esquemas previos. No se encontró significación estadística (tablas 27 y 28).

UNIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746	,569	,037	,000	3085,674
rs35565630	,683	,045	,000	129103,571
MULTIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746	,988	,000	,000	.
rs35565630	,991	,000	,000	.
No hay individuos homocigotos				

Tabla 27. Pacientes tratados con docetaxel que han recibido profilaxis con filgrastim (n=71). Regresión de COX entre los días hasta la aparición de neutropenia y portadores de SNP. No existen individuos portadores homocigotos.

UNIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,402	1,762	,469	6,617
rs776746 (D)	,194	3,291	,545	19,867
rs776746 (R)	,763	,046	9,558E-11	2,207E+07
rs35565630 (A/D)	,623	,044	,000	11021,568
rs35565630 (R)	No hay casos homocigotos			
MULTIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,588	1,455	,374	5,660
rs776746 (D)	,313	2,582	,409	16,301
rs776746 (R)	,993	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	,989	,000	,000	.
rs35565630 (R)	No hay casos homocigotos			

Tabla 28. Pacientes tratados con docetaxel que no han recibido tratamiento profiláctico con filgrastim (n=41). Regresión de COX entre los días hasta la aparición de neutropenia y portadores de SNP. No existen individuos portadores homocigotos para el SNP en TUBB1.

Mediante curvas de Kaplan-Meier se analizó el mismo parámetro con el modelo aditivo para ambos SNP. En el caso del SNP en CYP3A5 no se observan casos de neutropenia en portadores heterocigotos que han recibido filgrastim, sin embargo cuando se pondera por aquellos pacientes que no han recibido factores estimulantes de colonias las curvas se invierten y los pacientes portadores del SNP son los que tienen más eventos, aunque no se alcanza la significación estadística.

En el polimorfismo localizado en el gen TUBB1 se objetiva asimismo un cambio en la distribución de las curvas cuando se pondera la muestra en función de la presencia o no de pacientes que hubieran recibido profilaxis con filgrastim que actúa como factor de confusión.

De esta forma, el SNP en TUBB1 supondría un factor protector de neutropenia en pacientes tratados con docetaxel. Sin embargo, no fue estadísticamente significativa (figura 44).

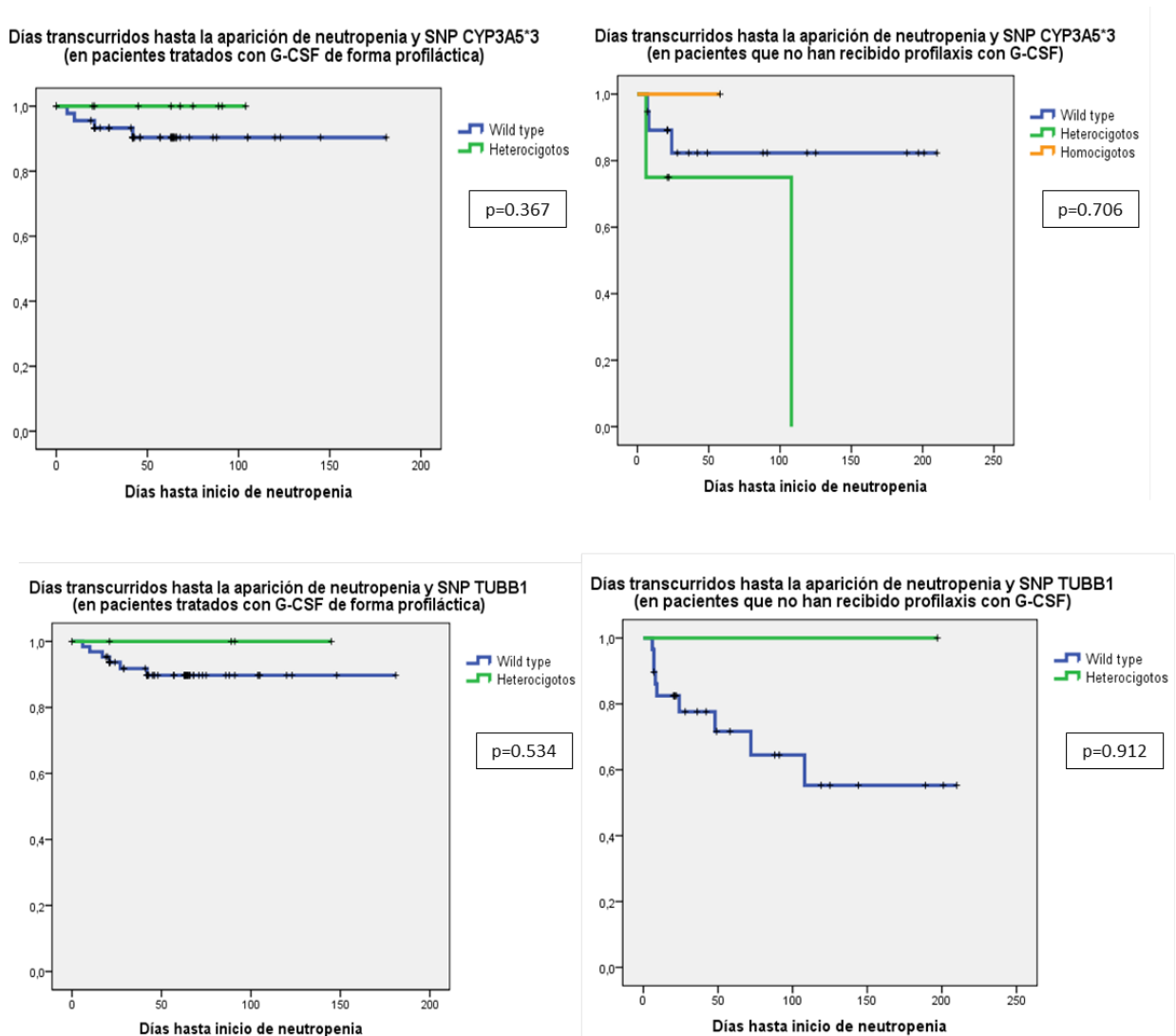


Figura 44. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de neutropenia, en pacientes tratados con docetaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

c) Dosis hasta el inicio de neutropenia.

Se analiza la asociación entre ser portador de un SNP en CYP3A5*3 o en TUBB1 y la dosis de docetaxel administrada hasta la aparición de neutropenia, de la misma forma que se ha descrito previamente con paclitaxel.

Se realizó mediante regresión de COX un análisis univariable considerando la dosis de docetaxel (en miligramos) desde el inicio de la quimioterapia y la aparición de neutropenia. En un segundo lugar, teniendo en cuenta el análisis de factores clínicos asociados de una forma estadísticamente significativa con esta variable, se realizó un análisis multivariable, incluyendo el tipo de tratamiento (paliativo, adyuvante o neoadyuvante) y el número de esquemas previos. No se encontró asociación estadísticamente significativa (tablas 30 y 31).

UNIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746	,556	,037	,000	2238,973
rs35565630	,678	,045	,000	103641,214
MULTIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746	,970	,000	1,062E-245	5,095E+235
rs35565630	,992	,000	,000	.
No hay individuos homocigotos				

Tabla 29. Pacientes tratados con docetaxel que han recibido profilaxis con filgrastim (n=71). Regresión de COX entre la dosis (mg) hasta la aparición de neutropenia y portadores de SNP.

UNIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,315	2,038	,509	8,161
rs776746 (D)	,173	3,489	,578	21,072
rs776746 (R)	,804	,046	1,342E-12	1,607E+09
rs35565630 (A/D)	,615	,044	,000	8253,360
MULTIVARIABLE				

	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,598	1,508	,327	6,956
rs776746 (D)	,381	2,450	,329	18,225
rs776746 (R)	,991	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	,989	,000	,000	.
rs35565630 (R)	No existen individuos homocigotos para TUBB1			

Tabla 30 Pacientes tratados con docetaxel que no han recibido tratamiento profiláctico con filgrastim (n=41). Regresión de COX entre la dosis (mg) hasta la aparición de neutropenia y portadores de SNP.

Mediante curvas de Kaplan-Meier se analizó el mismo parámetro con el modelo aditivo para ambos SNP (figura 45).

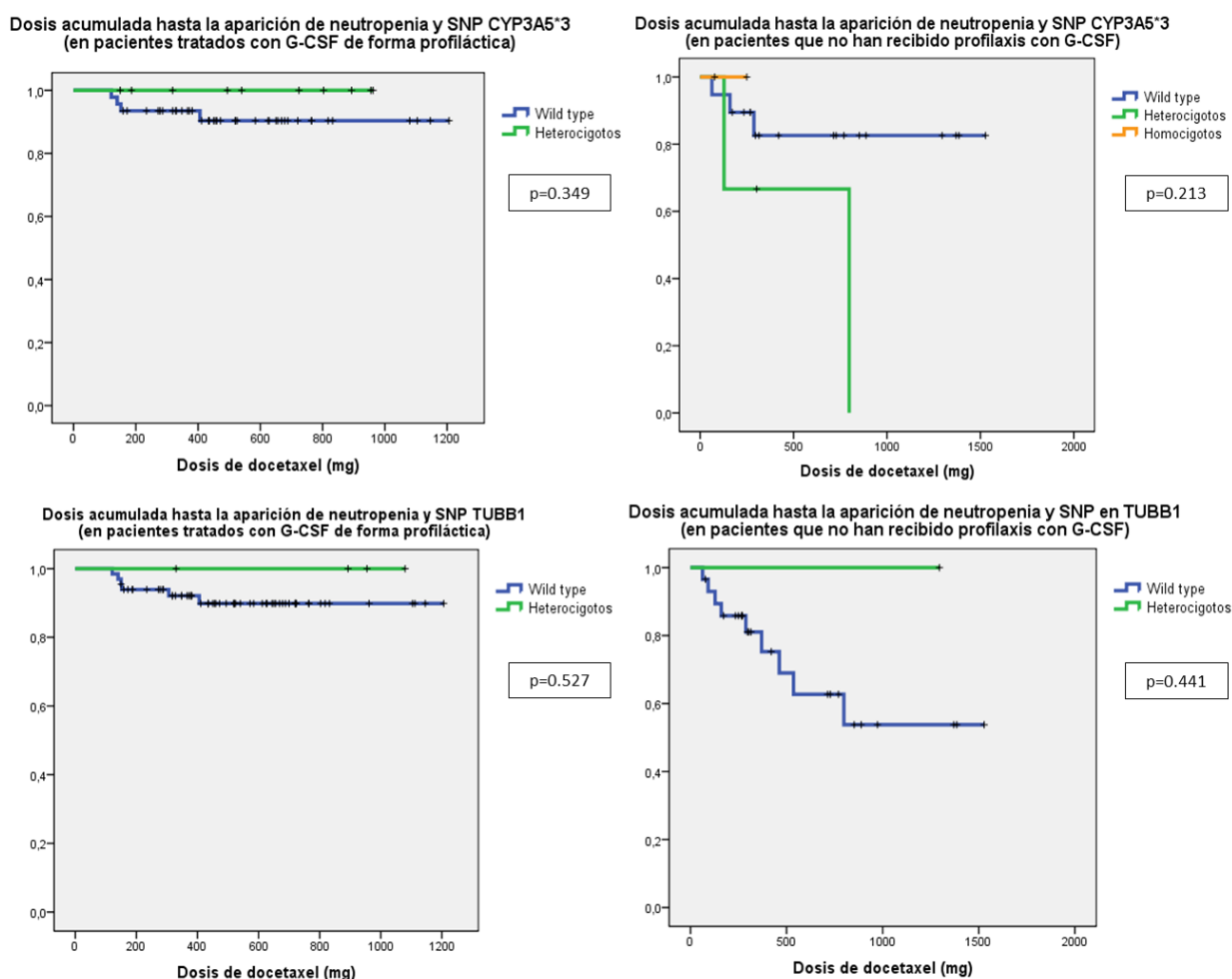


Figura 45. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de docetaxel hasta la aparición de neutropenia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

Los resultados son similares a los descritos previamente en el análisis de días hasta neutropenia. En el caso del SNP en CYP3A5 no se observan casos de neutropenia en portadores heterocigotos que han recibido filgrastim, sin embargo cuando se pondera por aquellos pacientes que no han recibido factores estimulantes de colonias las curvas se invierten y los pacientes portadores del SNP son los que tienen más eventos, aunque no se alcanza la significación estadística. Sólo se encontró un individuo homocigoto, que no presentó eventos.

De nuevo para TUBB1 se encuentra que cuando ponderamos por los pacientes que no han recibido profilaxis con G-CSF las curvas se separan concentrándose los eventos en los individuos "wild type", sin alcanzar la significación estadística.

3.2.3 Trombopenia y asociación con portadores de polimorfismos

a) Presencia de trombopenia.

Se analiza mediante regresión logística binaria la asociación entre trombopenia y el hecho de ser portador de SNP por medio de los 3 modelos de herencia previamente descritos: aditivo (A), dominante (D) y recesivo (R), mediante un análisis univariable. Posteriormente y de acuerdo con las variables clínicas asociadas a la presencia de trombopenia descritas en el apartado 2. 2, se realiza un análisis multivariable ajustado por el número de esquemas previos.

No se encuentra asociación estadística significativa entre los SNP en CYP3A5*3 y TUBB1 y la existencia de trombopenia (tabla 32).

ANÁLISIS UNIVARIABLE				
	P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,182	3,208	,580	17,739
rs776746 (D)	,131	4,846	,625	37,603
rs776746 (R)	1,000	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	,999	,000	,000	.
ANÁLISIS MULTIVARIABLE				
	P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,375	2,188	,388	12,330
rs776746 (D)	,203	4,081	,468	35,581
rs776746 (R)	1,000	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	,999	,000	,000	.
rs35565630_R	No hay individuos homocigotos para TUBB1			

Tabla 31. Regresión logística binaria entre presencia de trombopenia (SI/NO) y portadores de SNP.

b) Días hasta la aparición de trombopenia.

