

ULL

Universidad
de La Laguna

Sección de Medicina,
Enfermería y Fisioterapia



Grado en Medicina

**CORRELACIONES DE ALTERACIONES DEL
TRANSCRIPTOMA LEUCOCITARIO Y TOXICIDAD
HEMATOLÓGICA Y HEPÁTICA EN PACIENTES
CON CÁNCER COLORRECTAL TRATADOS CON
OXALIPLATINO**

Trabajo Fin de Grado en Medicina

Ana Isabel Rodríguez Chamorro

Tutores

Prof. Dr. Manuel José Morales González

Prof. Dr. Pablo Martín-Vasallo

Junio 2019

Departamentos de Medicina Interna, Dermatología y Psiquiatría

y

Bioquímica, Microbiología, Biología Molecular y Genética

**Trabajo Fin de Grado
Conformidad para la presentación de la memoria y defensa**

Los Drs. **D. Manuel José Morales González** y **D. Pablo Martín-Vasallo**, tutores del trabajo realizado por la alumna **Ana Isabel Rodríguez Chamorro** con el título: "**CORRELACIONES DE ALTERACIONES DEL TRANSCRIPTOMA LEUCOCITARIO Y TOXICIDAD HEMATOLÓGICA Y HEPÁTICA EN PACIENTES CON CÁNCER COLORRECTAL TRATADOS CON OXALIPLATINO**", damos nuestra aprobación para la presentación de la memoria y a su defensa como Trabajo Fin de Grado.

La Laguna, 7 de junio de 2019

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 1912665 Código de verificación: VMe49iz6

Firmado por: Pablo Martín Vasallo
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 07/06/2019 12:40:23

Manuel José Morales González
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

07/06/2019 12:43:40

Agradecimientos

Al Dr. Manuel Morales González y al Dr. Pablo Martín Vasallo, tutores de este trabajo, por su guía y su apoyo a lo largo de todo este proyecto.

A la Dra. Rebeca González Fernández, del área de Bioquímica y Biología Molecular, por su ayuda con el análisis estadístico de este trabajo y su colaboración en determinaciones anteriores.

Al personal del Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria, por su colaboración indispensable durante este estudio.

A los pacientes de este estudio, por permitirnos amablemente el acceso a sus datos para esta investigación.

A mi familia y amigos, por su apoyo constante durante este proyecto.

Listado de abreviaturas

5-FU	5-Fluorouracilo	LDH	Lactato deshidrogenasa
AGAP1	ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 1	LMNA	Lamin A/C (lamina A y C)
AIF1	Allograft Inflammatory Factor 1	LV	Leucovorina (Ácido fólnico)
ALT	Alanina aminotransferasa	MMR	DNA mismatch repair proteins
AST	Aspartato aminotransferasa	OX	Oxaliplatino
BIL	Bilirrubina total	PLAQ	Plaquetas
CCR	Cáncer colorrectal	QT	Quimioterapia
DACH	1,2-diaminociclohexano	rARN	ARN ribosómico
dTMP	Deoxitimidina monofosfato	snARN	ARN pequeño nucleolar
dUMP	Deoxiuridina monofosfato	tARN	ARN transferente
dUTP	Desoxiuridina trifosfato	ROMO1	Reactive Oxygen Species Modulator 1
FA	Fosfatasa alcalina	SERPINH1	Serpin Family H Member 1 (serpina)
FdUMP	Fluorodesoxiuridina monofosfato	SESNI	Sestrin 1 (sestrina)
FdUTP	Fluorodesoxiuridina trifosfato	SMIMI	Small Integral Membrane Protein 1
FUTP	Fluorouridina trifosfato	SOS	Síndrome de Obstrucción Sinusoidal
GGT	Gamma glutamil transpeptidasa	THBS1	Thrombospondin 1 (trombospondina)
GLU	Glucosa	TS	Timidilato sintasa
HbA1c	Hemoglobina glicosilada		

Contenido

Abstract	6
Sumario	7
1. Introducción	8
1.1. Cáncer colorrectal	9
1.2. Tratamiento con FOLFOX/CAPEOX del cáncer colorrectal	10
1.3. Mecanismos de acción.....	11
1.4. Efectos secundarios de FOLFOX/CAPEOX	11
1.5. El transcriptoma diferencial	13
1.6. Genes seleccionados para el estudio.....	13
2. Hipótesis de trabajo y objetivos	17
2.1. Planteamiento experimental.....	17
2.2. Objetivos.....	17
3. Materiales y Métodos	18
3.1. Selección de pacientes y controles	18
3.2. Recopilación de niveles de expresión génica en leucocitos de pacientes con CCR.....	18
3.3. Recopilación de datos analíticos de los pacientes	19
3.4. Determinación de correlaciones	19
4. Resultados	19
4.1. <u>Variación de los parámetros clínicos previos y posteriores al tratamiento quimioterápico</u>	19
4.2. <u>Análisis de correlaciones</u>	22
4.2.1. Correlaciones entre parámetros clínicos de función hepática	29
4.2.2. Correlaciones entre parámetros clínicos de función hepática, electrolitos séricos y glucosa	30
4.2.3. Correlaciones entre la expresión de genes seleccionados y parámetros clínicos	31
4.2.4. Correlaciones entre la expresión de genes seleccionados.....	32
5. Discusión	33
5.1. Evolución de parámetros hematológicos	33
5.2. Correlaciones entre parámetros clínicos	36
5.3. Variaciones de la expresión génica	36
5.4. Alteración de las correlaciones entre parámetros hematológicos y expresión génica	38
6. Conclusiones	40
7. Anexos	41
7.1. <u>Anexo: ¿Qué he aprendido mediante la realización de este trabajo?</u>	41
8. Bibliografía	42

Abstract

Oxaliplatin-based chemotherapy (QT), FOLFOX/CAPEOX, is the standard adjuvant therapy for colorectal cancer (CRC) and its liver metastasis. However, non-desiderable effects can impair the patient's quality of life and overall satisfaction – even causing functional impairment. This study analyzes the correlations between the differential gene expression profiles of peripheral white cells and clinical markers of hepatic and hematologic toxicity as a consequence of FOLFOX/CAPEOX chemotherapy in patients suffering from CCR, establishing a correlation between pathologic findings and genetic damage.

We found statistically significant correlations among the expression levels of *SERPINH1* with *ROMO*, *LMNA* with *ROMO*, *LMNA* with *AGAP*, *THBS1* with *SESNI* and *SMIMI* with *LMNA*. FOLFOX/CAPEOX QT modifies significantly the studied genes' expression pattern, while also modifying correlations of clinical parameters such as hemoglobin, calcium and sodium with *LMNA*, *SESNI* and *THBS1*, respectively. The down-regulation of *AGAP* and *LMNA* after chemotherapy may signal a satisfactory FOLFOX/CAPEOX response, while the up-regulation of *SERPINH1*, *AIF1* and *SESNI* may relate to the growth resistant tumor cell lines. *THBS1*, *AIF1* and *SESNI* may be useful as markers to predict the onset of FOLFOX/CAPEOX's adverse effects, and to minimize QT toxicity by changing our therapeutic approach.

Sumario

La quimioterapia (QT) con oxaliplatino (FOLFOX/CAPEOX) es el tratamiento coadyuvante más común del paciente con cáncer colorrectal (CCR) y sus metástasis hepáticas. No obstante, sus efectos secundarios empeoran la calidad de vida y la satisfacción del paciente, llegando a veces a una gran incapacidad funcional. Este trabajo estudia las correlaciones entre las alteraciones de algunos genes del transcriptoma diferencial leucocitario y parámetros clínicos de toxicidad hematológica y hepática en pacientes con CCR inducidas por FOLFOX/CAPEOX, intentando establecer relaciones entre estas alteraciones y el daño genético causado por la QT.

Hemos encontrado correlaciones estadísticamente significativas entre la expresión leucocitaria de los genes *SERPINH1* y *ROMO*, *LMNA* y *ROMO*, *LMNA* y *AGAP*, *THBS1* y *SESNI* junto a *SMIMI* y *LMNA*. La QT modifica por completo el patrón de expresión de los ocho genes estudiados, y también modifica las correlaciones de parámetros clínicos como la hemoglobina, calcio y sodio con la expresión de lamina, sestrina y trombospondina, respectivamente. La disminución de la expresión *AGAP* y *LMNA* tras el tratamiento quimioterápico podría evidenciar una respuesta satisfactoria al tratamiento con FOLFOX/CAPEOX, mientras que el aumento de la expresión de *SERPINH1*, *AIF1* y *SESNI* pueden relacionarse con la aparición de estirpes tumorales resistentes al tratamiento. *THBS1*, *AIF1* y *SESNI* podrían servir como marcadores que nos permitan predecir efectos secundarios y poder modificar pautas terapéuticas que los minimicen.

Introducción

1.1. Cáncer colorrectal.

El cáncer colorrectal (CCR) es una de las neoplasias más frecuentes, pasando de ser tercer cáncer más frecuente en España en 2014 al segundo en 2018 (1). El aumento de su incidencia puede relacionarse con un aumento de la edad media de la población sumado a factores ambientales (dieta y hábitos tóxicos) (2).

La carcinogénesis resulta de la acumulación de múltiples alteraciones genéticas secuenciales que afectan a genes supresores de tumores, a genes comprometidos con la reparación del ADN y a la activación de ciertos oncogenes. Estas anomalías pueden adquirirse de forma hereditaria, como en el caso de las alteraciones en la línea germinal de los genes supresores tumorales APC (adenomatous polyposis coli), a mutaciones en los genes que codifican enzimas reparadores del ADN (Síndrome de Lynch), o aparecer a lo largo de la vida del individuo. Un 60% del CCR se localiza en el colon, mientras que el otro 40% se inicia en el recto (2).

El pronóstico de estos tumores depende principalmente del estadio en el momento de diagnóstico de la enfermedad de acuerdo con la clasificación TNM establecida por el American Joint Committee on Cancer (AJCC), que hace referencia al tamaño y extensión del tumor principal (T), la afectación ganglionar linfática (N) y la presencia de metástasis a distancia (M). De esta forma, es posible determinar unos estadios del CCR que se correlacionan con la supervivencia a cinco años (2).

La supervivencia a cinco años de los pacientes afectados por CCR se sitúa en un 62%. Cuando se divide por estadios, la supervivencia a cinco años de los pacientes con un CCR estadio I es del 90%, 82% para el estadio II, 51% para el estadio III y 4% para el estadio IV (2)

El diagnóstico precoz y, especialmente, un aumento en la efectividad de las terapias disponibles ha supuesto un aumento de la supervivencia en el CCR, reduciéndose su mortalidad en un 3,5% en los últimos años (1). No obstante, las repercusiones de esta enfermedad y su tratamiento afectan a la calidad de vida del paciente (2).

1.2. Tratamiento con FOLFOX/CAPEOX del cáncer colorrectal

Los pacientes con CCR localmente avanzado (estadios II y III de la clasificación TNM) presentan mayores tasas de recidiva (hasta un 55%) si se hace un abordaje exclusivamente quirúrgico de la enfermedad (3). La introducción, en la década de los 90, de quimioterapia (QT) adyuvante tras la intervención quirúrgica ha demostrado su beneficio en el tratamiento de estos pacientes, con un aumento de la supervivencia y del tiempo libre de enfermedad a los tres años (3). También está indicada la QT neoadyuvante también es efectiva los pacientes con enfermedad metastásica potencialmente resecable, disminuyendo volumen tumoral y permitiendo mayores tasas de resecabilidad (2). En el CCR irresecable, un abordaje multimodal que combine de QT, radioterapia y cirugía paliativa eleva la supervivencia a cinco años hasta en un 52% (2).

Uno de los regímenes de QT más populares consiste en la combinación de una fluoropirimidina (fluoro-uracilo/ácido folínico o capecitabina) con oxaliplatino (esquemas FOLFOX o CAPEOX) o la fluoropirimidina en monoterapia. La quimioterapia adyuvante basada en oxaliplatino aumenta significativamente la supervivencia a cinco años y el tiempo libre de enfermedad a tres años de los pacientes, convirtiéndose en un tratamiento estándar para el CCR en pacientes con alto riesgo de recidiva y/o metástasis (2).

No obstante, la quimioterapia adyuvante basada en oxaliplatino puede causar numerosos efectos adversos: náuseas y vómitos, toxicidad hematológica (anemia, trombocitopenia y/o leucopenia) y neuropatía periférica de variable intensidad. Así, la toxicidad de esta terapia dificulta la aplicación de un tratamiento para los pacientes ancianos o debilitados (2).

1.3. Mecanismos de acción

Los componentes de los regímenes FOLFOX/CAPEOX funcionan de forma sinérgica, combinando sus mecanismos de acción para lograr un aumento significativo de la tasa de respuesta en comparación con la aplicación de estos compuestos por separado (11% para 5-FU, 23% para la combinación de 5-FU y LV y hasta 58% para FOLFOX o CAPEOX) (4,5).

5-Fluoracilo. El compuesto 5-Fluorouracilo (5-FU) es un análogo del uracilo que posee un átomo de flúor en la posición C-5, sustituyendo a un hidrógeno. Así, este compuesto es capaz de penetrar en el interior celular utilizando los mismos mecanismos de transporte de la base nitrogenada uracilo (transporte facilitado). Una vez en el citoplasma, 5-FU sufrirá un proceso de activación y metabolización que dará lugar a tres metabolitos (5): fluorodesoxiuridina monofosfato (FdUMP), fluorodesoxiuridina trifosfato (FdUTP) y fluorouridina trifosfato (FUTP).

Estas sustancias activadas interferirán en la síntesis de nucleótidos esenciales para la supervivencia celular y dañarán la estructura del ADN y del ARN:

- *Inhibición de timidilato sintasa (TS):* TS interviene en la metilación de desoxiuridina monofosfato (dUMP) a deoxitimidina monofosfato (dTMP), un paso indispensable para la síntesis del nucleótido timidilato (la combinación de un grupo fosfato, una desoxirribosa y la base nitrogenada timina). El metabolito FdUMP se unirá a TS de forma irreversible, impidiendo la metilación de dUMP e inhibiendo así la formación de timidilato. Esto producirá un desequilibrio en la proporción de nucleótidos que afectará a la síntesis y a la reparación de ADN, provocando la muerte celular (5).
- *Incorporación al ADN:* La inhibición de TS provocará una acumulación de dUMP, que se traducirá en un aumento de los niveles de desoxiuridina trifosfato (dUTP). Esta sustancia y el metabolito de 5-FU, FdUTP, serán capaces de incorporarse al ADN celular en lugar de los nucleótidos habituales. La reparación de la cadena de ADN en las regiones alteradas resultará inútil, añadiéndose nucleótidos incorrectos o escindiendo la cadena en lugares inadecuados. Este proceso producirá un daño letal al ADN que resultará en la muerte celular (5).
- *Incorporación al ARN:* El metabolito FUTP se une al ARN con gran afinidad, siendo capaz de provocar alteraciones dañinas a diferentes niveles al inhibir la transcripción del nucleótido uridina. FUTP impedirá la síntesis de rARN, tARN y la actividad de snARN. Esto perjudicará intensamente al metabolismo y a la viabilidad celular (5).

Leucovorina (LV) o Ácido folínico. El 5,10-Metilentetrahidrofolato (5,10-CH₂-THF) funciona como coenzima de la síntesis de timidina y permite que FdUMP se una de

forma estable a la enzima TS. La administración de ácido folínico aumentará las concentraciones celulares disponibles de 5,10-CH₂-THF, elevando la tasa de respuesta del tratamiento de un 11% (5-FU solo) a un 23% (5-FU/LV) (5).

Capecitabina, es un profármaco que da lugar a fluouracilo (FU) tras ser metabolizada por la enzima TS. Los niveles de TS se encuentran aumentados en numerosas estirpes de células tumorales, existiendo evidencia que prueban su efectividad en el tratamiento del CCR. Aunque la tasa de respuesta total de este profármaco ha demostrado ser mayor que la de la combinación 5-FU/LV, no se ha podido demostrar una reducción del tiempo de progresión tumoral o un aumento de la supervivencia (5).

Oxaliplatino, es un compuesto antineoplásico de nueva generación conformado por un complejo de oxalato, platino y 1,2-diaminociclohexano (DACH). El complejo DACH dota a este fármaco de unas propiedades específicas que lo diferencian de otros platinos, como cisplatino y carboplatino. Así, el oxaliplatino puede utilizarse con éxito en estirpes tumorales que no hayan demostrado respuesta a otros platinos (4).

De forma similar al cisplatino, el oxaliplatino es capaz de provocar lesiones primarias en el ADN celular, formando aductos platino-ADN que generarán enlaces intercatenarios, intracatenarios y cross-links de ADN. Este proceso lesiona las hebras de ADN e inhibe la replicación y transcripción de la información genética. No obstante, el oxaliplatino se diferencia de otros platinos porque sus aductos (que incluirán una molécula de DACH) tienen un tamaño mayor y tienen características hidrofóbicas. Esto parece aumentar su poder citotóxico, inhibiendo la síntesis de ADN de forma más efectiva y dificultando la reparación de las hebras de ADN al distorsionar los lugares de unión de las *DNA mismatch repair proteins* (MMR) (4).

1.4. Efectos secundarios de FOLFOX/CAPEOX

FOLFOX, al igual que otros agentes antitumorales, posee un índice terapéutico bajo, por lo que es capaz de afectar no sólo a las células cancerígenas, sino también a células sanas con elevados índices mitóticos, provocando la aparición de efectos secundarios de una severidad y duración difíciles de predecir. Estos efectos adversos de FOLFOX dependerán de dos de sus compuestos: oxaliplatino y 5-FU (2).

El oxaliplatino es capaz de producir toxicidad hematológica (anemia, neutropenia y trombocitopenia), gastrointestinal (náuseas, vómitos y diarrea) y neurológica

(neuropatía periférica) y otros efectos adversos relacionados con este compuesto (reacciones de hipersensibilidad) (2).

Por otro lado, los efectos de 5-FU/Capecitabina tienen un efecto tóxico mucho más amplio, siendo capaces de alterar las funciones de diferentes tejidos, produciendo cardiotoxicidad (isquemia miocárdica principalmente), genotoxicidad (daño cromosómico), mucositis digestiva (náuseas y vómitos), nefrotoxicidad (destrucción de células tubulares) y hepatotoxicidad por hiperproducción de radicales libres y mediadores inflamatorios (2).

Neurotoxicidad. Los efectos tóxicos a nivel neurológico aparecen con frecuencia durante el uso de platinos (2). Aunque el oxaliplatino tiene un perfil de seguridad superior al de otros derivados del platino, su neurotoxicidad (por la acción directa del platino sobre las neuronas del ganglio dorsal) produce una sintomatología característica que puede dividirse en dos grupos: síntomas agudos (disestesias y parestesias) de instauración rápida tras el inicio del tratamiento y síntomas de aparición tardía por el efecto acumulativo de varios ciclos de quimioterapia (2). La mayoría de síntomas pertenecen al grupo de instauración rápida, comprendiendo parestesias y disestesias que desaparecen antes del siguiente ciclo de quimioterapia. La sintomatología más grave e incapacitante del oxaliplatino (parestesias crónicas) está relacionada con la acumulación progresiva de oxaliplatino tras sucesivos ciclos de quimioterapia (2).

Síndrome de Obstrucción Sinusoidal (SOS). El síndrome de oclusión sinusoidal (SOS) o enfermedad veno-oclusiva del hígado es una forma de daño hepático que histológicamente se manifiesta como un daño difuso en el parénquima hepático circundante a la vena centrolobulillar con disrupción y dilatación de los sinusoides hepáticos y activación de los macrófagos hepáticos con depósito de colágeno en los espacios perisinusoidales (6).

El régimen FOLFOX/CAPEOX se ha relacionado con la aparición de SOS por diferentes mecanismos actualmente bajo estudio, apareciendo un aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) tras el uso de 5-FU (6).

En el caso de pacientes que reciben quimioterapia neoadyuvante, la aparición de SOS disminuye la capacidad funcional hepática preoperatoria, pudiendo convertir a un paciente candidato para cirugía resectiva en un individuo no apto para cirugía (6).

Alteraciones hidroelectrolíticas. Los compuestos de platino pueden producir nefrotoxicidad por mecanismos complejos de daño celular, inflamación, reparación y apoptosis a nivel tubular y glomerular (2). Aparecerán diferentes alteraciones hidroelectrolíticas, encontrándose hipomagnesemia en algún grado hasta en un 90% de los pacientes. Este desequilibrio puede mantenerse hasta tres años después de la finalización del tratamiento. Clínicamente, los desequilibrios de la concentración de magnesio en el plasma pueden producir tetania, convulsiones, parálisis, ceguera y arritmias letales. El empleo de terapias combinadas (platinos y 5-FU) también aumenta la frecuencia de aparición hiponatremia, hipocalcemia e hipokalemia. No obstante, la incidencia de estos desequilibrios es menor durante la quimioterapia con oxaliplatino en comparación con el resto de homólogos derivados del platino (7).

Aunque el tratamiento tipo FOLFOX es capaz de alterar la isoforma 3 de la subunidad α (α_3) de la Na^+/K^+ -ATPasa, se ha relacionado a esta terapia con una menor incidencia de hiponatremia si se compara con otros compuestos como el cisplatino (2,7).

1.5. El transcriptoma diferencial

En estudios previos, nuestro grupo (8) demostró que el transcriptoma leucocitario de los pacientes afectados por CCR cambiaba tras recibir tratamiento con FOLFOX/CAPEOX, encontrándose diferencias en la expresión de 502 genes que codifican proteínas relacionadas con el metabolismo mitocondrial y citosólico, la respuesta celular a sustratos orgánicos, movimientos de los componentes celulares, respuesta a fármacos y diferenciación celular (8).

Con el objetivo de establecer correlaciones entre las alteraciones de la expresión génica y la aparición de efectos adversos durante y tras el empleo de QT basada en oxaliplatino, se seleccionaron ocho genes para su estudio, por la importancia de sus variaciones por QT:

1.6. Genes seleccionados para el estudio

Genes seleccionados: *ROMO*, *SERPINH1*, *AGAP1*, *AIF1*, *LMNA*, *SESN1*, *THBS1* y *SMIM1*.

Los niveles de expresión de estos genes han sido estudiados con anterioridad por nuestro grupo (8), determinando si existía sobreexpresión o disminución de la expresión tras el tratamiento quimioterápico (Figura 1).