Se analiza la asociación entre ser portador de un SNP en CYP3A5*3 o en TUBB1 y el tiempo que transcurre hasta la aparición de trombopenia.

Se realizó mediante regresión de COX un análisis univariable considerando los días transcurridos desde el inicio de la quimioterapia con docetaxel y la aparición de

trombopenia. En un segundo lugar, se realizó un análisis multivariable, incluyendo el número de esquemas previos, de acuerdo a que fue el único factor clínico que resultó tener una asociación estadísticamente significativa con la trombopenia (ver apartado 2. 2). No se encontró significación entre los polimorfismos asociados a docetaxel y los días hasta la aparición de trombopenia (tabla 33).

ANÁLISIS UNIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,146	3,025	,681	13,448
rs776746 (D)	,102	5,145	,723	36,628
rs776746 (R)	,874	,049	3,308E-18	7,174E+14
rs35565630 (A/D)	,730	,046	,000	1787348,634
ANÁLISIS MULTIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,333	1,961	,502	7,668
rs776746 (D)	,136	4,566	,619	33,663
rs776746 (R)	,992	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	,991	,000	,000	.
rs35565630_R	No hay individuos homocitogotos para TUBB1			

Tabla 32. Regresión de COX entre los días hasta la aparición de trombopenia y portadores de SNP.

Mediante análisis de Kaplan Meier se analiza el patrón del modelo aditivo de los SNP y la presencia de trombopenia. De forma congruente con lo observado en el análisis de neutropenia, se observa que los portadores de CYP3A5*3 presentan más eventos respecto a los wild type, por lo que actuaría como factor de riesgo para trombopenia. Se encuentra un caso homocigoto sin toxicidad.

En el caso del SNP en TUBB1, no se encuentran eventos en los portadores, por lo que actuaría como factor protector de la toxicidad. Sin embargo, no se alcanza significación estadística (figura 46).

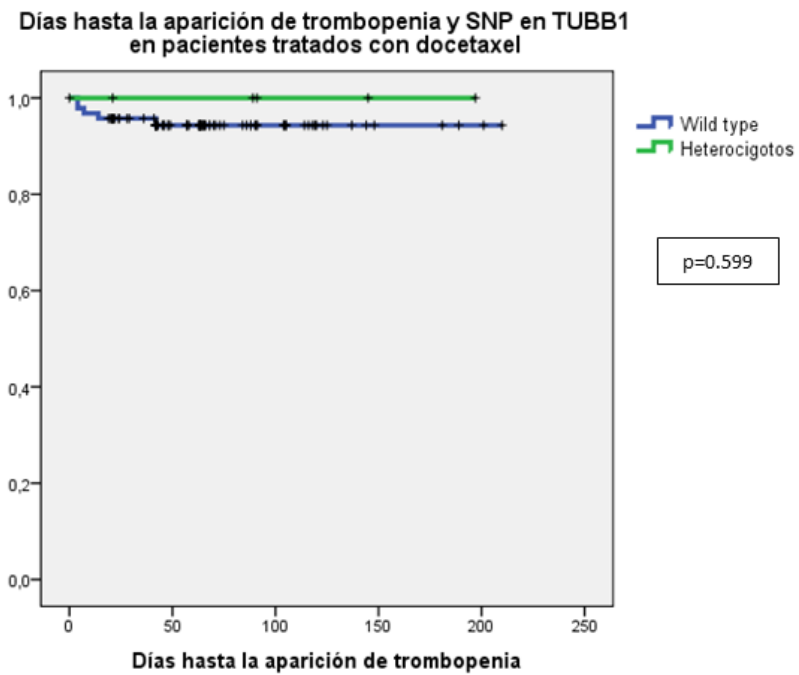
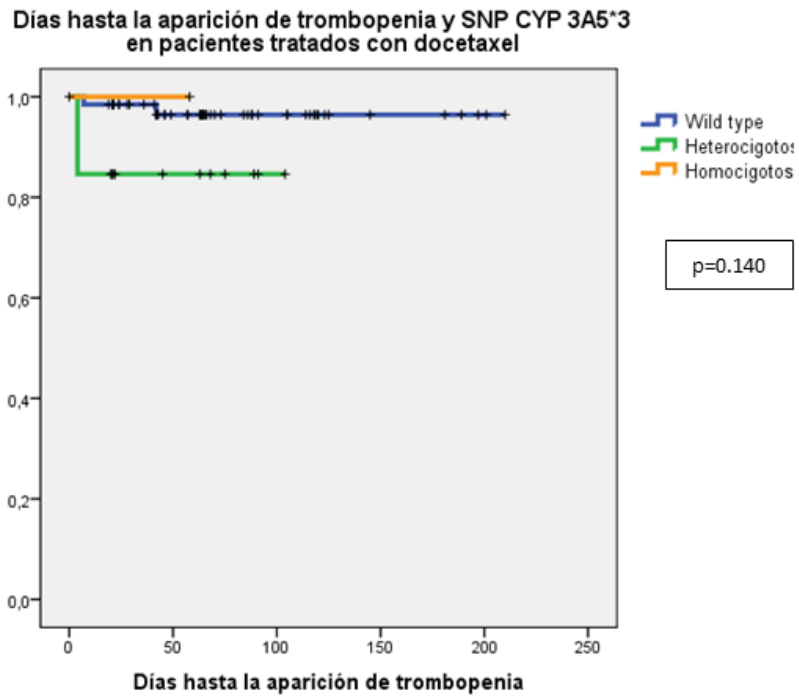


Figura 46. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de trombopenia, en pacientes tratados con docetaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

c) Dosis hasta el inicio de trombopenia.

Se analiza la asociación entre ser portador de un SNP en CYP3A5*3 o en TUBB1 y la dosis de docetaxel administrada hasta la aparición de trombopenia, de la misma forma que se ha descrito previamente.

Se realizó mediante regresión de COX un análisis univariable considerando la dosis de docetaxel (en miligramos) desde el inicio de la quimioterapia y la aparición de trombopenia. En un segundo lugar, teniendo en cuenta el análisis de factores clínicos asociados de una forma estadísticamente significativa con esta variable, se realizó un análisis multivariable, incluyendo el número de esquemas previos.

ANÁLISIS UNIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,136	3,341	,685	16,294
rs776746 (D)	,108	5,003	,701	35,714
rs776746 (R)	,895	,049	1,324E-21	1,801E+18
rs35565630 (A/D)	,727	,046	,000	1467792,292
ANÁLISIS MULTIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,254	2,378	,537	10,536
rs776746 (D)	,131	5,085	,617	41,891
rs776746 (R)	,994	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	,994	,000	,000	.
rs35565630 (R)	No hay casos homocigotos para TUBB1			

Tabla 33 Regresión de COX entre la dosis de docetaxel hasta la aparición de trombopenia y portadores de SNP

Mediante el análisis con curvas de Kaplan Meier vuelven a confirmarse los resultados descritos con anterioridad.

Respecto al CYP3A5*3 se observa una acumulación mayor de los eventos en el brazo de los individuos que portan el SNP, sin alcanzar la significación estadística.

Se ha encontrado sólo un paciente homocigoto en la muestra, que no presentó toxicidad.

En el caso del SNP localizado en el gen TUBB1, no se encontró ningún pacientes con trombopenia en portadores del polimorfismo, por lo que de acuerdo con los resultados previos, este SNP se comportaría como un factor protector de toxicidad sobre las plaquetas. Sin embargo, no se alcanzó la significación estadística ($p=0.59$).

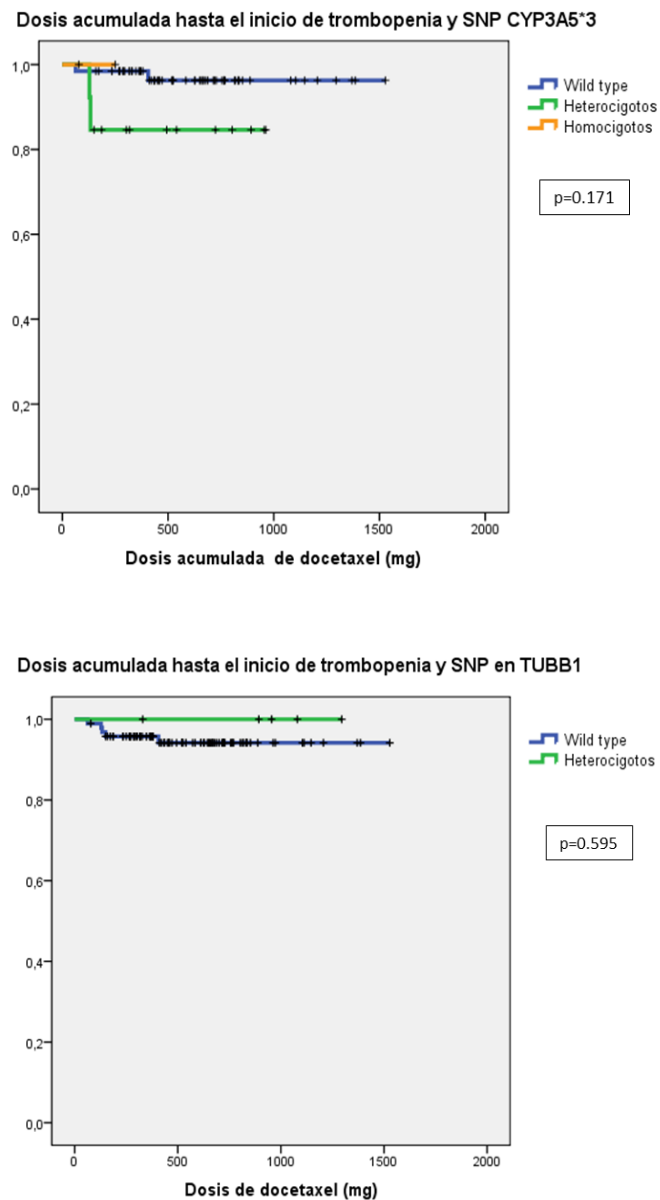


Figura 47. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de docetaxel hasta la aparición de trombopenia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

3.2.4 Anemia y asociación con portadores de polimorfismos

a) Presencia de anemia.

Se analiza mediante regresión logística binaria la asociación entre anemia y el hecho de ser portador de SNP por medio de los 3 modelos de herencia previamente descritos: aditivo (A), dominante (D) y recesivo (R), mediante un análisis univariable. No se encontró ninguna variable clínica asociada de una forma estadísticamente significativa a la presencia de anemia por lo que no se llevó a cabo análisis multivariable (apartado 2. 2).

No se encuentra asociación estadística significativa entre los SNP en CYP3A5*3 y TUBB1 y la existencia de anemia (tabla 35).

ANÁLISIS UNIVARIABLE				
	P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,891	1,096	,296	4,056
rs776746 (D)	,778	1,227	,296	5,086
rs776746 (R)	1,000	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	1,000	1,000	,106	9,471
rs35565630 (R)	No hay casos homocigotos para TUBB1			

Tabla 34. Regresión logística binaria entre presencia de trombopenia (SI/NO) y portadores de SNP

b) Días hasta la aparición de anemia.

Se analizó la asociación entre ser portador de un SNP en CYP3A5*3 o en TUBB1 y el tiempo que transcurre hasta la aparición de anemia.

Mediante regresión de COX se llevó a cabo un análisis univariable considerando los días transcurridos desde el inicio de la quimioterapia con docetaxel y la aparición de anemia. Posteriormente se realizó un análisis multivariable, incluyendo la dosis acumulada de docetaxel, de acuerdo a que fue el único factor clínico que resultó tener una asociación estadísticamente significativa con la anemia (ver apartado 2. 2).

No se encontraron diferencias significativas entre el número de días hasta el inicio de anemia y ser portador de polimorfismos en CYP3A5 o TUBB1 (tabla 36).

ANÁLISIS UNIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,674	1,284	,400	4,119
rs776746 (D)	,554	1,476	,406	5,369
rs776746 (R)	,783	,049	2,245E-11	1,053E+08
rs35565630 (A/D)	,912	,893	,119	6,712
ANÁLISIS MULTIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,888	1,082	,360	3,257
rs776746 (D)	,641	1,361	,373	4,967
rs776746 (R)	,985	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	,529	1,939	,246	15,272
rs35565630 (R)	No hay casos homocigotos para TUBB1			

Tabla 35. Regresión de COX relacionado los días hasta el inicio de la anemia y los portadores de SNP

Se realizó asimismo una evaluación de la asociación entre la anemia y los portadores homocigotos/heterocigotos para ambos polimorfismos, mediante curvas de Kaplan Meier.

No se encontró un patrón de acumulación de casos relevante ni significación estadística para el SNP en CYP3A*3 o para el SNP localizado en el gen TUBB1.

Sólo se encontró un paciente homocigoto para el polimorfismo en CYP3A en los pacientes con anemia tratados con docetaxel (figura 48).