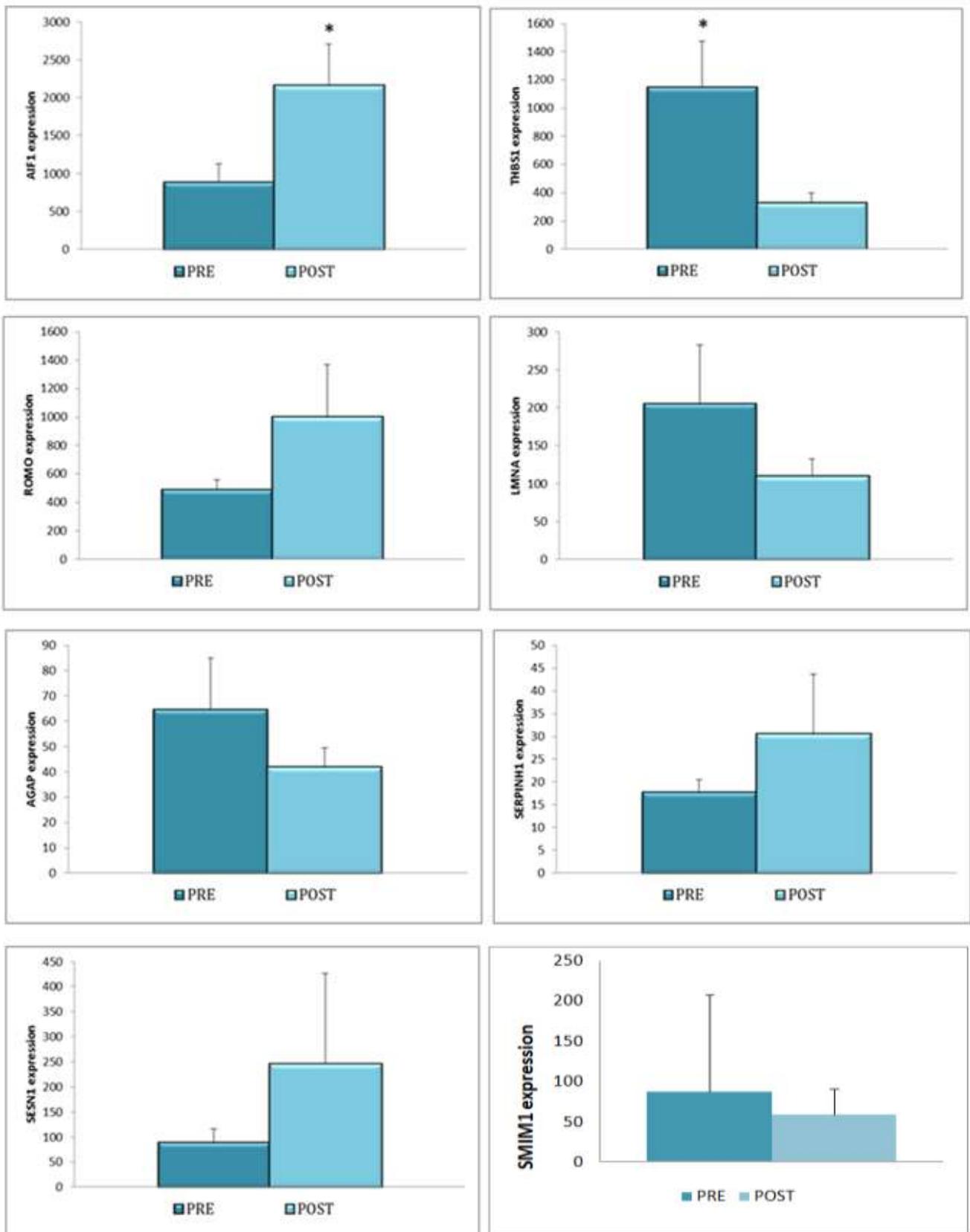


Figura 1. Niveles de expresión de los genes estudiados antes del tratamiento quimioterápico (PRE) y tras el tratamiento con FOLFOX/CAPEOX (POST).

Reactive Oxygen Species Modulator 1 (ROMO1). El gen *ROMO1* (9) se encuentra en la región cromosómica 20q11.22. Codifica para la proteína *ROMO-1*, presente en las mitocondrias celulares y capaz de aumentar los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el interior celular. Se ha observado un mayor grado de expresión de esta proteína en el ADN de células tumorales y las células de pacientes afectados de Diabetes Mellitus tipo 2. El aumento de ROS podría aumentar el daño oxidativo, relacionándose con el desarrollo de patologías degenerativas como la retinopatía diabética.

El estudio del transcriptoma diferencial (8) reveló que la expresión de *ROMO1* aumenta tras la exposición a quimioterapia FOLFOX.

Serpin Family H Member 1 (SERPINH1). *SERPINH1* (10) se localiza en la región cromosómica 11q13.5. Codifica para una proteína del grupo de las serpinas (inhibidores de serin proteasas), interviniendo en la síntesis de colágeno al actuar como una chaperona específica de las moléculas de colágeno. Un aumento de la expresión de este gen podría tener cierta relevancia como marcador tumoral, aunque también se ha encontrado un aumento de la expresión de *SERPINH1* en otros tejidos (placenta y endometrio, entre otros).

El estudio del transcriptoma diferencial (8) reveló que la expresión de *SERPINH1* aumenta tras la exposición a quimioterapia FOLFOX.

ArfGAP with GTPase Domain, Ankyrin Repeat and PH Domain 1 (AGAP1). El gen *AGAP1* (11) se encuentra en la región cromosómica 2q37.2. Este gen codifica para una proteína del mismo nombre (*AGAP1*) que interviene en la función de los activadores de GTPasa, regulando la función de las membranas y el citoesqueleto celular. Este gen también funciona como un regulador directo del complejo del Adaptador Proteico 3 de los lisosomas celulares. Tiene una expresión amplia en los tejidos del cerebro y del colon.

El estudio del transcriptoma diferencial (8) reveló que la expresión de *AGAP1* disminuye tras la exposición a quimioterapia FOLFOX.

Allograft Inflammatory Factor 1 (AIFI). *AIFI* (12) se localiza en la región cromosómica 6p21.33, codificando para la proteína *AIFI*, encargada de unir iones de calcio a las moléculas de actina. Las citoquinas y el interferón inducen la expresión de este gen, que podría intervenir en la activación y el crecimiento de linfocitos-T y de

células de músculo liso endotelial. Su expresión es más elevada en las células del bazo y del apéndice cecal.

El estudio del transcriptoma diferencial (8) reveló que la expresión de *AIF1* aumenta tras la exposición a quimioterapia FOLFOX.

Lamin A/C (LMNA). *LMNA* (13) ,también conocido como “gen de la laminina”, se encuentra en la región cromosómica 1q21.3, donde codifica para la síntesis de una proteína necesaria para la formación de matriz de la lámina nuclear, una estructura adyacente a la membrana nuclear interna que podría estar relacionada con la integridad del núcleo celular, la estructura de la cromatina y al expresión de diversos genes. Su expresión es mayor de lo normal en las células de la vesícula biliar y de la piel.

El estudio del transcriptoma diferencial (8) reveló que la expresión de *LMNA* disminuye tras la exposición a quimioterapia FOLFOX.

Sestrin 1 (SESNI). *SESNI* (14) se encuentra región cromosómica 6q21 y codifica para la expresión de una proteína de la familia de las sestrinas. Estas proteínas se relacionan con la proteína supresora de tumores p53, influyendo en la respuesta del ADN a las lesiones y al daño oxidativo. La sestrina 1 también interviene en la regeneración de compuestos antioxidantes, por lo que se ha relacionado al aumento de la expresión de este gen con un marcador potencial del daño secundario a la exposición a la radiación. Su expresión es mayor en las células testiculares y ováricas.

El estudio del transcriptoma diferencial (8) reveló que la expresión de *SESNI* aumenta tras la exposición a quimioterapia FOLFOX.

Thrombospondin 1 (THBS1). *THBS1* (15) es un gen localizado en la región cromosómica 15q14 que codifica para una proteína que actúa como un inhibidor de la angiogénesis capaz de unirse a receptores de las células endoteliales. Esta proteína también está relacionada con las uniones intercelulares y entre célula y matriz celular, además de jugar un rol importante en la agregación plaquetaria y en la supresión de células tumorales. Se expresa con mayor intensidad en las células del apéndice cecal y de la vesícula biliar.

El estudio del transcriptoma diferencial (8) reveló que la expresión de *THBS1* disminuye tras la exposición a quimioterapia FOLFOX.

Small Integral Membrane Protein 1 (SMIMI). El gen *SMIMI* (16) se localiza en la región cromosómica 1p36.32 y codifica para una proteína de pequeño tamaño que participa en la síntesis eritrocitaria, actuando como proteína transmembrana en la membrana celular del hematíe.

Recientemente, se ha demostrado que variaciones en la expresión de *SMIMI* determinan el antígeno del grupo sanguíneo Vel -, un grupo sanguíneo raro pero clínicamente importante (16) .Se expresa ampliamente en las células testiculares y en las de la médula ósea.

El estudio del transcriptoma diferencial (8) reveló un disminución en la expresión de *SMIMI* tras la exposición a quimioterapia FOLFOX.

2. Hipótesis de trabajo y objetivos

2.1. Planteamiento experimental

Un gran número de los pacientes tratados con QT adyuvante o neoadyuvante con FOLFOX/CAPEOX se beneficiará de un aumento de la supervivencia a los 5 años y de un incremento del tiempo libre de enfermedad a los tres años. Sin embargo, los efectos adversos de la QT pueden ser graves y/o cronificarse en el tiempo, disminuyendo la calidad de vida de estos pacientes.

Este trabajo pretende establecer las posibles correlaciones entre los niveles de expresión diferencial de genes en leucocitos de pacientes antes y después de QT basada en oxaliplatino con parámetros hematológicos de pacientes tratados con QT FOLFOX/CAPEOX y afectos por CCR.

2.2. Objetivos

- a. Establecer correlaciones entre los diferentes parámetros de función hepática anteriores a la QT y parámetros de función hepática posteriores a la quimioterapia.
- b. Establecer correlaciones entre parámetros de función hepática y niveles de electrolitos y de glucosa, antes y después de la quimioterapia.
- c. Establecer correlaciones entre los niveles de expresión de genes con expresión diferencial por QT basada en oxaliplatino y parámetros analíticos de función hepática, iones y glucosa.

3. Materiales y métodos

3.1 Selección de pacientes y controles

Este estudio se llevó a cabo con la autorización del Comité Ético del Hospital Universitario de Canarias y del Comité Ético del Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria. Se informó a los pacientes correctamente y se solicitó su consentimiento informado.

Se seleccionaron a 27 pacientes (17 varones y 10 mujeres) con edades comprendidas entre los 41 y los 84 años de edad (edad media = 66,14 años; mediana=65 años). Todos ellos tratados entre 2010 y 2017. De los pacientes elegidos, ninguno había sido diagnosticado de cáncer con anterioridad, ni recibido tratamiento quimio o radioterápico.

Los pacientes fueron tratados con el esquema de tratamiento FOLFOX o con el esquema de tratamiento CAPEOX, con las siguientes pautas:

Esquema FOLFOX

Día 1: Oxaliplatino 100 mg/m² IV en 2 horas + ácido folínico 400 mg/m² IV en 2 horas + 5-Fluoracilo 400 mg/m² en bolo.

Día 2: 5-Fluoracilo 1200mg/m²/día durante 46 horas en infusión continua, (2400mg/m²).

Repetición de este ciclo cada dos semanas hasta finalizar el esquema.

Esquema CAPEOX

Día 1: Oxaliplatino 130 mg/m² IV en 2 horas

Días 1–14: Capecitabina 850–1,000 mg/m² vía oral cada 12 horas.

Repetición de este ciclo cada 21 días hasta finalizar el esquema.

3.2 Recopilación de niveles de expresión génica en leucocitos de pacientes con CCR

Los niveles de expresión de los genes de este estudio en cada paciente habían sido determinados con anterioridad como objeto de otros estudios de nuestro grupo (8).

3.3 Recopilación de datos analíticos de los pacientes

Se recopilaron las analíticas completas de estos pacientes en diferentes momentos de su tratamiento, obteniéndose al menos una analítica antes de comenzar el tratamiento neoadyuvante o adyuvante FOLFOX y varias analíticas (entre 1 y 8, dependiendo del paciente) antes de cada ciclo de tratamiento quimioterápico.

Elaboramos un documento Excel® con los siguientes datos: edad, parámetros de función hepática, niveles de electrolitos (Na, K, Ca), de glucosa y de hemoglobina glicosilada (HbA1c), creando una analítica con los datos de individuales de cada paciente hasta la finalización de su tratamiento, fallecimiento o abandono del estudio.

A partir del quinto ciclo de QT, el tamaño muestral se reduce. Para evitar la pérdida de precisión, se decide utilizar la información de los pacientes hasta el quinto ciclo de quimioterapia, hallando los valores medios para cada parámetro analítico con el programa informático SPSS, versión 21.

3.4 Determinación de correlaciones

Utilizando el programa informático SPSS, versión 21 se establecieron las diferentes correlaciones entre la expresión diferencial de los genes elegidos para el estudio y los parámetros clínicos. Estos datos fueron tabulados para su posterior estudio.

4. Resultados

Se analizaron las correlaciones presentes en los datos obtenidos de los pacientes, tanto antes del tratamiento quimioterápico como después del tratamiento QT.

4.1. Variación de los parámetros clínicos previos y posteriores al tratamiento quimioterápico

Tras registrar los valores medios de los parámetros clínicos de los pacientes del estudio antes de recibir tratamiento y tras cada uno de los ciclos de QT (hasta cumplir cinco ciclos). Se observaron variaciones clínicamente significativas en ocho parámetros (Tabla 1) (Figura 2).

Hemoglobina. La hemoglobina media de los pacientes se mantuvo dentro de los parámetros de la normalidad, con una disminución notable tras el primer ciclo de QT y una tendencia al aumento tras el resto de ciclos sin llegar a exceder el límite superior para este valor.

Plaquetas. Los valores medios de plaquetas caen tras el primer ciclo de quimioterapia, disminuyendo por debajo de la normalidad tras el segundo ciclo (media: 142,52), volviendo a los valores normales después del tercer y cuarto ciclo. Tras el quinto ciclo, el número de plaquetas vuelve a disminuir por debajo de la normalidad, determinando una plaquetopenia leve con poca repercusión clínica (media: 149,67).

		PRE	QT1	QT2	QT3	QT4	QT5
Hemoglobina	Media	12,96	12,18	13,3	13,61	14,15	14,2
	Error	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4
Plaquetas	Media	280,04	197,64	142,52	200,71	176	149,67
	Error	22,2	18,7	9,5	20,8	18,9	22,06
Bilirrubina total	Media	0,43	0,58	0,81	0,67	0,33	-
	Error	0,2	0,1	0,5	0,4	-	-
ALT	Media	23,23	26,65	33,3	28,14	32,13	32,25
	Error	2,5	3,1	3,8	3,4	4,9	8,7
AST	Media	24,38	31,48	35,4	26,43	31,63	28,75
	Error	2,8	2,75	3,26	2,3	4,7	2,5
GGT	Media	33,25	81,85	87,05	61,23	67,25	74,25
	Error	3,9	14	12,9	12,4	18,4	31
LDH	Media	168,07	229,95	221,26	188,62	205	173
	Error	7,9	13,7	13,7	9,4	21,3	7,3
FA	Media	99,9	116,7	133,7	106,71	91,14	79,5
	Error	11,6	10,4	17,3	11,4	18,4	19,7

Tabla 1. Parámetros clínicos con variaciones clínicamente significativas. PRE: Valores anteriores a tratamiento con quimioterapia. QT1, QT2, QT3, QT4 y QT5 indican el ciclo de QT con el que se corresponden los valores clínicos. En rojo se destacan los valores alterados.

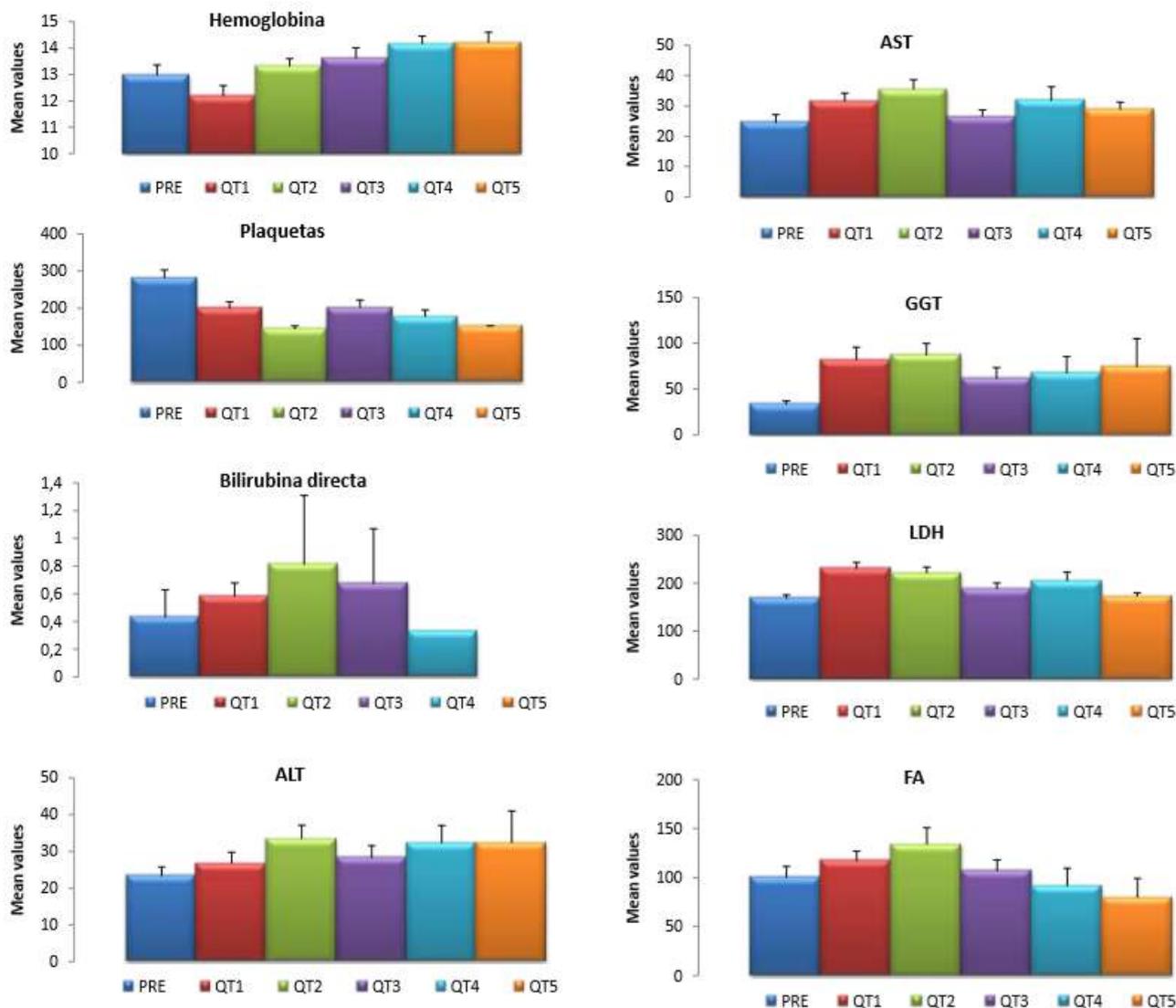


Figura 2. Evolución de los parámetros clínicos con variaciones clínicamente significativas. PRE: Valores anteriores a tratamiento con quimioterapia. QT1, QT2, QT3, QT4 y QT5 indican el ciclo de QT con el que se corresponden los valores clínicos.

Gamma glutamil transpeptidasa (GGT). GGT sufre una elevación clínicamente significativa tras el primer ciclo de quimioterapia, elevándose este parámetro por encima de los valores normales (media: 81,85). En los ciclos posteriores, este valor tiende a disminuir pero sin llegar a la normalidad. Para el quinto ciclo de quimioterapia, el valor medio de GGT fue de 74,25 (media: 33,25 al principio del estudio).

Lactato deshidrogenasa (LDH). LDH se mantuvo dentro de los parámetros de la normalidad a lo largo del estudio, si bien puede apreciarse una discreta tendencia al alza

que se estabiliza al final del quinto ciclo. El valor más elevado corresponde al ciclo dos (media: 229,95), disminuyendo progresivamente hasta llegar a cifras cercanas a las obtenidas con anterioridad al tratamiento (media de 173 en el quinto ciclo frente a 168,07 PRE-QT).

Fosfatasa alcalina (FA). Aunque la FA se mantuvo dentro de los parámetros de la normalidad a lo largo de todo el estudio, es posible observar una tendencia al alza en los dos primeros ciclos (medias de 116,7 y 133,7) acompañados de un descenso progresivo que se hace más marcado al llegar al quinto ciclo (media: 79,5).

4.2. Análisis de correlaciones

El análisis de los parámetros clínicos y las alteraciones de la expresión génica de los pacientes antes de someterse a QT [Tabla 2] [Tabla 3], mostró catorce correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$), de las cuales nueve fueron correlaciones positivas y cinco correlaciones negativas. También se encontró una correlación positiva marginalmente significativa ($p = 0,058$).

Tras cinco ciclos de QT [Tabla 4] [Tabla 5], las correlaciones anteriormente descritas dejaron de ser clínicamente significativas.

Después de la terapia FOLFOX/CAPEOX se encontraron nuevas correlaciones: nueve correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$), de las cuales cuatro fueron correlaciones positivas y cinco fueron correlaciones negativas. También se encontraron dos correlaciones marginalmente significativas, una positiva ($p = 0,056$) y otra negativa ($p = 0,06$).

Estos datos se muestran en las tablas siguientes, con los datos significativos resaltados en amarillo.

		Hb	PLAQ	BIL	ALT	AST	GGT	LDH	FA	GLU	Na	K	Ca	
Spearman's rho	Hb	Correlation Coefficient	1,000	-,797	,226	,292	,318	,467	-,393	,136	-,256	,204	-,663	,119
		Sig. (2-tailed)	.	,002	,530	,383	,340	,174	,383	,689	,422	,571	,037	,779
		N	12	12	10	11	11	10	7	11	12	10	10	8
	PLAQ	Correlation Coefficient	-,797	1,000	-,343	-,621	-,318	-,200	-,143	-,077	-,130	,023	,657	,190
		Sig. (2-tailed)	,002	.	,301	,031	,340	,580	,760	,812	,688	,946	,039	,651
		N	12	13	11	12	11	10	7	12	12	11	10	8
	BIL	Correlation Coefficient	,226	-,343	1,000	,277	,226	,104	,757	,076	-,324	-,578	-,140	-,880
		Sig. (2-tailed)	,530	,301	.	,409	,530	,789	,049	,824	,361	,103	,742	,021
		N	10	11	11	11	10	9	7	11	10	9	8	6
	ALT	Correlation Coefficient	,292	-,621	,277	1,000	,648	,348	-,126	-,098	,380	-,115	-,227	-,180
		Sig. (2-tailed)	,383	,031	,409	.	,031	,325	,788	,761	,249	,753	,557	,699
		N	11	12	11	12	11	10	7	12	11	10	9	7
	AST	Correlation Coefficient	,318	-,318	,226	,648	1,000	,891	-,036	,382	,255	,342	,050	-,036
Sig. (2-tailed)		,340	,340	,530	,031	.	,001	,939	,247	,449	,368	,898	,939	
N		11	11	10	11	11	10	7	11	11	9	9	7	
GGT	Correlation Coefficient	,467	-,200	,104	,348	,891	1,000	-,771	,333	,152	,109	,071	-,029	
	Sig. (2-tailed)	,174	,580	,789	,325	,001	.	,072	,347	,676	,797	,867	,957	
	N	10	10	9	10	10	10	6	10	10	8	8	6	
LDH	Correlation Coefficient	-,393	-,143	,757	-,126	-,036	-,771	1,000	,036	-,107	-,088	,429	-,500	
	Sig. (2-tailed)	,383	,760	,049	,788	,939	,072	.	,939	,819	,868	,397	,391	
	N	7	7	7	7	7	6	7	7	7	6	6	5	
FA	Correlation Coefficient	,136	-,077	,076	-,098	,382	,333	,036	1,000	-,214	,228	,025	,929	
	Sig. (2-tailed)	,689	,812	,824	,761	,247	,347	,939	.	,527	,526	,949	,003	
	N	11	12	11	12	11	10	7	12	11	10	9	7	
GLU	Correlation Coefficient	-,256	-,130	-,324	,380	,255	,152	-,107	-,214	1,000	-,236	,113	-,595	
	Sig. (2-tailed)	,422	,688	,361	,249	,449	,676	,819	,527	.	,511	,756	,120	
	N	12	12	10	11	11	10	7	11	12	10	10	8	
Na	Correlation Coefficient	,204	,023	-,578	-,115	,342	,109	-,088	,228	-,236	1,000	-,221	,424	
	Sig. (2-tailed)	,571	,946	,103	,753	,368	,797	,868	,526	,511	.	,540	,295	
	N	10	11	9	10	9	8	6	10	10	11	10	8	
K	Correlation Coefficient	-,663	,657	-,140	-,227	,050	,071	,429	,025	,113	-,221	1,000	,204	
	Sig. (2-tailed)	,037	,039	,742	,557	,898	,867	,397	,949	,756	,540	.	,629	