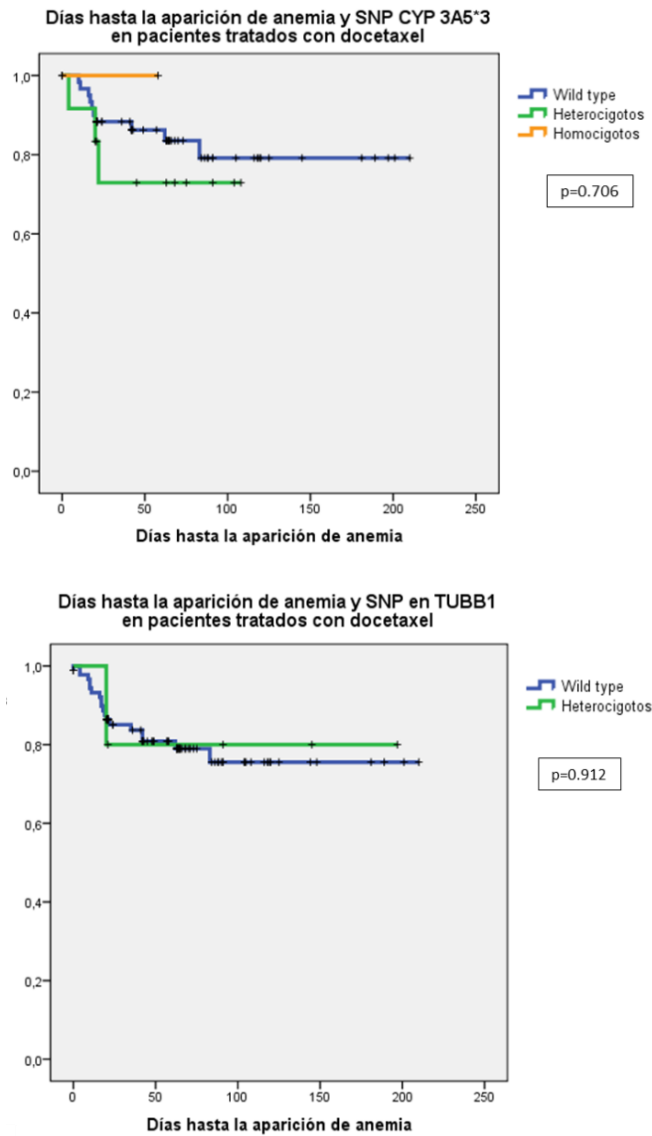


Figura 48. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de anemia, en pacientes tratados con docetaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

c) Dosis hasta el inicio de anemia.

Se analiza la asociación entre ser portador de un SNP en CYP3A5*3 o en TUBB1 y la dosis de docetaxel administrada hasta la aparición de anemia.

Mediante regresión de COX se realizó un análisis univariable considerando la dosis de docetaxel (en miligramos) desde el inicio de la quimioterapia y la aparición de anemia. En un segundo lugar, teniendo en cuenta el análisis de factores clínicos asociados de una forma estadísticamente significativa con esta variable, se realizó

un análisis multivariable, incluyendo la dosis total acumulada de docetaxel. No se encontró significación estadística (tabla 37).

ANÁLISIS UNIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,651	1,321	,396	4,410
rs776746 (D)	,584	1,429	,398	5,136
rs776746 (R)	,838	,049	1,255E-14	1,898E+11
rs35565630 (A/D)	,787	,757	,100	5,738
ANÁLISIS MULTIVARIABLE				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,788	1,175	,363	3,796
rs776746 (D)	,663	1,331	,367	4,824
rs776746 (R)	,989	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	,722	1,458	,183	11,584
rs35565630 (R)	No hay individuos homocigotos para TUBB1			

Tabla 36. Regresión de COX entre dosis de docetaxel hasta inicio de anemia y portadores de SNP.

A través de curvas Kaplan Meier se estudia la relación entre la dosis de docetaxel acumulada hasta la aparición de anemia significativa en los hemogramas y los polimorfismos en CYP3A5 y TUBB1, sin encontrar diferencias (figura 49).

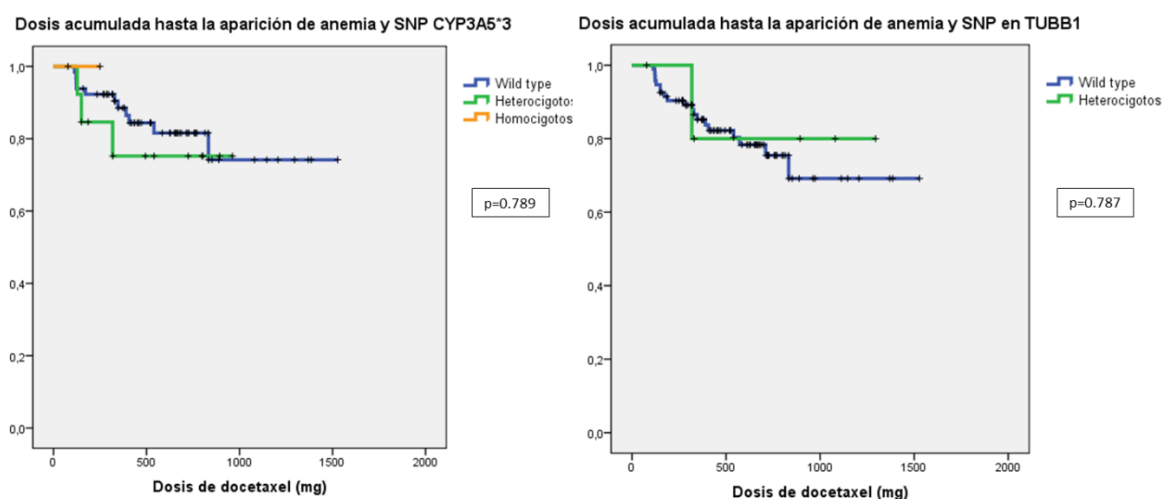


Figura 49. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y la dosis de docetaxel acumulada hasta la aparición de anemia. Representación mediante curvas de Kaplan Meier

3.2.5 Presencia de toxicidad hematológica en alguna de las 3 series y asociación con portadores de polimorfismos

Se crea una nueva variable en la que se asigna 1 a los pacientes que presentaron durante el tratamiento con docetaxel algún tipo de toxicidad hematológica (neutropenia y/o trombopenia y/o anemia), y con el valor 0 aquellos pacientes en los que no se detectó mielosupresión significativa. Se ponderó asimismo por aquellos pacientes que no recibieron tratamiento profiláctico con filgrastim, que como se ha descrito con anterioridad era un factor determinante en la presencia de neutropenia.

Mediante regresión logística binaria se estudió en un primer paso la asociación entre las diferentes variables clínicas y esta nueva variable, encontrando que el tipo de tratamiento recibido (paliativo, adyuvante o neoadyuvante) y el número de esquemas previos se asociaban de una forma significativa a la misma con una $p=0.036$ y $p=0.054$ respectivamente. Se encuentra una tendencia a la significación estadística entre el SNP en CYP3A5 y un mayor riesgo de presentar de neutropenia ($p= 0.06$, OR 8.0, IC 95% 0.91-70.28), sin alcanzar la significación estadística en el análisis multivariable (tabla 37).

Toxicidad hematológica y SNP				
ANALISIS UNIVARIABLE				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,207	2,936	,550	15,661
rs776746 (D)	,061	8,000	,911	70,275
rs776746 (R)	1,000	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	1,000	,000	,000	.
ANALISIS MULTIVARIABLE (tipo tto y nº esquemas previos)				
	P	OR	I.C. 95%	
			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,525	1,793	,296	10,841
rs776746 (D)	,182	5,056	,468	54,605
rs776746 (R)	1,000	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	1,000	,000	,000	.

Tabla 37. Relación entre la presencia de toxicidad hematológica en alguna de las 3 series y presencia de SNPs, en pacientes tratados con docetaxel. No existen portadores homocigotos para TUBB1.

4. ANÁLISIS DE RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA PALIATIVA EN PACIENTES TRATADOS CON MONOTERAPIA CON TAXANOS.

Se estudiaron las posibles asociaciones entre factores clínicos y genéticos de respuesta a la quimioterapia paliativa con taxanos.

Para realizar este análisis se incluyen sólo aquellos pacientes tratados con quimioterapia paliativa, obteniendo un tamaño muestral de 70 pacientes para paclitaxel y 76 pacientes para docetaxel.

Además se crea una nueva variable llamada “beneficio clínico” en la que se incluyen las respuestas estables, respuestas parciales y respuestas completas al tratamiento quimioterápico.

4. 1 RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA Y VARIABLES CLÍNICAS

Se analizan diferentes variables clínicas que podrían estar asociadas a la respuesta al tratamiento taxanos y el beneficio clínico obtenido, mediante regresión logística binaria.

4.1.1 Paclitaxel

RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA Y VARIABLES CLINICAS				
	P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	,812	,995	,955	1,037
Sexo	,355	1,584	,598	4,196
IMC	,513	,807	,424	1,536
Localización tumoral	,239	5,000	,344	72,767
Histología	,999	2,610E+18	,000	.
Esquema de quimioterapia	,427	2,559	,252	25,954
Dosis total acumulada	,0003	1,002	1,001	1,003
Número de esquemas previos	,308	,765	,457	1,280

Tabla 38. Regresión logística binaria entre la variable beneficio clínico (que comprende respuesta o estabilización obtenida tras tratamiento con paclitaxel) y diferentes factores clínicos.

En el caso de paclitaxel sólo se encuentra asociación estadísticamente significativa entre la dosis de paclitaxel acumulada desde el inicio al final del tratamiento (en miligramos) y el beneficio clínico obtenido, por lo que esta variable se incluyó en los análisis multivariados posteriores (tabla 38).

4.1.2 Docetaxel

En el caso de docetaxel no se encuentra asociación significativa en ninguna de las variables incluidas en el análisis, por lo que no se realiza análisis multivariable posterior (tabla 39).

RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA Y VARIABLES CLINICAS				
	P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	,281	,975	,932	1,021
Sexo	,265	1,771	,648	4,842
IMC	,111	1,598	,898	2,841
Localización tumoral	,135	3,667	,666	20,191
Histología	,301	4,000	,288	55,471
Esquema de quimioterapia	,707	1,208	,450	3,246
Dosis total acumulada	,007	1,002	1,001	1,003
Número de esquemas previos	,499	,809	,437	1,496

Tabla 39. Regresión logística binaria entre la variable beneficio clínico (que comprende respuesta o estabilización obtenida tras tratamiento con docetaxel) y diferentes factores clínicos.

4. 2 RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA Y TOXICIDAD HEMATOLÓGICA

Se estudió la asociación entre la respuesta a la quimioterapia con taxanos y la presencia de toxicidad hematológica. Se añadió asimismo la profilaxis con factores estimulantes de colonias en el análisis.

4. 2. 1 Paclitaxel

Se realizó un análisis univariable entre la respuesta a la quimioterapia paliativa con paclitaxel y la toxicidad hematológica mediante regresión logística binaria, sin encontrar significación estadística (tabla 40).

BENEFICIO CLÍNICO Y TOXICIDAD HEMATOLÓGICA								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I. C. 95%		P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
Profilaxis con filgrastim	,999	4,724E-10	,000	.	,999	2,391E-10	,000	.
Presencia de neutropenia	,975	,978	,239	4,004	,622	1,530	,283	8,278
Presencia de trombopenia	,834	1,241	,165	9,358	,827	1,290	,132	12,644
Presencia de anemia	,570	1,318	,509	3,412	,852	1,111	,367	3,360
Toxicidad hematológica en alguna de las 3 series	,505	1,385	,532	3,601	,722	1,222	,406	3,681

Tabla 40. Regresión logística binaria entre la variable beneficio clínico (que comprende respuesta o estabilización obtenida tras tratamiento con paclitaxel) y toxicidad hematológica.

4. 2. 2 Docetaxel

Se realizó un análisis univariable entre la respuesta a la quimioterapia paliativa con docetaxel y la toxicidad hematológica mediante regresión logística binaria, sin encontrar significación estadística (tabla 41).

BENEFICIO CLÍNICO Y TOXICIDAD HEMATOLÓGICA								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I. C. 95%		P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
Profilaxis con filgrastim	,389	,667	,265	1,678	,882	,927	,341	2,522
Presencia de neutropenia	,624	1,320	,435	4,002	,571	1,397	,440	4,442
Presencia de trombopenia	,999	,000	,000	.	,999	,000	,000	.
Presencia de anemia	,778	1,163	,408	3,310	,574	1,377	,451	4,201
Toxicidad hematológica en alguna de las 3 series	,492	1,400	,536	3,654	,354	1,620	,584	4,492

Tabla 41. Regresión logística binaria entre la variable beneficio clínico (que comprende respuesta o estabilización obtenida tras tratamiento con docetaxel) y toxicidad hematológica.

4. 3 RESPUESTA A LA QUIMIOTERAPIA CON TAXANOS Y ASOCIACIÓN CON PORTADORES DE POLIMORFISMOS.

Se estudió la asociación entre la respuesta a la quimioterapia con taxanos y la presencia de polimorfismos en alguno de los 4 genes estudiados, relacionados con la farmacocinética y farmacodinamia de estos agentes anti-microtúbulo.

4.3.1 Paclitaxel

En el caso de paclitaxel se encontró una asociación estadísticamente significativa para el SNP CYP2C8*3 en el análisis multivariable (ajustado por dosis acumulada de paclitaxel), que se relacionaría con la presencia de respuesta (estable, parcial o completa) a la quimioterapia.

No se encontró asociación estadísticamente significativa en el modelo recesivo (tabla 42).

MODELO ADITIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I. C. 95%		P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (A)	,901	1,107	,224	5,463	,635	,613	,081	4,613
rs35565630 (A)	,896	1,207	,072	20,150	,553	2,438	,128	46,474
rs11572080 (A)	,145	1,943	,795	4,748	,028	3,864	1,157	12,910
rs1113129 (A)	,094	,443	,171	1,148	,187	,434	,125	1,501

MODELO DOMINANTE								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I. C. 95%		P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (D)	,901	1,107	,224	5,463	,635	,613	,081	4,613
rs35565630 (D)	,896	1,207	,072	20,150	,553	2,438	,128	46,474
rs11572080 (D)	,100	2,414	,845	6,897	,023	5,284	1,256	22,234
rs1113129 (D)	,111	,390	,122	1,242	,083	,274	,063	1,186

MODELO RECESIVO

	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I. C. 95%		P	OR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior			Inferior	Superior
rs776746 (R)	No hay casos homocigotos en la serie							
rs35565630 (R)								
rs11572080 (R)	,411	2,800	,240	32,601	,218	6,137	,342	110,025
rs1113129 (R)	,331	,325	,034	3,138	,850	1,266	,109	14,731

Tabla 42. Asociación entre la respuesta a la quimioterapia y ser portador de SNP en pacientes tratados con paclitaxel en monoterapia.