	N	10	10	8	9	9	8	6	9	10	10	10	8
Ca	Correlation Coefficient	,119	,190	-,880	-,180	-,036	-,029	-,500	,929	-,595	,424	,204	1,000
	Sig. (2-tailed)	,779	,651	,021	,699	,939	,957	,391	,003	,120	,295	,629	.
	N	8	8	6	7	7	6	5	7	8	8	8	8
ROMO	Correlation Coefficient	,315	-,066	-,305	-,133	-,336	-,006	-,607	,210	-,522	,055	-,371	,500
	Sig. (2-tailed)	,319	,831	,362	,680	,312	,987	,148	,513	,082	,871	,291	,207
	N	12	13	11	12	11	10	7	12	12	11	10	8
SERPINH1	Correlation Coefficient	,091	-,121	,105	,520	,355	,527	-,607	-,049	,371	-,023	-,061	-,095
	Sig. (2-tailed)	,779	,694	,758	,083	,285	,117	,148	,880	,235	,946	,868	,823
	N	12	13	11	12	11	10	7	12	12	11	10	8
AGAPI	Correlation Coefficient	,236	-,084	-,343	,292	,152	,383	-,829	-,155	,223	,247	-,025	-,143
	Sig. (2-tailed)	,484	,795	,332	,384	,676	,308	,042	,650	,509	,492	,949	,760
	N	11	12	10	11	10	9	6	11	11	10	9	7
AIF1	Correlation Coefficient	-,079	-,009	-,220	-,091	-,550	-,600	,200	-,261	-,442	-,031	-,067	,214
	Sig. (2-tailed)	,829	,979	,569	,802	,125	,088	,747	,467	,200	,933	,865	,645
	N	10	11	9	10	9	9	5	10	10	10	9	7
LMNA	Correlation Coefficient	-,067	,285	,190	,335	,357	,214	-,800	,133	,050	-,253	,286	,200
	Sig. (2-tailed)	,865	,425	,652	,379	,385	,610	,200	,732	,898	,545	,535	,747
	N	9	10	8	9	8	8	4	9	9	8	7	5
SESN1	Correlation Coefficient	-,103	,079	-,254	-,109	-,100	,033	-,300	,033	,127	,218	,476	,429
	Sig. (2-tailed)	,777	,829	,544	,780	,798	,932	,624	,932	,726	,604	,233	,397
	N	10	10	8	9	9	9	5	9	10	8	8	6
THBS1	Correlation Coefficient	-,073	-,084	,832	,237	-,248	-,248	,714	-,373	-,291	-,601	,167	-,357
	Sig. (2-tailed)	,832	,795	,003	,482	,489	,489	,111	,259	,385	,066	,668	,432
	N	11	12	10	11	10	10	6	11	11	10	9	7
SMIM1	Correlation Coefficient	-,564	,560	-,610	-,543	-,345	-,317	-,143	,114	-,210	,526	,393	,679
	Sig. (2-tailed)	,071	,058	,061	,084	,328	,406	,787	,739	,536	,118	,295	,094
	N	11	12	10	11	10	9	6	11	11	10	9	7

Tabla 2. Correlación entre parámetros clínicos hematológicos y genes seleccionados para este estudio anteriores al tratamiento quimioterápico.

		Hb	PLAQ	BIL	ALT	AST	GGT	LDH	FA	GLU	Na	K	Ca	
Spearman's rho	Hb	Correlation Coefficient	1,000	-,100	-,275	,761	,231	,054	,130	,059	-,261	,515	,348	-,462
		Sig. (2-tailed)	.	,797	,474	,017	,550	,899	,738	,881	,498	,296	,499	,434
		N	9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5
	PLAQ	Correlation Coefficient	-,100	1,000	,274	-,276	-,460	,060	,527	-,267	,293	,029	,029	-,718
		Sig. (2-tailed)	,797	.	,476	,472	,213	,888	,145	,488	,444	,957	,957	,172
		N	9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5
	BIL	Correlation Coefficient	-,275	,274	1,000	-,550	-,550	,083	,550	-,274	-,069	-,399	,131	-,725
		Sig. (2-tailed)	,474	,476	.	,125	,125	,845	,125	,476	,860	,434	,805	,165
		N	9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5
	ALT	Correlation Coefficient	,761	-,276	-,550	1,000	,534	,060	-,290	,393	-,151	,551	,543	,205
		Sig. (2-tailed)	,017	,472	,125	.	,139	,887	,449	,295	,698	,257	,266	,741
		N	9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5
	AST	Correlation Coefficient	,231	-,460	-,550	,534	1,000	,633	-,269	,720	-,303	,580	,086	,051
Sig. (2-tailed)		,550	,213	,125	,139	.	,092	,484	,029	,429	,228	,872	,935	
N		9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5	
GGT	Correlation Coefficient	,054	,060	,083	,060	,633	1,000	,253	,587	-,687	,667	,300	-,600	
	Sig. (2-tailed)	,899	,888	,845	,887	,092	.	,545	,126	,060	,219	,624	,400	
	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	5	5	4	
LDH	Correlation Coefficient	,130	,527	,550	-,290	-,269	,253	1,000	-,326	,164	,147	,174	-,975	
	Sig. (2-tailed)	,738	,145	,125	,449	,484	,545	.	,391	,674	,781	,742	,005	
	N	9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5	
FA	Correlation Coefficient	,059	-,267	-,274	,393	,720	,587	-,326	1,000	-,502	,406	,143	-,051	
	Sig. (2-tailed)	,881	,488	,476	,295	,029	,126	,391	.	,168	,425	,787	,935	
	N	9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5	
GLU	Correlation Coefficient	-,261	,293	-,069	-,151	-,303	-,687	,164	-,502	1,000	-,647	-,551	-,105	
	Sig. (2-tailed)	,498	,444	,860	,698	,429	,060	,674	,168	.	,165	,257	,866	
	N	9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5	
Na	Correlation Coefficient	,515	,029	-,399	,551	,580	,667	,147	,406	-,647	1,000	,638	-,211	
	Sig. (2-tailed)	,296	,957	,434	,257	,228	,219	,781	,425	,165	.	,173	,789	
	N	6	6	6	6	6	5	6	6	6	6	6	4	
K	Correlation Coefficient	,348	,029	,131	,543	,086	,300	,174	,143	-,551	,638	1,000	-,211	

		Sig. (2-tailed)	,499	,957	,805	,266	,872	,624	,742	,787	,257	,173	.	,789
		N	6	6	6	6	6	5	6	6	6	6	6	4
	Ca	Correlation Coefficient	-.462	-.718	-.725	,205	,051	-.600	-.975	-.051	-.105	-.211	-.211	1,000
		Sig. (2-tailed)	,434	,172	,165	,741	,935	,400	,005	,935	,866	,789	,789	.
		N	5	5	5	5	5	4	5	5	5	4	4	5
	ROMO	Correlation Coefficient	-.337	-.335	,581	-.343	,018	,355	,108	,539	-.578	-.154	,200	-.400
		Sig. (2-tailed)	,414	,417	,131	,405	,966	,388	,798	,168	,133	,805	,747	,600
		N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	5	5	4
	SERPINH1	Correlation Coefficient	,353	-.485	-.550	,366	,542	-.072	,038	-.033	,298	,145	-.257	,359
		Sig. (2-tailed)	,352	,185	,125	,333	,132	,865	,923	,932	,436	,784	,623	,553
		N	9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5
	AGAP	Correlation Coefficient	,252	-.326	-.550	,475	,576	,054	-.109	-.075	,412	,029	,143	,359
		Sig. (2-tailed)	,513	,391	,125	,197	,105	,899	,780	,847	,271	,957	,787	,553
		N	9	9	9	9	9	8	9	9	9	6	6	5
	AIFI	Correlation Coefficient	,323	-.071	,247	,479	-.204	-.299	-.275	-.048	,072	-.462	,600	-.400
		Sig. (2-tailed)	,435	,867	,555	,230	,629	,471	,509	,911	,866	,434	,285	,600
		N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	5	5	4
	LMNA	Correlation Coefficient	,695	-.310	-.577	,683	,611	,060	,012	-.024	,180	,462	,300	,400
		Sig. (2-tailed)	,056	,456	,134	,062	,108	,888	,978	,955	,670	,434	,624	,600
		N	8	8	8	8	8	8	8	8	8	5	5	4
	SES1	Correlation Coefficient	,116	-.657	,131	,290	,261	,174	-.058	,714	-.232	,000	,200	-.1
		Sig. (2-tailed)	,827	,156	,805	,577	,618	,742	,913	,111	,658	1,000	,800	.
		N	6	6	6	6	6	6	6	6	6	4	4	3
	THBS1	Correlation Coefficient	,198	,143	-.612	,306	,685	,595	,018	,536	-.324	,975	,200	,400
		Sig. (2-tailed)	,670	,760	,144	,504	,090	,159	,969	,215	,478	,005	,747	,600
		N	7	7	7	7	7	7	7	7	7	5	5	4
	SMIM1	Correlation Coefficient	,571	,286	-.612	,607	,667	,414	-.143	,536	-.126	,949	,400	,200
		Sig. (2-tailed)	,180	,535	,144	,148	,102	,355	,760	,215	,788	,051	,600	,800
		N	7	7	7	7	7	7	7	7	7	4	4	4

Tabla 3. Correlación entre parámetros clínicos hematológicos y genes de este estudio posteriores al tratamiento quimioterápico.

			ROMO	SERPINH1	AGAP	AIF1	LMNA	SESN1	THBS1	SMIM1
Spearman's rho	ROMO	Correlation Coefficient	1,000	-,132	0,175	0,459	-0,478	0,272	-0,289	0,172
		Sig. (2-tailed)		0,625	0,533	0,098	0,098	0,368	0,296	0,557
		N	17	16	15	14	13	13	15	14
	SERPINH1	Correlation Coefficient	-0,132	1,000	0,813	-0,596	0,396	0,567	-,046	-0,365
		Sig. (2-tailed)	0,625		0,000	0,025	0,180	0,043	0,869	0,200
		N	16	16	15	14	13	13	15	14
	AGAP	Correlation Coefficient	0,175	0,813	1,000	-0,418	-,005	0,750	-0,284	-0,150
		Sig. (2-tailed)	0,533	0,000		0,156	0,986	0,005	0,326	0,610
		N	15	15	15	13	13	12	14	14
	AIF1	Correlation Coefficient	0,459	-0,596	-0,418	1,000	-0,280	-,399	0,046	0,053
		Sig. (2-tailed)	0,098	0,025	0,156		0,379	0,199	0,876	0,871
		N	14	14	13	14	12	12	14	12
	LMNA	Correlation Coefficient	-0,478	0,396	-0,005	-0,280	1,000	-0,182	0,352	-0,032
		Sig. (2-tailed)	0,098	0,180	0,986	0,379		0,571	0,239	0,923
		N	13	13	13	12	13	12	13	12
	SESN1	Correlation Coefficient	0,272	0,567	0,750	-0,399	-0,182	1,000	-0,459	0,055
		Sig. (2-tailed)	0,368	0,043	0,005	0,199	0,571		0,114	0,873
		N	13	13	12	12	12	13	13	11
	THBS1	Correlation Coefficient	-0,289	-0,046	-0,284	0,046	0,352	-0,459	1,000	-0,292
		Sig. (2-tailed)	0,296	0,869	0,326	0,876	0,239	0,114		0,334
		N	15	15	14	14	13	13	15	13
	SMIM1	Correlation Coefficient	0,172	-0,365	-0,150	0,053	-0,032	0,055	-0,292	1,000
		Sig. (2-tailed)	0,557	0,200	0,610	0,871	0,923	0,873	0,334	
		N	14	14	14	12	12	11	13	14

Tabla 4. Correlaciones entre los genes seleccionados para este estudio anteriores al tratamiento quimioterápico.

		ROMO	SERPINH1	AGAP	AIF1	LMNA	SESN1	THBS1	SMIM1	
Spearman's rho	ROMO	Correlation Coefficient	1,000	-0,632	-0,399	,249	-0,538	0,396	-0,462	-0,539
		Sig. (2-tailed)		0,015	0,141	0,391	0,039	0,180	0,096	0,070
		N	15	14	15	14	15	13	14	12
	SERPINH1	Correlation Coefficient	-0,632	1,000	0,464	-0,425	0,816	0,349	0,188	0,521
		Sig. (2-tailed)	0,015		0,070	0,148	0,000	0,266	0,538	0,101
		N	14	16	16	13	14	12	13	11
	AGAP	Correlation Coefficient	-0,399	0,464	1,000	-0,513	0,588	0,209	-0,044	0,518
		Sig. (2-tailed)	0,141	0,070		0,061	0,021	0,493	0,881	0,084
		N	15	16	17	14	15	13	14	12
	AIF1	Correlation Coefficient	0,249	-0,425	-0,513	1,000	-0,156	-0,231	-0,170	-0,282
		Sig. (2-tailed)	0,391	0,148	0,061		0,594	0,471	0,578	0,401
		N	14	13	14	14	14	12	13	11
	LMNA	Correlation Coefficient	-0,538	0,816	0,588	-0,156	1,000	0,055	0,398	,615
		Sig. (2-tailed)	0,039	0,000	0,021	0,594		0,859	0,159	0,033
		N	15	14	15	14	15	13	14	12
	SESN1	Correlation Coefficient	0,396	0,349	0,209	-0,231	0,055	1,000	-0,593	-0,018
		Sig. (2-tailed)	0,180	0,266	0,493	0,471	0,859		0,033	0,960
		N	13	12	13	12	13	13	13	10
	THBS1	Correlation Coefficient	-0,462	0,188	-0,044	-0,170	0,398	-0,593	1,000	0,155
		Sig. (2-tailed)	0,096	0,538	0,881	0,578	0,159	0,033		0,650
		N	14	13	14	13	14	13	14	11
	SMIM1	Correlation Coefficient	-0,539	0,521	0,518	-0,282	0,615	-0,018	0,155	1,000
		Sig. (2-tailed)	0,070	0,101	0,084	0,401	0,033	0,960	0,650	
		N	12	11	12	11	12	10	11	12

Tabla 5. Correlaciones entre los genes seleccionados para este estudio posteriores al tratamiento quimioterápico.