4.3.2 Docetaxel

En cuanto a docetaxel, no se encontró significación estadística asociada a la presencia de los polimorfismos estudiados en CYP3A5 y TUBB1 y la respuesta a este tipo de quimioterapia (tabla 43).

MODELO ADITIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	OR	I. C. 95%		P	OR	I. C. 95%	
			Lower	Upper			Lower	Upper
rs776746 (A)	,683	1,321	,346	5,045	,622	1,405	,363	5,432
rs776746 (D)	,403	2,000	,394	10,158	,392	2,054	,395	10,692
rs776746 (R)	1,000	,000	,000	.	1,000	,000	,000	.
rs35565630 (A/D)	,443	2,615	,225	30,434	,627	1,885	,146	24,399
rs35565630_R	No hay casos homocigotos para TUBB1							

Tabla 43 Asociación entre la respuesta a la quimioterapia y ser portador de SNP en pacientes tratados con docetaxel en monoterapia.

5. ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

La media de supervivencia global en la serie fue de 17.68 meses (mediana 17.68, desviación típica 21.69).

La supervivencia más larga encontrada corresponde a los pacientes con cáncer de mama (media 44.60 meses, DT 33.20), seguidos de los pacientes con cáncer de próstata, y cabeza y cuello.

La supervivencia global más corta encontrada en la muestra pertenece al grupo de los pacientes con tumores digestivos (media 6 meses, DT 3.44), seguidos de los pacientes con tumores uroteliales, ginecológicos y cáncer de pulmón (tabla 44 y figura 50).

SUPERVIVENCIA GLOBAL (QT PALIATIVA)				
Localización tumoral	Media	Mediana	N	Desviación típica
CABEZA Y CUELLO	13.64	9.50	14	11.270
T. DIGESTIVOS	6.00	6.00	11	3.435
MAMA	44.60	36.00	25	33.201
PRÓSTATA	19.46	16.00	28	16.888
PULMÓN	11.34	9.00	35	12.598
T. GINECOLÓGICOS	10.42	6.00	12	12.229
VEJIGA	6.83	5.00	18	6.609
Total	17.68	10.00	146	21.690

Tabla 44. Supervivencia global de los pacientes incluidos en la serie (n=197) en función de la localización del tumor primario.

Supervivencia global de pacientes que recibieron quimioterapia paliativa

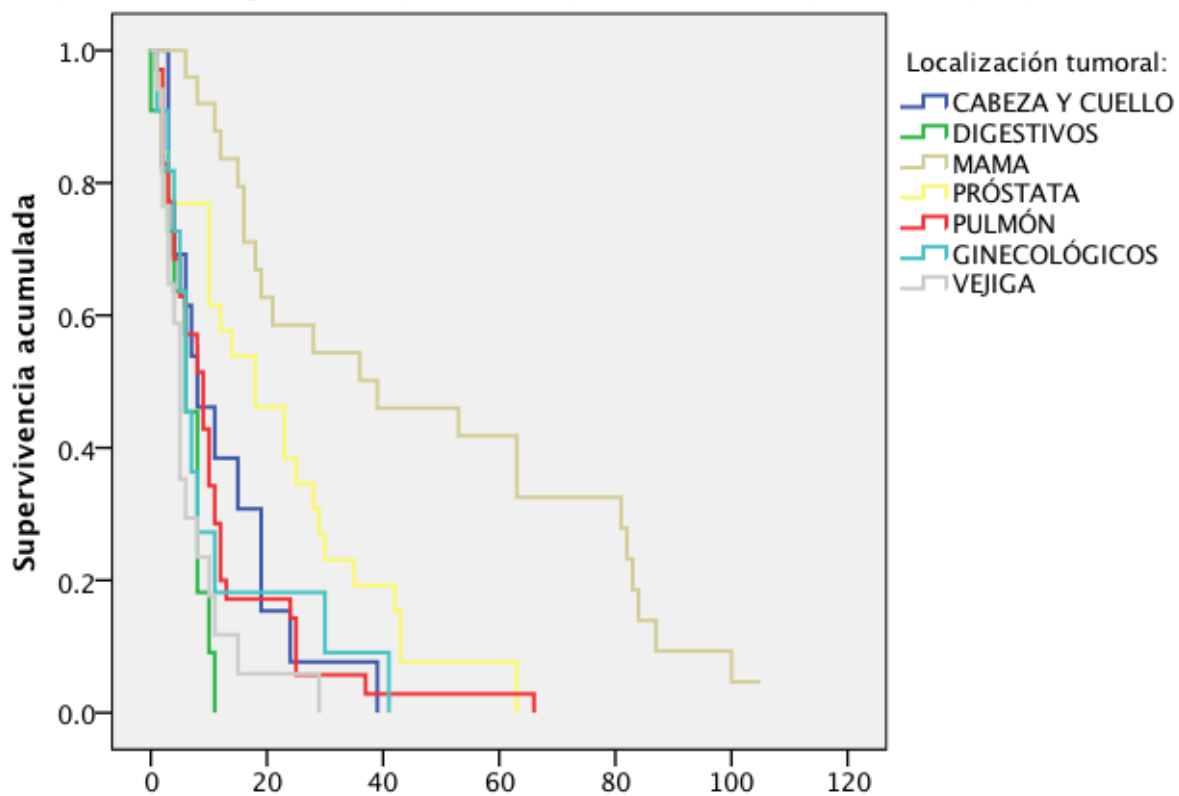


Figura 50. Análisis de supervivencia de la serie mediante curvas Kaplan Meier, en función de la localización tumoral.

5. 1 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA GLOBAL Y ASOCIACIÓN CON FACTORES CLÍNICOS EN PACIENTES QUE HAN RECIBIDO QUIMIOTERAPIA PALIATIVA CON TAXANOS.

Se realiza mediante regresión de COX un análisis univariable de los diferentes factores clínicos que podrían estar asociados a la supervivencia de los pacientes que han recibido tratamiento con taxanos, incluyendo sólo aquellos individuos que recibieron la terapia con finalidad paliativa.

5. 1. 2 Paclitaxel

En el caso de paclitaxel se encontró una asociación estadísticamente significativa para el sexo, la localización tumoral y la respuesta a la quimioterapia. Sin embargo, dado que ser mujer se relaciona con tener un cáncer de mama, que es uno de los factores que como hemos descrito previamente se asocia a un pronóstico más favorable, se decidió no incluir esta variable en el análisis multivariable posterior, tras comprobar que perdía su significación estadística actuando como un factor de confusión (tabla 45).

SUPERVIVENCIA GLOBAL Y FACTORES CLINICOS				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	,954	,999	,979	1,020
Sexo	,014	,510	,298	,875
Índice de masa corporal	,527	,905	,663	1,234
Localización tumoral	,004	1,184	1,057	1,327
Histología	,750	1,011	,946	1,080
Esquema de quimioterapia	,633	1,119	,705	1,775
Dosis total acumulada	,192	1,000	,999	1,000
Respuesta a la quimioterapia	,000	,394	,236	,657
Número de esquemas previos	,303	,864	,655	1,141

Tabla 45. Análisis de supervivencia global y factores clínicos relacionados, en pacientes tratados con paclitaxel.

5. 1. 3 Docetaxel

En el análisis de docetaxel se encontró una asociación estadísticamente significativa para el sexo, la localización tumoral, la respuesta a la quimioterapia y además (en el límite de la significación con una $p=0.05$) para la dosis total acumulada del fármaco.

De acuerdo con lo comentado previamente en el caso de paclitaxel, se excluyó asimismo el sexo del análisis multivariante posterior, por tratarse de un factor de confusión (que se traduce en un pronóstico más favorable por su asociación a los tumores de mama) (tabla 46).

SUPERVIVENCIA GLOBAL Y FACTORES CLINICOS				
	P	HR	I. C. 95%	
			Inferior	Superior
Edad	,341	1,012	,988	1,036
Sexo	,001	,368	,203	,666
Índice de masa corporal	,327	,864	,645	1,157
Localización tumoral	,000	1,590	1,283	1,971
Histología	,868	1,019	,815	1,275
Esquema de quimioterapia	,094	1,617	,921	2,838
Dosis total acumulada	,054	,999	,999	1,000
Respuesta a la quimioterapia	,001	,429	,260	,707
Número de esquemas previos	,231	1,230	,877	1,725

Tabla 46. Análisis de supervivencia global y factores clínicos relacionados, en pacientes tratados con docetaxel.

5. 2 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA GLOBAL Y ASOCIACIÓN CON TOXICIDAD HEMATOLÓGICA EN PACIENTES TRATADOS CON QUIMIOTERAPIA PALIATIVA CON TAXANOS.

Se ha estudiado mediante regresión de COX la posible asociación entre la presencia de toxicidad hematológica y el impacto en la supervivencia global de los pacientes tratados con taxanos con finalidad paliativa.

5. 2. 1 Paclitaxel

En el caso de paclitaxel se encontró una tendencia a la significación estadística en el análisis multivariable (ajustado por localización tumoral y respuesta al tratamiento) para la presencia de trombopenia ($p= 0. 067$, HR=3,083) o anemia ($p=0. 054$, HR= 1. 651) y un peor pronóstico.

Recibir profilaxis con filgrastim no condiciona en nuestra muestra un impacto en la supervivencia de los pacientes (tabla 47).

SUPERVIVENCIA GLOBAL Y TOXICIDAD HEMATOLÓGICA								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I. C. 95%		P	HR	I. C. 95%	
			Inf	Sup			Inf	Sup
Profilaxis con filgrastim	,274	3,044	,414	22,384	,558	1,831	,243	13,816
Presencia de neutropenia	,882	,950	,481	1,876	,953	,978	,464	2,061
Presencia de trombopenia	,084	2,865	,870	9,439	,067	3,083	,923	10,300
Presencia de anemia	,156	1,426	,874	2,329	,054	1,651	,990	2,751
Toxicidad hematológica en alguna de las 3 series	,463	1,199	,738	1,950	,211	1,398	,827	2,365

Tabla 47. Análisis de supervivencia global y presencia de toxicidad hematológica, en pacientes tratados con paclitaxel.

5. 2. 2 Docetaxel

En el análisis de docetaxel, se encuentra una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de neutropenia ($p=0.029$, $HR=0.513$) o trombopenia ($p=0.022$, $HR=0.276$) y la supervivencia global, objetivado en el análisis multivariable (ajustado por la localización tumoral, la respuesta al fármaco y la dosis total acumulada de docetaxel).

A diferencia del análisis con paclitaxel, la presencia de estas dos citopenias conferiría un mejor pronóstico a los pacientes tratados con docetaxel (tabla 48).

SUPERVIVENCIA GLOBAL Y TOXICIDAD HEMATOLÓGICA								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I. C. 95%		P	HR	I. C. 95%	
			Lower	Upper			Lower	Upper
Profilaxis con filgrastim	,503	,849	,527	1,369	,442	,803	,460	1,404
Presencia de neutropenia	,216	,693	,387	1,240	,029	,513	,283	,933
Presencia de trombopenia	,319	,595	,214	1,652	,022	,276	,091	,833
Presencia de anemia	,889	,962	,556	1,662	,565	,846	,478	1,497
Toxicidad hematológica en alguna de las 3 series	,542	,856	,519	1,411	,129	,668	,397	1,124

Tabla 48. Análisis de supervivencia global y presencia de toxicidad hematológica, en pacientes tratados con docetaxel.

5. 3 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA EN PACIENTES PORTADORES DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASOCIADOS A FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DE TAXANOS.

Mediante regresión de COX se realizó un análisis de la posible asociación entre los polimorfismos genéticos estudiados en nuestra serie y la supervivencia global de los pacientes tratados con docetaxel con finalidad paliativa.

5. 3. 1 Paclitaxel

En el caso de paclitaxel se encuentra una significación estadística entre el polimorfismo localizado en TUBB1 y la supervivencia global, con una $p=0.043$, $HR=4.652$ objetivado en el análisis multivariable ajustado por localización tumoral y respuesta a la quimioterapia. No se encuentran otras asociaciones (tabla 49, figura 51).

MODELO ADITIVO								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I. C. 95%		P	HR	I. C. 95%	
			Inf	Sup			Inf	Sup
rs776746 (A)	,624	1,221	,550	2,714	,280	1,571	,693	3,562
rs35565630 (A)	,314	2,081	,500	8,666	,043	4,652	1,049	20,637
rs11572080 (A)	,520	,859	,540	1,366	,863	,957	,578	1,584
rs1113129 (A)	,193	1,379	,850	2,236	,272	1,325	,802	2,188

MODELO DOMINANTE								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I. C. 95%		P	HR	I. C. 95%	
			Inf	Sup			Inf	Sup
rs776746 (D)	,624	1,221	,550	2,714	,280	1,571	,693	3,562
rs35565630 (D)	,314	2,081	,500	8,666	,043	4,652	1,049	20,637
rs11572080 (D)	,309	,762	,451	1,287	,775	,921	,522	1,623
rs1113129 (D)	,471	1,239	,692	2,217	,640	1,155	,631	2,113

MODELO RECESIVO								
-----------------	--	--	--	--	--	--	--	--

	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I. C. 95%		P	HR	I. C. 95%	
			Inf	Sup			Inf	Sup
rs776746 (R)	No existen individuos homocigotos en la serie							
rs35565630 (R)								
rs11572080 (R)	,654	1,307	,406	4,207	,303	1,887	,564	6,316
rs1113129 (R)	,070	2,442	,929	6,415	,071	2,484	,924	6,682

Tabla 49. Análisis de supervivencia global y su relación con ser portador de los polimorfismos estudiados, en pacientes tratados con paclitaxel.

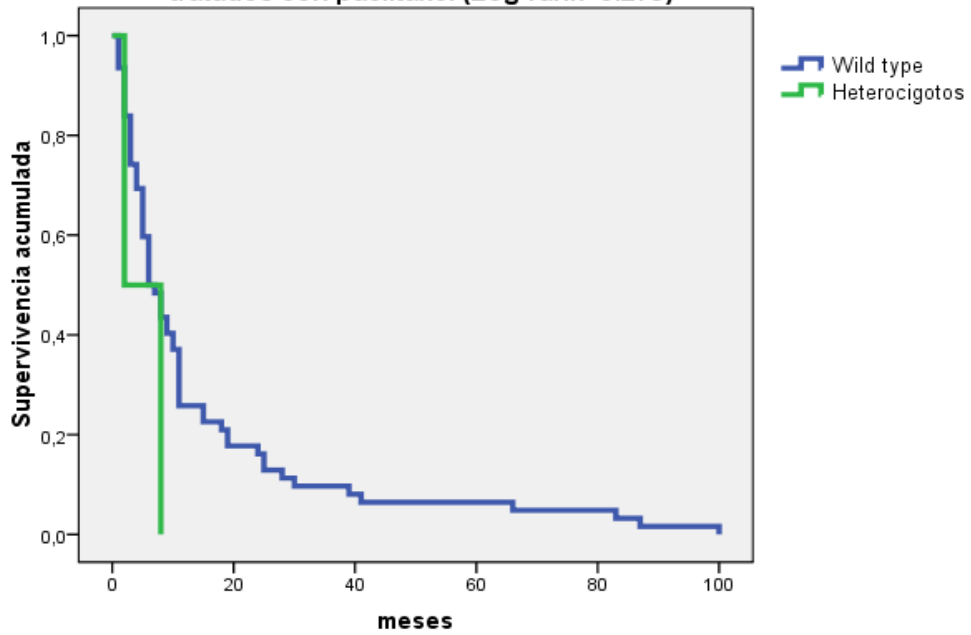
5. 3. 2 Docetaxel

Entre los resultados para docetaxel se encuentra de la misma forma que se ha descrito anteriormente para paclitaxel una asociación estadísticamente significativa entre la presencia del SNP en TUBB1 y una peor supervivencia global, con una $p=0.010$, $HR=5.889$ objetivado en el análisis multivariable ajustado por localización tumoral y respuesta a la quimioterapia. No se encuentran otras asociaciones (tabla 50, figura 51).

SUPERVIVENCIA GLOBAL Y PORTADORES DE POLIMORFISMOS								
	Univariable				Multivariable			
	P	HR	I. C. 95%		P	HR	I. C. 95%	
			Inf	Sup			Inf	Sup
rs776746 (A/D)	,697	1,175	,521	2,653	,991	1,005	,416	2,430
rs35565630 (A/D)	,055	3,201	,978	10,479	,010	5,889	1,521	22,798
No existen individuos homocigotos								

Tabla 50. Análisis de supervivencia global y su relación con ser portador de los polimorfismos estudiados, en pacientes tratados con paclitaxel.

Supervivencia global en portadores del polimorfismo en TUBB1 tratados con paclitaxel (Log-rank=0.279)



Supervivencia global en portadores de polimorfismo en TUBB1 tratados con docetaxel (Log-rank 0.035)

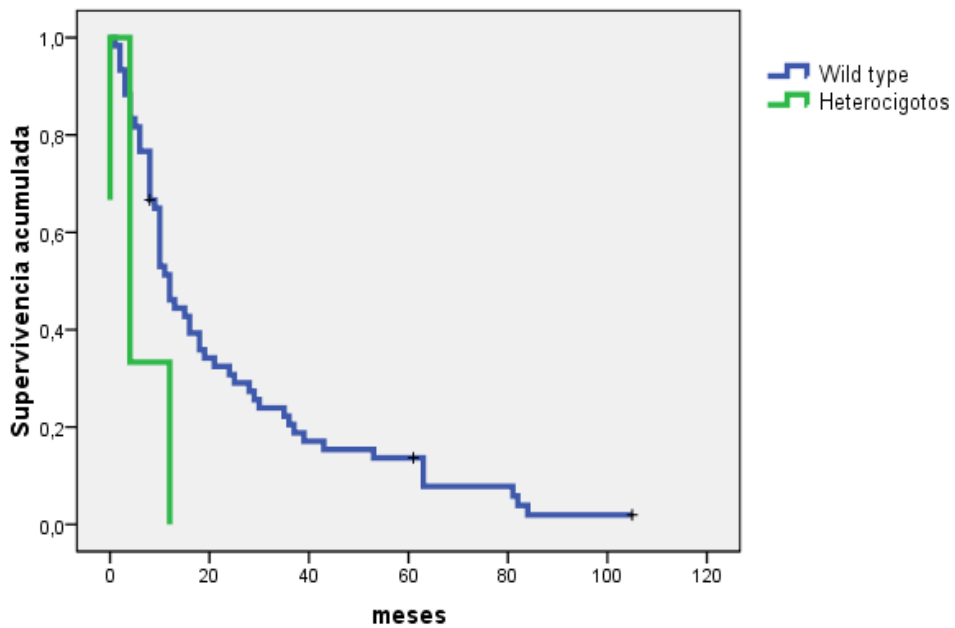
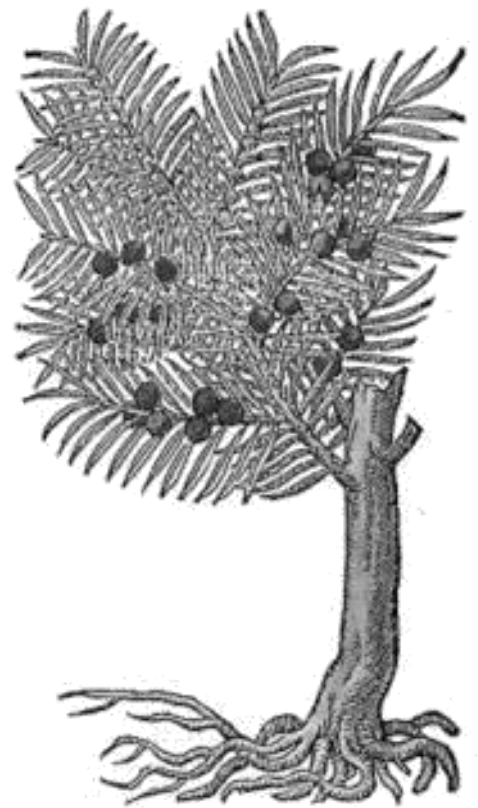


Figura 51. Representación mediante curvas Kaplan Meier de la supervivencia global en pacientes portadores de SNP en TUBB1 tratados con paclitaxel y docetaxel.

CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES



Los estudios en búsqueda de biomarcadores que identifiquen a los pacientes que pueden beneficiarse con seguridad de una terapia y con un menor riesgo de presentar toxicidad se han incrementado exponencialmente en los últimos años, coincidiendo asimismo con el importante desarrollo en genética que culminó con la secuenciación del genoma humano⁷⁷.

Hoy en día sabemos que el porcentaje de pacientes que no responde a fármacos de uso común oscila entre el 20 y el 75%⁷², lo que aplicado al ámbito de Oncología puede ser completamente dramático ya que el fracaso de una primera terapia con finalidad curativa puede llevar a la progresión de una enfermedad que sea ya difícilmente controlable.

De esta forma, los médicos nos encontramos muchas veces en una complicada situación, en la que el porcentaje de respuestas que esperamos con un determinado tratamiento es menor que el de pacientes que lo recibirán sin obtener ningún tipo de beneficio. Y a día de hoy, aún son pocas las herramientas de las que disponemos para tomar ese tipo de decisiones, fundamentalmente datos clínicos e histológicos con una finalidad principalmente pronóstica y sólo en casos muy seleccionados con un valor predictivo como por ejemplo el estado de HER2 en el cáncer de mama¹¹³. En cuanto al tratamiento con quimioterapia, el reto es aún más complicado, ya que los efectos secundarios de este tratamiento sistémico son destacadamente relevantes y potencialmente mortales⁵¹.

En esta tesis se eligió la monoterapia con taxanos por ser este grupo terapéutico uno de los pilares de la estrategia antineoplásica de una parte muy importante de los pacientes con cáncer, tanto en enfermedad adyuvante o neoadyuvante en el que el intento es radical y curativo, como en la enfermedad avanzada, cuando la finalidad es paliativa. En cualquier circunstancia, es esencial la elección del fármaco y muchas veces el oncólogo basa precisamente su decisión en el perfil de tolerabilidad cuando dispone de varios quimioterápicos que presentan un

porcentaje de eficacia similar. En el caso de los pacientes que reciben un tratamiento curativo, porque las secuelas derivadas del mismo pueden acompañarle durante toda su vida, y en el caso de los pacientes paliativos, porque uno de los objetivos principales será mejorar su calidad de vida y síntomas, y tratándose de personas especialmente frágiles el límite entre beneficio y efectos secundarios muchas veces será estrecho.

A pesar de que muchos esquemas de quimioterapia usan combinaciones con otros fármacos, en este trabajo elegimos exclusivamente a aquellos pacientes que habían recibido monoterapia con taxanos para evitar posibles sesgos. Dado que se trata de un estudio llevado a cabo en una sola institución, con el fin de aumentar el tamaño muestral se realizó un análisis retrospectivo en el que se incluyó a todos los pacientes que habían recibido paclitaxel o docetaxel en el Hospital Universitario Fundación Alcorcón entre los años 2000-2009. La información clínica se recogió con la ayuda de las herramientas informáticas de las que el centro dispone y que se comentaron previamente en el Capítulo 2, asegurando la veracidad y evitando la confusión de los datos extraídos de manuscritos.

Los tejidos fijados y embebidos en parafina son una fuente importante de material para diagnóstico e investigación; sin embargo, ésta fue probablemente una de las limitaciones más importantes de este estudio. En primer lugar, porque de los 363 pacientes incluidos inicialmente, sólo pudimos obtener material de 197 individuos ya que en el resto de los casos las muestras procedían de biopsias o bien el diagnóstico se había llevado a cabo en otro centro y no disponíamos del material. En segundo lugar, otro problema de trabajar con parafinas es el porcentaje de muestras en las que no se pudo extraer ADN de la suficiente calidad para llevar a cabo la amplificación del mismo. A pesar de utilizar un protocolo de extracción normalizado, la amplificación de ADN desde este tipo de tejidos, mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es afectada por el tipo de fijador y los tiempos de fijación empleados¹¹⁴. Principalmente, los problemas de las amplificaciones cuando se trabaja con DNA extraído a partir de tejido fijado en parafina se han asociado con una disminución de los rendimientos y de la incapacidad de la PCR para amplificar fragmentos de ADN de gran tamaño estimándose un porcentaje de éxito

en torno al 60-80%. En esta tesis, la tasa de ineficiencia de ADN extraído de parafina fue del 13.7%, similar a lo descrito en la literatura¹¹⁵. En los últimos años, nuevos métodos para mejorar el rendimiento de estas técnicas en procesos de genotipado han sido descritos¹¹⁶.

La toxicidad elegida fue la hematológica, ya que se trata del factor limitante de dosis del tratamiento con taxanos. Además, otro punto a su favor aparte de la relevancia clínica es que se trataba de una información objetiva, que podíamos recoger de forma retrospectiva a pesar de que el oncólogo no lo hubiera incluido en la historia clínica (a diferencia de otras toxicidades como la neurológica). Por ello, nosotros extrajimos la información directamente de los hemogramas de los pacientes coincidiendo con los episodios de las consultas para confirmar los ciclos de quimioterapia, o si los hubiera, de aquellas analíticas realizadas en el servicio de urgencias siempre que el paciente consultase por algún síntoma relacionado con citopenias. Dado que se trata de un estudio retrospectivo, no disponíamos de datos de toxicidad en el nadir del tratamiento, ya que ésta determinación no forma parte de la práctica asistencial habitual y nuestra búsqueda fue principalmente dirigida a la relevancia clínica de la mielosupresión. Los valores de corte en la cifra de neutrófilos, hemoglobina y plaquetas empleados a la hora de recoger la toxicidad fueron aquellos empleados en la práctica clínica para la indicación de quimioterapia.

Para la elección de los polimorfismos utilizamos una estrategia de genes candidatos basándonos en los estudios previos realizados por el grupo de Cristina Rodríguez-Antona en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas con el que colaboramos en este trabajo y que se han descrito con anterioridad en el Capítulo 1. De esta forma se seleccionaron 4 SNP que podrían estar asociados a la toxicidad hematológica por paclitaxel y 2 SNP que podrían estar asociados a la toxicidad hematológica por docetaxel. Dada su relación con la farmacocinética y farmacodinamia del fármaco se analizó asimismo la asociación entre la presencia de estas variantes y una posible diferencia en la respuesta al tratamiento y en el pronóstico de la enfermedad.

Polimorfismos asociados al metabolismo de los taxanos

En esta tesis se estudió la asociación entre la presencia de toxicidad hematológica y ser portador de polimorfismos localizados en los citocromos que metabolizan paclitaxel y docetaxel.

En el caso de paclitaxel se encontró una tendencia a la significación para el SNP en TUBB1 y la neutropenia en el modelo dominante ($p=0.077$, HR=6.433, IC 95% 0.82-50.48) que actuaría como factor de riesgo a diferencia de lo publicado previamente por Leandro-García et al¹¹². Sin embargo, no se confirma en el análisis multivariante ($p=0.106$).