4.2.1. Correlaciones entre parámetros clínicos de función hepática

Se estudiaron ocho marcadores clínicos de función hepática (Hb, plaquetas, bilirrubina, ALT, AST, GGT, LDH y FA). Los datos de los pacientes obtenidos con anterioridad a la terapia QT muestran tres correlaciones positivas clínicamente significativas y dos correlaciones negativas clínicamente significativas. Estas correlaciones desaparecieron tras el régimen FOLFOX/CAPEOX, apareciendo dos nuevas correlaciones positivas clínicamente significativas.

Correlación entre PLAQ y Hb. Antes del inicio de terapia QT, existe una correlación negativa de fuerza elevada y estadísticamente significativa ($\rho = -0,797$; $p = 0,002$) entre la concentración de hemoglobina (Hb) y el número de plaquetas (PLAQ) de los sujetos a estudio. Esta correlación desaparece tras administrar FOLFOX/CAPEOX.

Correlación entre ALT y PLAQ. Antes del inicio de terapia QT, existe una correlación negativa de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = -0,621$; $p = 0,031$) entre el número de plaquetas y las cifras de alanina aminotransferasa (ALT).

Correlación entre AST y ALT. Antes del inicio de terapia QT, existe una correlación positiva de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,648$; $p = 0,031$) entre las cifras de ALT y las cifras de aspartato aminotransferasa (AST). Esta correlación desaparece tras administrar FOLFOX/CAPEOX.

Correlación entre GGT y AST. Antes del inicio de terapia QT, existe una correlación positiva de fuerza muy elevada y estadísticamente muy significativa ($\rho = 0,891$; $p = 0,001$) entre las cifras de gamma glutamil transpeptidasa (GGT) y los niveles de AST. Esta correlación desaparece tras administrar FOLFOX/CAPEOX.

Correlación entre LDH y BIL. Antes del inicio de terapia QT, existe una correlación positiva de fuerza elevada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,757$; $p = 0,049$) entre las cifras de lactato deshidrogenasa (LDH) y los niveles de bilirrubina. Esta correlación desaparece tras administrar FOLFOX/CAPEOX.

Correlación entre ALT y Hb. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una nueva correlación positiva de fuerza elevada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,761$; $p = 0,017$) entre las cifras de ALT y los niveles de hemoglobina. Esta correlación desaparece tras administrar FOLFOX/CAPEOX.

Correlación entre FA y AST. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una nueva correlación positiva de fuerza elevada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,720$; $p = 0,029$) entre los niveles de FA y los niveles de AST. Esta correlación desaparece tras administrar FOLFOX/CAPEOX.

4.1.1. Correlaciones entre parámetros clínicos de función hepática, electrolitos séricos y glucosa

Se estudiaron ocho marcadores clínicos de función hepática (Hb, plaquetas, bilirrubina, ALT, AST, GGT, LDH y FA) junto con tres electrolitos séricos (K, Na, Ca) y glucosa. Se encontraron dos correlaciones positivas clínicamente significativas entre estos parámetros y una correlación negativa clínicamente significativa. Estas correlaciones desaparecieron tras el régimen FOLFOX/CAPEOX, apareciendo una correlación negativa clínicamente significativa y una correlación negativa marginalmente significativa.

Correlación entre K y Hb. Existe una correlación negativa de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = -0,663$; $p = 0,037$) entre los niveles de potasio (K) y las cifras de Hb.

Correlación entre K y PLAQ. Existe una correlación positiva de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,657$; $p = 0,039$) entre los niveles de K y el número de plaquetas (PLAQ).

Correlación entre Ca y FA. Existe una correlación positiva de fuerza muy elevada y estadísticamente muy significativa ($\rho = 0,929$; $p = 0,003$) entre los niveles de calcio en sangre (Ca) y las cifras de fosfatasa alcalina (FA).

Correlación entre GLU y GGT. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación negativa de fuerza moderada y marginalmente significativa ($\rho = -0,687$; $p = 0,060$) entre los niveles de glucosa (GLU) y los niveles de Gamma glutamil transpeptidasa (GGT).

Correlación entre Ca y LDH. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación negativa de fuerza muy elevada y estadísticamente significativa ($\rho = -0,975$; $p = 0,005$) entre los niveles de calcio (Ca) y los niveles de LDH.

4.1.1. Correlaciones entre la expresión de genes seleccionados y parámetros clínicos

Los parámetros clínicos anteriormente estudiados se correlacionaron con los transcriptomas seleccionados, encontrando una correlación positiva clínicamente significativa, una correlación negativa clínicamente significativa y una correlación positiva marginalmente significativa. Estas correlaciones desaparecieron tras el régimen FOLFOX/CAPEOX, apareciendo una correlación positiva clínicamente significativa, una correlación negativa clínicamente significativa y una correlación positiva marginalmente significativa.

Correlación entre *AGAP1* y LDH. Existe una correlación negativa de fuerza elevada y estadísticamente significativa ($\rho = -0,829$; $p = 0,042$) entre la expresión de “ArfGAP with GTPase domain, ankyrin repeat and PH domain 1” (*AGAP1*) y las cifras de LDH.

Correlación entre *THBS1* y BIL. Existe una correlación positiva de fuerza elevada y estadísticamente muy significativa ($\rho = 0,832$; $p = 0,003$) entre la expresión de “Thrombospondin 1 gene” (*THBS1*) y las cifras de bilirrubina total (BIL).

Correlación entre *SMIMI* y PLAQ. Existe una correlación positiva de fuerza moderada, marginalmente significativa ($\rho = 0,560$; $p = 0,058$) entre la expresión de “Small Integral Membrane Protein 1” (*SMIMI*) y el número de plaquetas.

Correlación entre *LMNA* y Hb. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación positiva de fuerza moderada y marginalmente significativa ($\rho = -0,695$; $p = 0,056$) entre la expresión de Lamin A/C (*LMNA*) en leucocitos de pacientes y los niveles de hemoglobina.

Correlación entre *SESNI* y Ca. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación negativa de fuerza muy elevada y estadísticamente significativa ($\rho = -1$; $p < 0,0001$) entre la expresión de Sestrina 1 (*SESNI*) y los niveles de calcio.

Correlación entre *THBS1* y Ca. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación positiva de fuerza muy elevada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,975$; $p < 0,005$) entre la expresión de Trombospondina 1 (*THBS1*) y los niveles de calcio.

4.1.1. Correlaciones entre la expresión de genes seleccionados

Se establecieron correlaciones entre la expresión de los genes seleccionados, encontrando una tres correlaciones positivas clínicamente significativas y una correlación negativa clínicamente significativa. Estas correlaciones desaparecieron tras el régimen FOLFOX/CAPEOX, apareciendo dos correlaciones positivas clínicamente significativas y tres correlaciones negativas clínicamente significativas.

Correlación entre *AGAP* y *SERPINH1*. Existe una correlación positiva de fuerza elevada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,813$; $p = < 0,001$) entre la expresión de *AGAP* y la expresión de *SERPINH1*.

Correlación entre *AIFI* y *SERPINH1*. Existe una correlación negativa de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = -0,596$; $p = 0,025$) entre la expresión de *AIFI* y la expresión de *SERPINH1*.

Correlación entre *SESNI* y *SERPINH1*. Existe una correlación positiva de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,567$; $p = 0,043$) entre la expresión de *SESNI* y la expresión de *SERPINH1*.

Correlación entre *SESNI* y *AGAP*. Existe una correlación positiva de fuerza elevada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,750$; $p = 0,005$) entre la expresión de *SESNI* y la expresión de *AGAP*.

Correlación entre *SERPINH1* y *ROMO*. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación negativa de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = -0,632$; $p = 0,015$) entre la expresión de *SERPINH1* y la expresión de *ROMO*.

Correlación entre *LMNA* y *ROMO*. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación negativa de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = -0,538$; $p = 0,039$) entre la expresión de *LMNA* y la expresión de *ROMO*.

Correlación entre *LMNA* y *AGAP*. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación positiva de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,588$; $p = 0,021$) entre la expresión de *LMNA* y la expresión de *AGAP*.

Correlación entre *THBS1* y *SESNI*. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación negativa de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = -0,593$; $p = 0,033$) entre la expresión de *THBS1* y la expresión de *SESNI*.

Correlación entre *SMIMI* y *LMNA*. Después de cinco ciclos de FOLFOX/CAPEOX, aparece una correlación positiva de fuerza moderada y estadísticamente significativa ($\rho = 0,615$; $p = 0,033$) entre la expresión de *SMIMI* y la expresión de *LMNA*.

5. Discusión

5.1. Evolución de parámetros hematológicos

Hemoglobina. El descenso de la concentración de hemoglobina tras el primer ciclo puede explicarse por la capacidad del oxaliplatino para unirse a esta molécula, creando aductos que alteran la estructura de la hemoglobina. Dependiendo de la dosis de oxaliplatino y el tiempo entre tratamientos, estos aductos crearán uniones más duraderas con la molécula, alterándola de forma temporal o definitiva y repercutiendo en la concentración total de hemoglobina (17). En nuestro estudio, los niveles de hemoglobina medios no descienden por debajo de valores normales, aumentando incluso en ciclos sucesivos, lo que parece demostrar que no se ha utilizado una dosis superior a lo tolerado en este grupo de pacientes y que los cambios a la molécula de hemoglobina son puntuales y reversibles.

Plaquetas. Los pacientes de este estudio se ven afectados de trombocitopenia en el segundo y en el quinto ciclo de quimioterapia. Existen tres mecanismos diferentes que podrían explicar esta reducción del conteo de plaquetas: Mielosupresión por toxicidad secundaria a la quimioterapia, creación de complejos plaqueta-oxaliplatino que determinan una trombocitopenia autoinmune y el secuestro plaquetario secundario a daño hepático (18).

Es este último mecanismo el más relevante para nuestro estudio en este caso, identificando en este descenso de plaquetas un marcador de daño hepático crónico directamente relacionado con el Síndrome de Obstrucción Sinusoidal. La toxicidad del oxaliplatino sobre el parénquima hepático produce una disrupción de la barrera sinusoidal y una fibrosis veno-oclusiva que determinan un aumento de la presión portal (18). Este congestión determinará una esplenomegalia (hasta un 86% de aumento de tamaño frente a un bazo normal) que se ha correlacionado directamente con la aparición

del SOS. La esplenomegalia en los pacientes tratados con terapias derivadas del oxaliplatino puede ser un signo de hipertensión portal secundaria a un SOS (18). En este caso, debería hacerse un seguimiento de los pacientes tratados con FOLFOX/CAPEOX que desarrollen trombocitopenia, no tanto por el riesgo de hemorragia (muy bajo en las trombocitopenias leves) sino por la relación de este hallazgo con la posible presencia de una lesión hepática crónica (19).

Bilirrubina total. Un aumento de la bilirrubina total se relaciona con la aparición de hemólisis secundaria al tratamiento con oxaliplatino. Esta alteración es reversible (20). En nuestro grupo, el descenso mínimo de la hemoglobina determinó un aumento modesto de la bilirrubina que no superó, en ningún caso, el límite de la normalidad. Este hallazgo corrobora, por lo tanto, las hipótesis de otros estudios que han encontrado un bajo grado de toxicidad hematológica en la terapia con fluoropirimidinas (4).