En cuanto a los SNP localizados en CYP2C8 se encontró significación estadística en el modelo recesivo y los días transcurridos hasta la aparición de anemia para el SNP CYP2C8 haplotipo C en el análisis multivariante ($p=0.045$, HR=3.052, IC 95% 1.02-9.11), lo que supondría que ser homocigoto para este polimorfismo sería un factor de riesgo para presentar anemia por paclitaxel, de forma contraria a lo publicado previamente¹⁰². Si bien es cierto que en el caso de la anemia los resultados pueden ser menos extrapolables por las múltiples causas que podrían interferir en la presencia de un descenso en las cifras de hemoglobina en un paciente con cáncer. Por ello, creemos necesario incluir en futuros estudios parámetros de relevancia para el estudio de la anemia como pudiera ser la presencia de enfermedad metastásica con afectación ósea, sangrado activo o comorbilidad importante, que en nuestro trabajo no fueron recogidos y por tanto, no se pudo corregir estos factores mediante análisis multivariable.

No se ha encontrado asociación estadísticamente significativa para el SNP CYP2C8*3. Los estudios sobre la acción del polimorfismo CYP2C8*3 en el metabolismo de paclitaxel son controvertidos, existiendo trabajos que sugieren una menor actividad^{117,118}, y otros en los que se ha descrito un aumento en la

capacidad metabolizadora de este alelo^{90,119,120}. En los últimos años este polimorfismo se ha convertido en uno de los más estudiados en pacientes tratados con paclitaxel arrojando estos trabajos luz sobre el papel del mismo. Así, en 2011 un estudio publicado por Bergmann en 93 pacientes con cáncer de ovario tratadas con carboplatino+paclitaxel apunta a una reducción del 11% en el aclaramiento del fármaco en pacientes portadoras ($p=0.03$)¹²¹, por lo que la presencia del SNP CYP2C8*3 podría conferir un riesgo aumentado de toxicidad. Además en los últimos años se han publicado dos estudios (con tamaño muestral $n=111$ y $n=411$ respectivamente) que analizaban la toxicidad neurológica en pacientes con cáncer de mama tratados con paclitaxel portadores de este polimorfismo, encontrando en ambos un aumento en la incidencia de neurotoxicidad^{102,122,123}.

Entre los hallazgos más interesantes de los resultados de esta tesis se encuentra el hecho de que no se hayan encontrado en el trabajo pacientes afectados por neutropenia o trombopenia que porten el SNP en CYP3A5*3. Aun teniendo en cuenta los posibles sesgos comentados previamente sobre multicausalidad de la anemia sólo se encontró un paciente portador del polimorfismo en CYP3A5 entre los tratados con paclitaxel, por lo que este polimorfismo podría ser un factor protector de toxicidad hematológica de acuerdo con lo publicado previamente^{102,89}. Sin embargo un estudio de menor tamaño muestral publicado en 2011 en 33 pacientes con cáncer de ovario tratadas con la combinación de carboplatino y paclitaxel mostraba que los portadores del SNP CYP3A5*3 presentaban una cifra más reducida de leucocitos y neutrófilos en nadir ($p=0.07$) y que este valor cobraba significación estadística cuando las pacientes presentaban además el CYP2C8 Haplotipo C ($p=0.01$)¹²⁴.

Los polimorfismos localizados en los citocromos CYP2C8 y CYP3A5 han sido analizados previamente en 118 pacientes tratados con paclitaxel en monoterapia buscando la asociación con neurotoxicidad¹⁰². En este trabajo llevado a cabo por el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) se seleccionaron inicialmente 13 SNP potencialmente relevantes en el metabolismo del fármaco que se localizaban en enzimas y transportadores como la glicoproteína P. Después de ajustar por edad y esquema de tratamiento, CYP2C8 Haplotipo C y CYP3A5*3

fueron asociados con protección (HR=0.55; 95% IC=0.34-0.89, p=0.014 y HR=0.51, 95% IC=0.30-0.86, p=0.012 respectivamente) y CYP2C8*3 se asoció con riesgo aumentado de neurotoxicidad (HR=1.72, 95% IC=1.05-2.82, p=0.032). Como la toxicidad neurológica es dependiente de dosis, se calculó la dosis acumulada de paclitaxel a partir de la cual aparecería neurotoxicidad relevante y se confirmó que las dosis densas de tratamiento (en concreto esquemas con paclitaxel a 80-90mg/m² administrados semanalmente) suponían un factor de riesgo, de acuerdo con lo publicado previamente^{61,125}. Respecto a la edad, los datos con inconcluyentes^{126,127} aunque en el trabajo de Leskela et al parece que los pacientes más jóvenes (por debajo de 50 años) tendrían más riesgo de padecer neurotoxicidad. Sin embargo, otros estudios publicados han obtenido resultados contradictorios^{100,101}. Marsh et al no encontraron asociación estadísticamente significativa si bien es cierto que en este estudio el análisis de neurotoxicidad no fue el objetivo principal, mientras Green et al describieron que CYP2C8*3 podría ser un factor de riesgo de neurotoxicidad de acuerdo con los resultados del grupo de Rodríguez-Antona.

Respecto a docetaxel, la evidencia es más limitada y sólo hemos encontrado un trabajo en el que se analiza la presencia del polimorfismo CYP3A5*3 y la toxicidad. Se trata de un estudio en el que se incluyen 59 pacientes de Taiwan con cáncer de mama que reciben el triplete TEC (docetaxel, epirrubicina, ciclofosfamida) administrando 6 ciclos y en las que se analizan SNP en CYP3A4, CYP3A5 y el gen ABCB1¹²⁸. Entre los resultados se encuentra que las pacientes portadoras de CYP3A5*1/*3 presentaron más neutropenia febril que aquellas que poseían el polimorfismo CYP3A5*3 (p = 0.03), por lo que nuestro SNP estudiado actuaría como factor protector de acuerdo a lo expuesto previamente con paclitaxel.

Entre los resultados de esta tesis no encontramos asociación estadísticamente significativa entre los 4 polimorfismos estudiados y la presencia de neutropenia o trombopenia o anemia con docetaxel. Sin embargo, cuando se agrupó la toxicidad en una variable en la que se recogieron aquellos pacientes que presentaron durante el tratamiento algún tipo de citopenia (neutropenia y/o trombopenia y/o anemia) se encuentra una tendencia a la significación para el SNP CYP3A5*3

($p=0.068$, HR=6, IC 95% 0.91-70.28) que no se confirma en el análisis multivariable ($p=0.182$).

Llama la atención la ausencia de casos de neutropenia en portadores heterocigotos del SNP CYP3A5*3 que han recibido filgrastim. Sin embargo cuando se pondera por aquellos pacientes que no han recibido factores estimulantes de colonias se observa mediante la representación Kaplan Meier que las curvas se invierten y los pacientes portadores del SNP son los que tienen más eventos. Esta tendencia a que el polimorfismo en CYP3A5 actuara como factor de riesgo para neutropenia sería contrario a lo publicado previamente. No obstante, no se alcanza la significación estadística.

Polimorfismos asociados a la diana terapéutica de los taxanos

En esta tesis no se ha encontrado una asociación estadísticamente significativa entre ser portador del polimorfismo en TUBB1 T274M y la presencia de toxicidad hematológica. Entre los resultados observamos una tendencia a la significación entre el SNP y la dosis hasta la aparición de neutropenia en pacientes tratados con paclitaxel ($p=0.077$, HR=6.433, incidencia 95% 0.820-50.472) que sin embargo no se confirma en el análisis multivariable ($p=0.106$).

Respecto a docetaxel, en el análisis de neutropenia se observa mediante la representación de Kaplan-Meier un cambio en la distribución de las curvas cuando se pondera la muestra en función de la presencia o no de pacientes que hubieran recibido profilaxis con filgrastim que actúa como factor de confusión. De esta forma se sugiere que el polimorfismo en TUBB1 podría funcionar factor de riesgo para el desarrollo de neutropenia sin obtenerse significación estadística ($p=0.912$). Estos resultados se encontrarían limitados por la baja frecuencia del SNP ya que sólo 5 pacientes tratados con docetaxel fueron portadores así como el bajo número de eventos (18 pacientes con neutropenia) (figura 44).

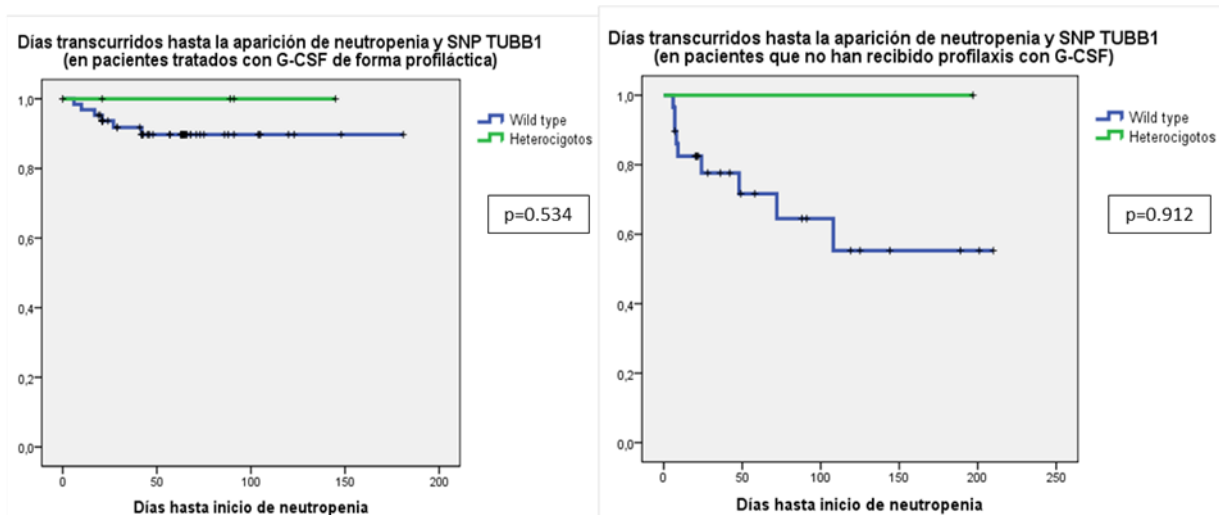


Figura 52. Análisis mediante regresión de COX de la presencia de SNPs y los días hasta la aparición de neutropenia, en pacientes tratados con docetaxel. Representación mediante curvas de Kaplan Meier.

El SNP en TUBB1 incluido en esta tesis se ha encontrado específicamente en células hematopoyéticas³⁸ por lo que se ha sugerido como predictor de toxicidad por taxanos. Como se describió en el Capítulo 1, el polimorfismo T274M analizado en este trabajo ha sido estudiado previamente en una serie de 49 pacientes con neoplasias hematológicas tratadas con paclitaxel de inducción a altas dosis, encontrando que los pacientes portadores del SNP se asociaron a una menor incidencia de trombopenia ($p=0.031$)¹¹².

Entre los resultados de nuestro trabajo se analizó la relación entre la respuesta al tratamiento (agrupando en una variable las respuestas estables, parciales o completas) y ser portador de uno de los 4 polimorfismos estudiados.

Se encontró una asociación estadísticamente significativa para el SNP CYP2C8*3 en el modelo dominante ($p=0.023$, HR=5.284, IC 95% 1.26-22.23) y la respuesta, por lo que este polimorfismo podría actuar como un factor predictivo de la respuesta a paclitaxel independiente de otras variables clínicas. Este hallazgo sería concordante con lo publicado previamente por Hertz et al en 2012, en un estudio que incluía 111 pacientes con cáncer de mama donde se analizó el papel del SNP CYP2C8*3 y la respuesta al tratamiento, encontrando que las pacientes portadoras del polimorfismo tratadas con paclitaxel de forma neoadyuvante, tenían mayor tasa de respuesta completa (55% vs. 23%; OR=3.92 [95% CI: 1.46-10.48], $p=0.046$)¹²².

No se encuentra asociación entre la respuesta al tratamiento con docetaxel en monoterapia y la presencia de los polimorfismos estudiados. No hemos encontrado publicaciones que hayan analizado esta asociación.

Respecto a la supervivencia global se incluyó en el análisis a aquellos pacientes con quimioterapia paliativa, excluyendo a los individuos que habían recibido otro tipo de tratamiento (adyuvante o neoadyuvante) para homogeneizar la muestra, y se realizó un análisis multivariable teniendo en cuenta la localización tumoral y la respuesta.

En un primer lugar se analizó la posible asociación entre las citopenias y el pronóstico, encontrando que la anemia se encontraba en el límite de la significación del análisis multivariable en el grupo de pacientes tratados con paclitaxel ($p=0.054$, HR=1,651, IC 95% 0,990-2,751) mientras la neutropenia y la trombopenia se asociaban de una forma estadísticamente significativa a una

mejor supervivencia global en el grupo de pacientes tratados con docetaxel ($p=0.029$ y $p=0.022$ respectivamente).

Posteriormente se analizó la relación entre la supervivencia global y ser portador de polimorfismo. De esta forma se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia del SNP en TUBB1 y un peor pronóstico, tanto entre los pacientes tratados con paclitaxel ($p=0.043$, HR=4.652, IC 95%, 1,05-20,64) como en los pacientes tratados con docetaxel ($p=0,01$, HR=5,889, IC 95% 1,52-22,8) independientemente de otras variables pronósticas.

Este resultado llama la atención teniendo en cuenta que de acuerdo a la caracterización de los isotipos de β -tubulina por Leandro-Garcia et al en 2010, el isotipo VI que corresponde al gen TUBB1 aparece expresado exclusivamente en leucocitos y tejidos hematopoyéticos, mientras en el resto de tejidos sanos representó menos del 0.8%³⁸. Además, se estudiaron 79 muestras tumorales (correspondientes a cáncer de pulmón, colon, próstata, riñón, ovario, mama y laringe) encontrando que los niveles de TUBB4, TUBB2B y TUBB1 suponían menos del 0.5% del total de la expresión de todas las β -tubulinas.

Sin embargo recientemente se han caracterizado los diferentes isotipos de β -tubulina analizando material fijado en parafina y recogido de forma retrospectiva en 342 pacientes con cáncer urotelial¹²⁹. En este trabajo se ha encontrado que el isotipo más frecuentemente sobreexpresado en el tejido tumoral fue TUBB1 (89.8 %) seguido de TUBB4 (29.5 %), TUBB2 (24.9 %), y TUBB3 (17.5 %). Además, la sobreexpresión de TUBB1 se asoció significativamente a factores clásicos de mal pronóstico como la edad avanzada ($p = 0.032$), alto grado histológico ($p = 0.001$), y mayor estadio tumoral ($p = 0.006$). En el análisis multivariable TUBB1 aparece como factor de mal pronóstico asociándose con una peor supervivencia libre de enfermedad (HR1.98, $p = 0.031$).

Dado que los resultados actuales son controvertidos, más estudios en este sentido serán necesarios para confirmar estos hallazgos

CONCLUSIONES

- I. La mielosupresión es la toxicidad limitante de dosis de los agentes anti-microtúbulo, siendo los taxanos uno de los pilares fundamentales del tratamiento de los pacientes con cáncer.
- II. En nuestra serie se encontró toxicidad hematológica significativa en más del 25% de los pacientes incluidos, tratados con monoterapia con docetaxel y paclitaxel: 14.7% presentaron neutropenia, 5.1% presentó trombopenia y 29.9% presentó anemia.
- III. Entre los 3 polimorfismos estudiados asociados al metabolismo de los taxanos, sólo el SNP CYP2C8 haplotipo C se asoció a un tiempo menor para la aparición de anemia en pacientes tratados con paclitaxel, que se explicaría mediante un modelo recesivo.
- IV. No se ha encontrado asociación estadísticamente significativa entre ser portador del polimorfismo estudiado en TUBB1 y la toxicidad hematológica por paclitaxel y docetaxel.
- V. El polimorfismo CYP2C8*3 se correlaciona en nuestra serie con la respuesta a paclitaxel y por tanto, podría considerarse un factor predictivo para pacientes que reciban este tratamiento.
- VI. La neutropenia y la trombopenia se asocian a una mejor supervivencia entre los pacientes tratados con docetaxel en monoterapia con finalidad paliativa.
- VII. La presencia del SNP T274M en TUBB1 podría ser un nuevo factor predictivo de respuesta a tratamiento con taxanos, independientemente de otros factores clínicos.
- VIII. La validación prospectiva de estos resultados será necesaria para comprobar los hallazgos y hacer factible la aplicabilidad clínica de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jordan MA, Wilson L: Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nat Rev Cancer* 4:253-65, 2004
2. Singla AK, Garg A, Aggarwal D: Paclitaxel and its formulations. *International journal of pharmaceutics* 235:179-192, 2002
3. Szebeni J, Alving CR, Muggia FM: Complement activation by Cremophor EL as a possible contributor to hypersensitivity to paclitaxel: an in vitro study. *J Natl Cancer Inst* 90:300-306, 1998
4. Henningsson A, Marsh S, Loos WJ, et al: Association of CYP2C8, CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 polymorphisms with the pharmacokinetics of paclitaxel. *Clin Cancer Res* 11:8097-104, 2005
5. McGuire WP, Rowinsky EK, Rosenshein NB, et al: Taxol: a unique antineoplastic agent with significant activity in advanced ovarian epithelial neoplasms. *Ann Intern Med* 111:273-9, 1989
6. Sparano JA: Taxanes for breast cancer: an evidence-based review of randomized phase II and phase III trials. *Clin Breast Cancer* 1:32-40, 2000
7. Mamounas EP, Bryant J, Lembersky B, et al: Paclitaxel after doxorubicin plus cyclophosphamide as adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: results from NSABP B-28. *Journal of clinical oncology* 23:3686-3696, 2005
8. Bonomi P, Kim K, Fairclough D, et al: Comparison of survival and quality of life in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with two dose levels of paclitaxel combined with cisplatin versus etoposide with cisplatin: Results of an Eastern Cooperative Oncology Group trial. *Journal of clinical oncology* 18:623-623, 2000
9. Perez EA, Vogel CL, Irwin DH, et al: Multicenter phase II trial of weekly paclitaxel in women with metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology* 19:4216-4223, 2001
10. Green MC, Buzdar AU, Smith T, et al: Weekly paclitaxel improves pathologic complete remission in operable breast cancer when compared with paclitaxel once every 3 weeks. *Journal of clinical oncology* 23:5983-5992, 2005
11. Ficha técnica de Paclitaxel: <http://www.aemps.gob.es/cima/especialidad.do?metodo=verFichaWordPdf&codigo=60210&formato=pdf&formulario=PROSPECTOS>
12. Venook A, Egorin M, Brown T, et al: Paclitaxel (Taxol) in patients with liver dysfunction (CALGB 9264), *Proc Am Soc Clin Oncol*, 1994, pp 139
13. Bruno R, Olivares R, Berille J, et al: α -1-Acid glycoprotein as an independent predictor for treatment effects and a prognostic factor of survival in patients with non-small cell lung cancer treated with docetaxel. *Clinical cancer research* 9:1077-1082, 2003

14. Martin M, Pienkowski T, Mackey J, et al: Adjuvant docetaxel for node-positive breast cancer. *New England Journal of Medicine* 352:2302-2313, 2005
15. Jones S, Erban J, Overmoyer B, et al: Randomized phase III study of docetaxel compared with paclitaxel in metastatic breast cancer. *Journal of clinical oncology* 23:5542-5551, 2005
16. Fossella FV, DeVore R, Kerr RN, et al: Randomized phase III trial of docetaxel versus vinorelbine or ifosfamide in patients with advanced non-small-cell lung cancer previously treated with platinum-containing chemotherapy regimens. *Journal of clinical oncology* 18:2354-2362, 2000
17. Tannock IF, de Wit R, Berry WR, et al: Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *New England Journal of Medicine* 351:1502-1512, 2004
18. Van Cutsem E, Moiseyenko VM, Tjulandin S, et al: Phase III study of docetaxel and cisplatin plus fluorouracil compared with cisplatin and fluorouracil as first-line therapy for advanced gastric cancer: a report of the V325 Study Group. *Journal of clinical oncology* 24:4991-4997, 2006
19. Vermorken JB, Remenar E, van Herpen C, et al: Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. *New England Journal of Medicine* 357:1695-1704, 2007
20. Ficha técnica docetaxel. http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000073/WC500035264.pdf
21. Gradishar WJ: Albumin-bound paclitaxel: a next-generation taxane. 2006
22. Gradishar WJ, Krasnojon D, Cheporov S, et al: Significantly longer progression-free survival with nab-paclitaxel compared with docetaxel as first-line therapy for metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 27:3611-9, 2009
23. Von Hoff DD, Ramanathan RK, Borad MJ, et al: Gemcitabine plus nab-paclitaxel is an active regimen in patients with advanced pancreatic cancer: a phase I/II trial. *Journal of clinical oncology* 29:4548-4554, 2011
24. Villanueva C, Bazan F, Kim S, et al: Cabazitaxel: a novel microtubule inhibitor. *Drugs* 71:1251-1258, 2011
25. de Bono JS, Oudard S, Ozguroglu M, et al: Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. *The Lancet* 376:1147-1154, 2010
26. Ramanathan RK, Picus J, Raftopoulos H, et al: A phase II study of milataxel: a novel taxane analogue in previously treated patients with advanced colorectal cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 61:453-8, 2008
27. Dieras V, Limentani S, Romieu G, et al: Phase II multicenter study of larotaxel (XRP9881), a novel taxoid, in patients with metastatic breast cancer who previously received taxane-based therapy. *Ann Oncol* 19:1255-60, 2008

28. Metzger-Filho O, Moulin C, de Azambuja E, et al: Larotaxel: broadening the road with new taxanes. *Expert Opin Investig Drugs* 18:1183-9, 2009
29. Regina A, Demeule M, Che C, et al: Antitumour activity of ANG1005, a conjugate between paclitaxel and the new brain delivery vector Angiopep-2. *Br J Pharmacol* 155:185-97, 2008
30. Pollard TD, Earnshaw, W.C., Lippincott-Schwartz, J. Saunders.: *Cell biology* Elsevier (2ª Edición). Philadelphia., 2008
31. Desai A, Mitchison TJ: Microtubule polymerization dynamics. *Annu Rev Cell Dev Biol* 13:83-117, 1997
32. Weisenberg RC, Deery WJ, Dickinson PJ: Tubulin-nucleotide interactions during the polymerization and depolymerization of microtubules. *Biochemistry* 15:4248-54, 1976
33. Risinger AL, Giles FJ, Mooberry SL: Microtubule dynamics as a target in oncology. *Cancer Treat Rev* 35:255-61, 2009
34. Little M, Seehaus T: Comparative analysis of tubulin sequences. *Comp Biochem Physiol B* 90:655-70, 1988
35. Oakley BR: An abundance of tubulins. *Trends Cell Biol* 10:537-42, 2000
36. Lopata MA, Cleveland DW: In vivo microtubules are copolymers of available beta-tubulin isotypes: localization of each of six vertebrate beta-tubulin isotypes using polyclonal antibodies elicited by synthetic peptide antigens. *J Cell Biol* 105:1707-20, 1987
37. Luduena RF: Multiple forms of tubulin: different gene products and covalent modifications. *Int Rev Cytol* 178:207-75, 1998
38. Leandro-Garcia LJ, Leskela S, Landa I, et al: Tumoral and tissue-specific expression of the major human beta-tubulin isotypes. *Cytoskeleton (Hoboken)* 67:214-23, 2010.
39. Dumontet C, Jordan MA: Microtubule-binding agents: a dynamic field of cancer therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 9:790-803, 2010
40. Infante JR, Yardley DA, Burris HA, 3rd, et al: Phase II trial of weekly docetaxel, vinorelbine, and trastuzumab in the first-line treatment of patients with HER2-positive metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 9:23-8, 2009
41. William WN, Jr., Khuri FR, Fossella FV, et al: Phase II study of vinorelbine and docetaxel in the treatment of advanced non-small-cell lung cancer as frontline and second-line therapy. *Am J Clin Oncol* 33:148-52, 2010
42. Hudes GR, Greenberg R, Krigel RL, et al: Phase II study of estramustine and vinblastine, two microtubule inhibitors, in hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 10:1754-61, 1992
43. Derry WB, Wilson L, Jordan MA: Low potency of taxol at microtubule minus ends: implications for its antimitotic and therapeutic mechanism. *Cancer Res* 58:1177-84, 1998

44. Yvon AM, Wadsworth P, Jordan MA: Taxol suppresses dynamics of individual microtubules in living human tumor cells. *Mol Biol Cell* 10:947-59, 1999
45. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, et al: 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* 270:414-23, 1994
46. Burchell B: Genetic variation of human UDP-glucuronosyltransferase: implications in disease and drug glucuronidation. *Am J Pharmacogenomics* 3:37-52, 2003
47. Chan LM, Lowes S, Hirst BH: The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *Eur J Pharm Sci* 21:25-51, 2004
48. Vaclavikova R, Horsky S, Simek P, et al: Paclitaxel metabolism in rat and human liver microsomes is inhibited by phenolic antioxidants. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 368:200-9, 2003
49. Vaclavikova R, Soucek P, Svobodova L, et al: Different in vitro metabolism of paclitaxel and docetaxel in humans, rats, pigs, and minipigs. *Drug Metab Dispos* 32:666-74, 2004
50. Nallani SC, Goodwin B, Buckley AR, et al: Differences in the induction of cytochrome P450 3A4 by taxane anticancer drugs, docetaxel and paclitaxel, assessed employing primary human hepatocytes. *Cancer Chemother Pharmacol* 54:219-29, 2004
51. Dawood S, Leyland-Jones B: Pharmacology and pharmacogenetics of chemotherapeutic agents. *Cancer Invest* 27:482-8, 2009
52. Gervasini G, Vagace JM: Impact of genetic polymorphisms on chemotherapy toxicity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Front Genet* 3:249, 2012
53. Garcia-Donas J, Esteban E, Leandro-Garcia LJ, et al: Single nucleotide polymorphism associations with response and toxic effects in patients with advanced renal-cell carcinoma treated with first-line sunitinib: a multicentre, observational, prospective study. *Lancet Oncol* 12:1143-50, 2011
54. Galvani E, Peters GJ, Giovannetti E: EGF receptor-targeted therapy in non-small-cell lung cancer: role of germline polymorphisms in outcome and toxicity. *Future Oncol* 8:1015-29, 2012
55. Etienne-Grimaldi MC, Formento P, Degeorges A, et al: Prospective analysis of the impact of VEGF-A gene polymorphisms on the pharmacodynamics of bevacizumab-based therapy in metastatic breast cancer patients. *Br J Clin Pharmacol* 71:921-8, 2011
56. Formica V, Palmirotta R, Del Monte G, et al: Predictive value of VEGF gene polymorphisms for metastatic colorectal cancer patients receiving first-line treatment including fluorouracil, irinotecan, and bevacizumab. *Int J Colorectal Dis* 26:143-51, 2011
57. Giannakakou P, Sackett DL, Kang YK, et al: Paclitaxel-resistant human ovarian cancer cells have mutant beta-tubulins that exhibit impaired paclitaxel-driven polymerization. *J Biol Chem* 272:17118-25, 1997