AST y ALT. Estas hormonas hepáticas se utilizan como marcadores de daño hepático. En estos pacientes, tanto AST como ALT se mantuvieron dentro de parámetros normales, lo que parece contradecir la existencia de lesión hepática que evidencia la trombocitopenia nombrada con anterioridad. Esto puede ser explicado por la tendencia a AST y ALT a elevarse en respuesta a una noxa especialmente agresiva (la aplicación de una dosis excesiva de FOLFOX y CAPEOX, por ejemplo) que determina una lisis celular violenta con rotura de las membranas celulares y liberación del contenido al medio circundante (21). En este caso, la quimioterapia en dosis terapéuticas determinaría un daño controlado (apoptosis con mínima liberación de contenido) acompañada de fenómenos de fibrosis y regeneración del parénquima que determinan la aparición de hipertensión portal a largo plazo (21).

GGT. Aunque GGT también puede considerarse un marcador de daño hepático, su elevación en este estudio acompañada de unos niveles normales de AST y ALT parece apuntar a otra función menos conocida de esta enzima. La GGT puede elevarse en respuesta al daño oxidativo de la quimioterapia y tener funciones tanto prooxidantes como antioxidantes por mecanismos hasta ahora poco conocidos (22). Un aumento de GGT puede verse acompañado de una elevación de la producción de radicales libres de oxígeno, dañando el ADN celular y provocando la muerte de las células tumorales. No obstante, este mismo mecanismo también eleva la probabilidad de que se produzcan mutaciones por inestabilidad genómica que darían lugar a nuevas estirpes tumorales

resistentes a FOLFOX/CAPEFOX (22). Por lo tanto, un aumento de la GGT podría ser un marcador de resistencia tumoral según algunos autores. Evitar el aumento de esta hormona mediante la asociación de otros fármacos (22) podría mejorar la respuesta al tratamiento quimioterápico.

Si el aumento de GGT se acompaña de una respuesta tumoral completa, podríamos encontrarnos ante un marcador de daño hepático crónico, requiriendo un seguimiento más estrecho del paciente y el uso de pruebas de función hepática para descartar fibrosis y regeneración nodular (22).

LDH. LDH podría actuar como un marcador indirecto de angiogénesis tumoral. Su aumento se ha relacionado con un peor pronóstico en los pacientes afectados por la enfermedad oncológica, mientras que su disminución tras la quimioterapia adyuvante se ha relacionado con un aumento modesto de la supervivencia en pacientes con metastásica avanzada (afectación de la vía biliar) (23). En nuestro estudio, LDH aumenta ligeramente durante el segundo ciclo de quimioterapia sin superar los valores normales, y se estabiliza después del quinto ciclo con valores similares (173 UI/l) a los obtenidos antes del tratamiento con FOLFOX/CAPEOX (168 UI/l). Esto podría indicar que la respuesta al tratamiento es adecuada, inhibiendo la angiogénesis tumoral. No obstante, se necesitaría realizar un estudio con una muestra suficiente de pacientes afectados por CCR para poder confirmar o descartar esta hipótesis.

FA. La FA se considera un marcador de pronóstico importante en el CCR. Su elevación en el CCR metastásico conlleva una disminución de la supervivencia. Los regímenes FOLFOX/CAPEOX logran disminuir este parámetro, aumentando la supervivencia de los pacientes afectados por enfermedad metastásica y siendo una buena opción como tratamiento paliativo (24). Los valores medios de FA de nuestro estudio disminuyen progresivamente a partir del segundo ciclo, lo que corrobora la información disponible sobre esta hormona. No obstante, el aumento de FA en los dos primeros ciclos podría, según algunos autores, ser otro marcador de daño hepático y un precursor del SOS secundario al uso de oxaliplatino y 5-FU/Capecitabina (6), requiriendo un control más exhaustivo del paciente (especialmente si este valor supera el límite superior normal).

Na, K y Ca. La terapia con compuestos derivados del platino es potencialmente nefrotóxica. El daño provocado sobre el túbulo renal por compuestos como el cisplatino puede dar lugar a alteraciones del equilibrio electrolítico como hiponatremia o

hiperkalemia (7). En este trabajo, no hemos encontrado desequilibrios clínicamente significativos en los sujetos estudiados, lo que parece confirmar los resultados de otros estudios que consideran a oxaliplatino como un compuesto más seguro desde el punto de vista nefrológico, pudiendo ser utilizado por pacientes frágiles o con una función renal disminuida sin aparición de grandes desequilibrios hidroelectrolíticos (salvo una leve hiponatremia bien tolerada por el paciente). En estudios posteriores podría analizarse la relación entre el oxaliplatino y los niveles de magnesio, un ion que también está sujeto a variaciones durante el tratamiento con derivados del platino (25).

5.2. Correlaciones entre parámetros clínicos

Es probable que las numerosas correlaciones que se establecen con anterioridad al tratamiento quimioterápico surjan como resultado de las alteraciones en la homeostasis celular del cáncer. La correlación Hb-plaquetas es conocida (26) y ha sido nombrada en otras investigaciones, al igual que la relación (en sangre hemolizada) entre el potasio, la hemoglobina y las plaquetas (27) y las alteraciones de los valores de transaminasas (2).

No obstante, resulta destacable que tras el régimen FOLFOX/CAPEOX la mayoría de estas correlaciones desaparecen, permitiendo explicar, en este caso, el exagerado aumento de bilirrubina secundario a hemólisis muy limitadas (20), o las variaciones en la concentración de plaquetas que no se relacionan con una mayor frecuencia de sangrado sino que pueden utilizarse como un marcador de daño hepático (18).

5.3. Variaciones de la expresión génica

El análisis de la variación en la expresión y en las correlaciones de los genes elegidos muestra un panorama molecular complejo, en la que coexisten de forma interrelacionada genes que demuestran una respuesta al tratamiento en cualquiera de sus vertientes, incrementados, reprimidos o presuntamente responsables de la adquisición de resistencias a FOLFOX/CAPEOX.

La expresión leucocitaria previa a la quimioterapia muestra una relación entre *SERPINH1*, un gen que ha sido identificado como un marcador de mal pronóstico para el tratamiento oncológico (10), con *AGAP*, *AIFI* y *SESNI*, posibles responsables de la capacidad de migración tumoral (11), crecimiento tumoral (28) y resistencia de las células tumorales al estrés oxidativo (14), respectivamente. *AGAP* y *SESNI* también se correlacionan entre sí, reforzando esta hipótesis. La introducción de los regímenes

FOLFOX/CAPEOX destruye esas correlaciones, logrando disminuir la expresión de *AGAP* (y con eso, disminuyendo el potencial de migración tumoral) pero aumentando la expresión de *AIFI*, *SESNI* y *SERPINHI*, lo que podría indicar la aparición de estirpes tumorales resistencias a oxaliplatino.

También se ha encontrado una relación entre el aumento de la expresión de *AIFI* en leucocitos y la aparición de vasculitis y neuropatía en el rechazo crónico a trasplantes (12). La neuropatía periférica es uno de los principales efectos secundarios del tratamiento con FOLFOX/CAPEOX (2), y el aumento de la expresión que se observa en nuestro estudio podía tener relación directa con esta complicación.

ROMO es considerado como un marcador de mal pronóstico y resistencia tumoral (9). Las células que lo sobreexpresan son capaces de desarrollar mecanismos de resistencia tumoral (como la autofagia dirigida, capaz de eliminar las estirpes tumorales más sensibles al tratamiento quimioterápico) que dificultan el tratamiento y empeoran el pronóstico a corto plazo (29). En nuestro estudio, se demuestra una correlación negativa entre *ROMO* y *SERPINHI* en el transcriptoma leucocitario posterior a la quimioterapia. Así, una sobreexpresión de *ROMO* y un silenciamiento de *SERPINHI* sería un marcador de mal pronóstico, mientras que lo contrario indicaría una buena respuesta a la quimioterapia. Paradójicamente, hemos encontrado un aumento de la expresión de ambos genes en nuestro estudio, impidiéndonos utilizarlos para discernir si el tratamiento con FOLFOX/CAPEOX produce una respuesta efectiva en este caso. Este fenómeno necesitará de ulteriores estudios.

La aplicación de los regímenes FOLFOX/CAPEOX también crean una nueva correlación entre *LMNA* y *ROMO*. *LMNA* se considera otro marcador de riesgo en CCR que empeora el pronóstico del paciente si se encuentra sobreexpresado (13). No obstante, tras el tratamiento con FOLFOX/CAPEOX se establece una relación inversamente proporcional entre ambos genes, por lo que la disminución de la expresión de *LMNA* que se ve en nuestro estudio no puede asociarse con seguridad a una mejora de la prognosis del paciente, al verse acompañada de un aumento de *ROMO*.

AGAP y *LMNA* pasan establecen una correlación directamente proporcional tras la aplicación de quimioterapia. La disminución de su expresión en nuestro estudio sí puede entenderse como una respuesta positiva al tratamiento con FOLFOX/CAPEOX y con una mejora de la prognosis del paciente.

SMIMI y *LMNA* presentan correlación directamente proporcional tras el tratamiento quimioterápico. *SMIMI* es un gen poco conocido. Sus funciones más estudiadas se refieren a su papel como antígeno del grupo sanguíneo Vel- (16), por lo que esta correlación con *LMNA* debería ser revisada en un futuro cercano, una vez existan datos sobre la influencia de *SMIMI* sobre la actividad tumoral.

THBS1 es un gen cuya expresión se relaciona con una inhibición de la angiogénesis (15). Nuestro estudio demuestra una disminución de su expresión posterior al tratamiento de la quimioterapia, lo que podría favorecer el crecimiento tumoral. La relación indirectamente proporcional con *SESNI*, otro marcador de resistencia tumoral (30) , refuerza esta hipótesis y convierte a estos dos genes en posibles dianas a la hora de mejorar la respuesta a la quimioterapia de los pacientes.

5.4. Alteración de las correlaciones entre parámetros hematológicos y expresión génica

Previo a la aplicación de FOLFOX/CAPEOX, existen varias correlaciones entre genes y parámetros clínicos (*AGAP* y LDH; *THBS1* y bilirrubina total; *SMIMI* y plaquetas) que pueden deberse a un aumento de la actividad tumoral. No obstante, tras finalizar el tratamiento quimioterápico, estas correlaciones desaparecen, impidiendo utilizar los parámetros clínicos anteriormente nombrados para estudiar la efectividad del tratamiento. Sin embargo, aparecen otras correlaciones que en teoría podrían relacionarse de forma indirecta con la respuesta a FOLFOX/CAPEOX:

- En el caso de la correlación *LMNA*-hemoglobina, la disminución de la expresión de *LMNA* se acompaña de unas cifras reducidas de Hb. Así, una disminución de la hemoglobina en fases tempranas del tratamiento FOLFOX/CAPEOX podría indicar una buena respuesta a la quimioterapia (13,17). En nuestros pacientes, la disminución de hemoglobina es transitoria y sin repercusión clínica, mientras que la expresión de *LMNA* se reduce de forma significativa. Por lo tanto, una leve tendencia a la anemización podría conllevar una mejora del pronóstico en el paciente tratado con FOLFOX/CAPEOX.
- Se ha propuesto administrar análogos de *THBS1* a los pacientes con enfermedad oncológica, bajo la hipótesis de que este inhibidor de la angiogénesis mejoraría el pronóstico final de los pacientes al oponerse al crecimiento tumoral (15). En nuestro estudio, se encontró una relación inversamente proporcional de fuerza

elevada entre *THBS1* y sodio. Es necesario establecer mejor la relación entre los electrolitos y este gen antes de utilizarlo como diana terapéutica, evitando así complicaciones derivadas de la hipo o hipernatremia.

- La relación que se establece entre *SESNI* y el calcio parece apoyar la hipótesis formulada por otros autores, que identifican a este gen como un marcador de senectud leucocitaria (14). Tras recibir algún tipo de noxa externa (principalmente radiación o quimioterapia), el aumento de la expresión de *SESNI* determina un crecimiento de linfocitos T con una menor respuesta antigénica y menor efectividad en cuanto a la defensa frente a patógenos. Se sospecha que la creación y destrucción de canales de calcio tenga un papel importante en la síntesis de estos leucocitos debilitados (14). La relación Ca-*SESNI* sería, por lo tanto, un marcador de daño crónico que debería ser estudiada con mayor detalle.

6. Conclusiones

- Las alteraciones en la expresión génica producidas por quimioterapia con oxaliplatino (FOLFOX y CAPEOX) en leucocitos presentan correlaciones estadísticamente significativas entre la expresión de genes de este estudio. Así, se establecieron las correlaciones *SERPINH1-ROMO*, *LMNA-ROMO*, *LMNA-AGAP*, *THBS1-SESNI* y *SMIMI-LMNA*, modificándose por completo el patrón de expresión de los ocho genes estudiados. Todo ello dentro de las limitaciones numéricas de nuestro estudio.
- La quimioterapia con oxaliplatino (FOLFOX y CAPEOX) modifica las correlaciones de parámetros clínicos como la hemoglobina, calcio y sodio, y la expresión de lamina, sestrina y trombospondina, respectivamente.
- Confirmamos la trombocitopenia como marcador de daño hepático y síndrome de obstrucción sinusoidal en pacientes con CCR en tratamiento con FOLFOX/CAPEOX.
- La disminución de la expresión *AGAP* y *LMNA* tras el tratamiento quimioterápico podrían evidenciar una respuesta satisfactoria al tratamiento con FOLFOX/CAPEOX, mientras que el aumento de la expresión de *SERPINH1*, *AIF1* y *SESNI* pueden relacionarse con la aparición de estirpes tumorales resistentes al tratamiento.
- *THBS1*, *AIF1* y *SESNI* podrían servir como marcadores que indiquen la necesidad de realizar ajustes en el tratamiento para minimizar la aparición de efectos secundarios.

7. Anexos

7.1. ¿Qué he aprendido realizando este TFG?

1. Definición, usos y aplicaciones del transcriptoma diferencial a la práctica clínica.

El transcriptoma de una célula permite conocer su expresión genética en un momento determinado. La influencia de diferentes noxas (ya sean enfermedades crónicas, fármacos o radiación) producirán alteraciones en el ARN transferente de la célula, alterando su función final. El transcriptoma diferencial permite comparar la expresión genética de las células antes y después de verse sometidas a cualquier tipo de influencia (quimioterapia FOLFOX/CAPEOX en este caso), permitiendo conocer en profundidad la repercusión y las consecuencias de estas alteraciones para el paciente.

2. Mecanismo de acción de los regímenes de quimioterapia FOLFOX y CAPEOX.

La combinación de una fluoro-pirimidina con oxaliplatino (FOLFOX/CAPEOX) actúa de forma sinérgica, ocasionando daños en el ADN celular (ya sea lesionando de forma directa el material genético o mediante la formación de aductos que impiden la síntesis de nucleótidos y la reparación de la molécula de ADN).

3. Efectos secundarios asociados al uso de quimioterapia basada en oxaliplatino. El daño al ADN causante del efecto terapéutico de FOLFOX/CAPEOX provoca la aparición de efectos secundarios cuando afecta a las células sanas. Los efectos más llamativos son la neuropatía periférica, la neutropenia y el daño hepático crónico en forma de Síndrome de Obstrucción Sinusoidal (SOS).

4. Manejo (básico) del programa estadístico SPSS. El software SPSS es un programa complejo que permite la introducción de los datos recogidos a lo largo del estudio y su correlación con otros parámetros ya disponibles (como la expresión de los diferentes genes). Es posible crear y modificar tablas de datos y gráficas estadísticas utilizando coeficientes de correlación adecuados para cada caso (como la rho de Spearman).

5. Mecanismos de expresión génica relacionados con la CCR y con la quimioterapia y sus posibles consecuencias sobre la salud del individuo. Los efectos de FOLFOX/CAPEOX tienen una repercusión compleja que afecta al material genético celular de forma extensiva. Aunque esta quimioterapia es capaz de atacar a varias dianas terapéuticas y tiene un grado de efectividad aceptable, su uso parece estimular mecanismos de defensa tumoral desconocidos que podrían ensombrecer el pronóstico de los pacientes.

8. Bibliografía

1. Las cifras del cáncer en España 2019 [Internet]. [cited 2019 Apr 10]. Available from: <https://seom.org/dmccancer/wp-content/uploads/2019/Informe-SEOM-cifras-cancer-2019.pdf>
2. Cruz Hernández JJ, Rodríguez Sánchez C, Barco Morillo E del, Fonseca Sánchez E. *Oncología clínica*, 6° Ed, Elsevier, 2017.
3. Cercek A, Goodman KA, Hajj C, Weisberger E, Segal NH, Reidy-Lagunes DL, et al. Neoadjuvant chemotherapy first, followed by chemoradiation and then surgery, in the management of locally advanced rectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* [Internet]. 2014 Apr [cited 2019 Apr 20];12(4):513–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24717570>
4. Raymond E, Chaney SG, Taamma A, Cvitkovic E. Oxaliplatin: a review of preclinical and clinical studies. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 1998 Oct [cited 2019 May 27];9(10):1053–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9834817>
5. Longley DB, Harkin DP, Johnston PG. 5-Fluorouracil: Mechanisms of Action and Clinical Strategies. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2003;3(5):330–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12724731>
6. Seo AN, Kim H. Sinusoidal obstruction syndrome after oxaliplatin-based chemotherapy. *Clin Mol Hepatol* [Internet]. 2014 [cited 2019 May 28];20(1):81. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3992335/#B1>
7. Liamis G, Filippatos TD, Elisaf MS. Electrolyte disorders associated with the use of anticancer drugs. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2016;777:78–87. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.02.064>
8. Morales M, Ávila J, González-Fernández R, Boronat L, Soriano ML, Martín-Vasallo P. Differential transcriptome profile of peripheral white cells to identify biomarkers involved in oxaliplatin induced neuropathy. *J Pers Med*. 2014;4(2):282–96.
9. Kim HJ, Jo MJ, Kim BR, Kim JL, Jeong YA, Na YJ, et al. Reactive oxygen species modulator-1 (*ROMO1*) predicts unfavorable prognosis in colorectal cancer patients. Suzuki H, editor. *PLoS One* [Internet]. 2017 May 4 [cited 2019 Jun 2];12(5):e0176834. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0176834>
10. Qi Y, Zhang Y, Peng Z, Wang L, Wang K, Feng D, et al. *SERPINH1* overexpression in clear cell renal cell carcinoma: association with poor clinical outcome and its potential as a novel prognostic marker. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2018 [cited 2019 Jun 2];22(2):1224–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29239102>
11. Casalou C, Faustino A, Barral DC. Arf proteins in cancer cell migration. *Small GTPases* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jun 2];7(4):270–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27589148>

12. Broglio L, Erne B, Tolnay M, Schaeren-Wiemers N, Fuhr P, Steck AJ, et al. Allograft inflammatory factor-1: A pathogenetic factor for vasculitic neuropathy. *Muscle Nerve* [Internet]. 2008 Oct [cited 2019 Jun 2];38(4):1272–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18816612>
13. Willis ND, Cox TR, Rahman-Casañs SF, Smits K, Przyborski SA, van den Brandt P, et al. Lamin A/C is a risk biomarker in colorectal cancer. *PLoS One* [Internet]. 2008 Aug 20 [cited 2019 Jun 2];3(8):e2988. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18714339>
14. Lanna A, Gomes DCO, Muller-Durovic B, McDonnell T, Escors D, Gilroy DW, et al. A sestrin-dependent Erk-Jnk-p38 MAPK activation complex inhibits immunity during aging. *Nat Immunol* [Internet]. 2017 [cited 2019 Jun 2];18(3):354–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28114291>
15. Rusnati M, Urbinati C, Bonifacio S, Presta M, Taraboletti G. Thrombospondin-1 as a Paradigm for the Development of Antiangiogenic Agents Endowed with Multiple Mechanisms of Action. *Pharmaceuticals (Basel)* [Internet]. 2010 Apr 23 [cited 2019 Jun 2];3(4):1241–78. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27713299>
16. Arnaud L, Kelley LP, Helias V, Cartron J-P, Ballif BA. *SMIMI* is a type II transmembrane phosphoprotein and displays the Vel blood group antigen at its carboxyl-terminus. *FEBS Lett* [Internet]. 2015 Nov 30 [cited 2019 Jun 2];589(23):3624–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26452714>
17. Lemma T, Mandal R, Li XF, Pawliszyn J. Investigation of interaction between human hemoglobin A0 and platinum anticancer drugs by capillary isoelectric focusing with whole column imaging detection. *J Sep Sci*. 2008;31(10):1803–9.
18. Jardim DL, Rodrigues CA, Novis YAS, Rocha VG, Hoff PM. Oxaliplatin-related thrombocytopenia. *Ann Oncol* [Internet]. 2012 Aug 1 [cited 2019 Jun 2];23(8):1937–42. Available from: <https://academic.oup.com/annonc/article-lookup/doi/10.1093/annonc/mds074>
19. El Chediak A, Haydar AA, Hakim A, Massih SA, Hilal L, Mukherji D, et al. Increase in spleen volume as a predictor of oxaliplatin toxicity. *Ther Clin Risk Manag* [Internet]. 2018 [cited 2019 Jun 2];14:653–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29695909>
20. Nikolic-Tomasevic Z, Jelic S, Cassidy J, Filipovic-Ljeskovic I, Tomasevic Z. Fluoropyrimidine therapy: hyperbilirubinemia as a consequence of hemolysis. *Cancer Chemother Pharmacol* [Internet]. 2005 Dec 26 [cited 2019 Jun 2];56(6):594–602. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00280-005-1011-6>
21. McGill MR. The past and present of serum aminotransferases and the future of liver injury biomarkers. *EXCLI J* [Internet]. 2016 [cited 2019 Jun 2];15:817–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28337112>
22. Corti A, Franzini M, Paolicchi A, Pompella A. Gamma-glutamyltransferase of

- cancer cells at the crossroads of tumor progression, drug resistance and drug targeting. *Anticancer Res* [Internet]. 2010 Apr 1 [cited 2019 Jun 2];30(4):1169–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20530424>
23. Faloppi L, Del Prete M, Gardini AC, Santini D, Silvestris N, Bianconi M, et al. The correlation between LDH serum levels and clinical outcome in advanced biliary tract cancer patients treated with first line chemotherapy. *Sci Rep* [Internet]. 2016 Apr 11 [cited 2019 Jun 2];6(1):24136. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep24136>
 24. Chibaudel B, Tournigand C, Artru P, Andre T, Cervantes A, Figer A, et al. FOLFOX in patients with metastatic colorectal cancer and high alkaline phosphatase level: an exploratory cohort of the GERCOR OPTIMOX1 study. *Ann Oncol* [Internet]. 2009 Aug 1 [cited 2019 Jun 2];20(8):1383–6. Available from: <https://academic.oup.com/annonc/article-lookup/doi/10.1093/annonc/mdp012>
 25. Stewart AF, Keating T, Schwartz PE. Magnesium homeostasis following chemotherapy with cisplatin: a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 1985 Nov 15 [cited 2019 Jun 2];153(6):660–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4061536>
 26. Okoroiwu IL, Ifeanyi OE, Uzoma OG, Doris A. *Scholars Academic Journal of Biosciences (SAJB)* The Relationship between Platelet Count and Haemoglobin Level. 2016;(April).
 27. Mather A, Mackie Nr. Effects of hemolysis on serum electrolyte values. *Clin Chem* [Internet]. 1960 Jun 1 [cited 2019 Jun 2];6(3):223–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14422258>
 28. Liu S, Tan W-Y, Chen Q-R, Chen X-P, Fu K, Zhao Y-Y, et al. Daintain/AIF-1 pROMotes breast cancer proliferation via activation of the NF-κB/cyclin D1 pathway and facilitates tumor growth. *Cancer Sci* [Internet]. 2008 May 1 [cited 2019 Jun 2];99(5):952–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1349-7006.2008.00787.x>
 29. Ding Z-B, Hui B, Shi Y-H, Zhou J, Peng Y-F, Gu C-Y, et al. Autophagy Activation in Hepatocellular Carcinoma Contributes to the Tolerance of Oxaliplatin via Reactive Oxygen Species Modulation. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2019 Jun 2];17(19):6229–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21825039>
 30. Oricchio E, Katanayeva N, Donaldson MC, Sungalee S, Pasion JP, Béguelin W, et al. Genetic and epigenetic inactivation of SESTRIN1 controls mTORC1 and response to EZH2 inhibition in follicular lymphoma. *Sci Transl Med* [Internet]. 2017 [cited 2019 Jun 2];9(396). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28659443>