58. Wang Y, O'Brate A, Zhou W, et al: Resistance to microtubule-stabilizing drugs involves two events: beta-tubulin mutation in one allele followed by loss of the second allele. *Cell Cycle* 4:1847-53, 2005
59. Giannakakou P, Gussio R, Nogales E, et al: A common pharmacophore for epothilone and taxanes: molecular basis for drug resistance conferred by tubulin mutations in human cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:2904-9, 2000
60. Shayne M, Culakova E, Poniewierski MS, et al: Dose intensity and hematologic toxicity in older cancer patients receiving systemic chemotherapy. *Cancer* 110:1611-20, 2007
61. Argyriou AA, Koltzenburg M, Polychronopoulos P, et al: Peripheral nerve damage associated with administration of taxanes in patients with cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 66:218-28, 2008
62. Shemesh OA, Spira ME: Paclitaxel induces axonal microtubules polar reconfiguration and impaired organelle transport: implications for the pathogenesis of paclitaxel-induced polyneuropathy. *Acta Neuropathol* 119:235-48, 2010
63. Lyman GH, Kuderer N, Agboola O, et al: Evidence-based use of colony-stimulating factors in elderly cancer patients. *Cancer Control* 10:487-99, 2003
64. Donelli MG, Zucchetti M, Munzone E, et al: Pharmacokinetics of anticancer agents in patients with impaired liver function. *Eur J Cancer* 34:33-46, 1998
65. Zielinski CC, Awada A, Cameron DA, et al: The impact of new European Organisation for Research and Treatment of Cancer guidelines on the use of granulocyte colony-stimulating factor on the management of breast cancer patients. *Eur J Cancer* 44:353-65, 2008
66. Smith TJ, Khatcheressian J, Lyman GH, et al: 2006 update of recommendations for the use of white blood cell growth factors: an evidence-based clinical practice guideline. *J Clin Oncol* 24:3187-205, 2006
67. Kuderer NM, Dale DC, Crawford J, et al: Impact of primary prophylaxis with granulocyte colony-stimulating factor on febrile neutropenia and mortality in adult cancer patients receiving chemotherapy: a systematic review. *J Clin Oncol* 25:3158-67, 2007
68. Albain KS, Nag SM, Calderillo-Ruiz G, et al: Gemcitabine plus Paclitaxel versus Paclitaxel monotherapy in patients with metastatic breast cancer and prior anthracycline treatment. *J Clin Oncol* 26:3950-7, 2008
69. Di Leo A, Gomez HL, Aziz Z, et al: Phase III, double-blind, randomized study comparing lapatinib plus paclitaxel with placebo plus paclitaxel as first-line treatment for metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 26:5544-52, 2008
70. Kudoh S, Takeda K, Nakagawa K, et al: Phase III study of docetaxel compared with vinorelbine in elderly patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of the West Japan Thoracic Oncology Group Trial (WJTOG 9904). *J Clin Oncol* 24:3657-63, 2006
71. Maruyama R, Nishiwaki Y, Tamura T, et al: Phase III study, V-15-32, of gefitinib versus docetaxel in previously treated Japanese patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 26:4244-52, 2008

72. Kalow W: Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and pharmacobiology. *Clin Pharmacol Ther* 70:1-4, 2001
73. Budnitz DS, Pollock DA, Weidenbach KN, et al: National surveillance of emergency department visits for outpatient adverse drug events. *JAMA* 296:1858-66, 2006
74. Gurwitz D, McLeod HL: Primum non nocere: adverse drug events must be taken seriously. *Pharmacogenomics* 8:311-4, 2007
75. Pirmohamed M, James S, Meakin S, et al: Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients. *BMJ* 329:15-9, 2004
76. Shastry BS: Copy number variation and susceptibility to human disorders (Review). *Mol Med Report* 2:143-7, 2009
77. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431:931-45, 2004
78. Shastry BS: SNPs: impact on gene function and phenotype. *Methods Mol Biol* 578:3-22, 2009
79. Kruglyak L, Nickerson DA: Variation is the spice of life. *Nat Genet* 27:234-6, 2001
80. Meyer UA: Pharmacogenetics - five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nat Rev Genet* 5:669-76, 2004
81. Weinshilboum R: Inheritance and drug response. *N Engl J Med* 348:529-37, 2003
82. Evans WE, Relling MV: Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. *Nature* 429:464-8, 2004
83. Nelson MR, Bacanu SA, Mosteller M, et al: Genome-wide approaches to identify pharmacogenetic contributions to adverse drug reactions. *Pharmacogenomics J* 9:23-33, 2009
84. Daly AK: Genome-wide association studies in pharmacogenomics. *Nat Rev Genet* 11:241-6, 2010
85. Ohtsu T, Sasaki Y, Tamura T, et al: Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel: a 3-hour infusion versus a 24-hour infusion. *Clin Cancer Res* 1:599-606, 1995
86. Bruno R, Hille D, Riva A, et al: Population pharmacokinetics/pharmacodynamics of docetaxel in phase II studies in patients with cancer. *J Clin Oncol* 16:187-96, 1998
87. Gelderblom H, Mross K, ten Tije AJ, et al: Comparative pharmacokinetics of unbound paclitaxel during 1- and 3-hour infusions. *J Clin Oncol* 20:574-81, 2002
88. Rodriguez-Antona C, Sayi JG, Gustafsson LL, 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* 338:299-305, 2005

89. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al: Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 27:383-91, 2001
90. Kirchheiner J, Meineke I, Fuhr U, et al: Impact of genetic polymorphisms in CYP2C8 and rosiglitazone intake on the urinary excretion of dihydroxyecosatrienoic acids. *Pharmacogenomics* 9:277-88, 2008
91. Rodriguez-Antona C, Niemi M, Backman JT, et al: Characterization of novel CYP2C8 haplotypes and their contribution to paclitaxel and repaglinide metabolism. *Pharmacogenomics J* 8:268-77, 2008
92. Niemi M, Backman JT, Kajosaari LI, et al: Polymorphic organic anion transporting polypeptide 1B1 is a major determinant of repaglinide pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther* 77:468-78, 2005
93. Hertz DL, Walko CM, Bridges AS, et al: Pilot study of rosiglitazone as an in vivo probe of paclitaxel exposure. *Br J Clin Pharmacol* 74:197-200, 2012
94. Leschziner GD, Andrew T, Pirmohamed M, et al: ABCB1 genotype and PGP expression, function and therapeutic drug response: a critical review and recommendations for future research. *Pharmacogenomics J* 7:154-79, 2007
95. Rau T, Erney B, Gores R, et al: High-dose methotrexate in pediatric acute lymphoblastic leukemia: impact of ABCC2 polymorphisms on plasma concentrations. *Clin Pharmacol Ther* 80:468-76, 2006
96. Letschert K, Keppler D, Konig J: Mutations in the SLCO1B3 gene affecting the substrate specificity of the hepatocellular uptake transporter OATP1B3 (OATP8). *Pharmacogenetics* 14:441-52, 2004
97. Bosch TM, Huitema AD, Doodeman VD, et al: Pharmacogenetic screening of CYP3A and ABCB1 in relation to population pharmacokinetics of docetaxel. *Clin Cancer Res* 12:5786-93, 2006
98. Baker SD, Verweij J, Cusatis GA, et al: Pharmacogenetic pathway analysis of docetaxel elimination. *Clin Pharmacol Ther* 85:155-63, 2009
99. Tran A, Jullien V, Alexandre J, et al: Pharmacokinetics and toxicity of docetaxel: role of CYP3A, MDR1, and GST polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 79:570-80, 2006
100. Green H, Soderkvist P, Rosenberg P, et al: Pharmacogenetic studies of Paclitaxel in the treatment of ovarian cancer. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 104:130-7, 2009
101. Marsh S, Somlo G, Li X, et al: Pharmacogenetic analysis of paclitaxel transport and metabolism genes in breast cancer. *Pharmacogenomics J* 7:362-5, 2007
102. Leskela S, Jara C, Leandro-Garcia LJ, et al: Polymorphisms in cytochromes P450 2C8 and 3A5 are associated with paclitaxel neurotoxicity. *Pharmacogenomics J* 11:121-9, 2011
103. Marsh S, Paul J, King CR, et al: Pharmacogenetic assessment of toxicity and outcome after platinum plus taxane chemotherapy in ovarian cancer: the Scottish Randomised Trial in Ovarian Cancer. *J Clin Oncol* 25:4528-35, 2007

104. Sissung TM, Mross K, Steinberg SM, et al: Association of ABCB1 genotypes with paclitaxel-mediated peripheral neuropathy and neutropenia. *Eur J Cancer* 42:2893-6, 2006
105. Freson K, De Vos R, Wittevrongel C, et al: The TUBB1 Q43P functional polymorphism reduces the risk of cardiovascular disease in men by modulating platelet function and structure. *Blood* 106:2356-62, 2005
106. Kunishima S, Kobayashi R, Itoh TJ, et al: Mutation of the beta1-tubulin gene associated with congenital macrothrombocytopenia affecting microtubule assembly. *Blood* 113:458-61, 2009
107. Verrills NM, Flemming CL, Liu M, et al: Microtubule alterations and mutations induced by desoxyepothilone B: implications for drug-target interactions. *Chem Biol* 10:597-607, 2003
108. Kavallaris M, Tait AS, Walsh BJ, et al: Multiple microtubule alterations are associated with Vinca alkaloid resistance in human leukemia cells. *Cancer Res* 61:5803-9, 2001
109. Ferrandina G, Zannoni GF, Martinelli E, et al: Class III beta-tubulin overexpression is a marker of poor clinical outcome in advanced ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res* 12:2774-9, 2006
110. Seve P, Dumontet C: Is class III beta-tubulin a predictive factor in patients receiving tubulin-binding agents? *Lancet Oncol* 9:168-75, 2008
111. Seve P, Isaac S, Tredan O, et al: Expression of class III {beta}-tubulin is predictive of patient outcome in patients with non-small cell lung cancer receiving vinorelbine-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 11:5481-6, 2005
112. Leandro-Garcia LJ, Leskela S, Inglada-Perez L, et al: Hematologic beta-tubulin VI isoform exhibits genetic variability that influences paclitaxel toxicity. *Cancer Res* 72:4744-52, 2012
113. Ross JS, Fletcher JA: The HER-2/neu Oncogene in Breast Cancer: Prognostic Factor, Predictive Factor, and Target for Therapy. *Stem cells* 16:413-428, 1998
114. Patricia García M, Felipe Benavente M, Angélica Melo A, et al: Efecto de la fijación en la calidad del ADN: estudio controlado con cinco fijadores. *Revista Española de Patología* 39:175-179, 2006
115. Iwamoto KS, Mizuno T, Ito T, et al: Feasibility of using decades-old archival tissues in molecular oncology/epidemiology. *Am J Pathol* 149:399-406, 1996
116. Sikora MJ, Thibert JN, Salter J, et al: High-efficiency genotype analysis from formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissues. *Pharmacogenomics J* 11:348-58, 2011
117. Dai D, Zeldin DC, Blaisdell JA, et al: Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid. *Pharmacogenetics* 11:597-607, 2001
118. Soyama A, Saito Y, Hanioka N, et al: Non-synonymous single nucleotide alterations found in the CYP2C8 gene result in reduced in vitro paclitaxel metabolism. *Biol Pharm Bull* 24:1427-30, 2001

119. Niemi M, Leathart JB, Neuvonen M, et al: Polymorphism in CYP2C8 is associated with reduced plasma concentrations of repaglinide. *Clin Pharmacol Ther* 74:380-7, 2003
120. Aquilante CL, Bushman LR, Knutsen SD, et al: Influence of SLCO1B1 and CYP2C8 gene polymorphisms on rosiglitazone pharmacokinetics in healthy volunteers. *Hum Genomics* 3:7-16, 2008
121. Bergmann TK, Brasch-Andersen C, Green H, et al: Impact of CYP2C8*3 on paclitaxel clearance: a population pharmacokinetic and pharmacogenomic study in 93 patients with ovarian cancer. *Pharmacogenomics J* 11:113-20, 2011
122. Hertz DL, Motsinger-Reif AA, Drobish A, et al: CYP2C8*3 predicts benefit/risk profile in breast cancer patients receiving neoadjuvant paclitaxel. *Breast Cancer Res Treat* 134:401-10, 2012
123. Hertz DL, Roy S, Motsinger-Reif AA, et al: CYP2C8*3 increases risk of neuropathy in breast cancer patients treated with paclitaxel. *Ann Oncol*, 2013
124. Green H, Khan MS, Jakobsen-Falk I, et al: Impact of CYP3A5*3 and CYP2C8-HapC on paclitaxel/carboplatin-induced myelosuppression in patients with ovarian cancer. *J Pharm Sci*, 2011
125. Seidman AD, Berry D, Cirincione C, et al: Randomized phase III trial of weekly compared with every-3-weeks paclitaxel for metastatic breast cancer, with trastuzumab for all HER-2 overexpressors and random assignment to trastuzumab or not in HER-2 nonoverexpressors: final results of Cancer and Leukemia Group B protocol 9840. *J Clin Oncol* 26:1642-9, 2008
126. Mielke S, Sparreboom A, Steinberg SM, et al: Association of Paclitaxel pharmacokinetics with the development of peripheral neuropathy in patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res* 11:4843-50, 2005
127. Argyriou AA, Polychronopoulos P, Koutras A, et al: Is advanced age associated with increased incidence and severity of chemotherapy-induced peripheral neuropathy? *Support Care Cancer* 14:223-9, 2006
128. Tsai SM, Lin CY, Wu SH, et al: Side effects after docetaxel treatment in Taiwanese breast cancer patients with CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 gene polymorphisms. *Clin Chim Acta* 404:160-5, 2009
129. Choi JW, Kim Y, Lee JH, et al: Expression of beta-tubulin isotypes in urothelial carcinoma of the bladder. *World J Urol*, 2012