

Modulo 2: Farmacogenética y Onco-hematología

Tema 4: En relación a tumores sólidos

María Jesús Lamas¹ y Angel Carracedo²

¹*Servicio de Farmacia Hospitalaria. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago*

²*Grupo de Medicina Genómica, Universidad de Santiago de Compostela y Fundación Pública Gallega de Medicina Genómica, CIBERER,*

Las enfermedades oncológicas suponen la 1^a ó 2^a causa de muerte en los países desarrollados; el incremento de su incidencia se ha acompañado de modestas mejoras en la supervivencia, y por ello continúan siendo un reto para la medicina del siglo XXI. En oncología, la eficacia de los esquemas antineoplásicos es modesta, y la toxicidad relevante. Existen diferencias interindividuales en la respuesta esperada. Esta variabilidad es multifactorial: edad y sexo del paciente, la propia enfermedad, interacciones entre fármacos, entre fármaco-alimento, variaciones en los genes que codifican proteínas que interaccionan con el fármaco...La Farmacogenética (FGt) nos explica la variabilidad en la respuesta a los fármacos debida a variaciones en los genes.

Los fármacos antineoplásicos interaccionan con nuestro organismo: actúan sobre el tumor, sobre dianas que no son específicas tumorales y también se encuentran en tejido sano, y por otra parte nuestro organismo *actúa* sobre el fármaco a lo largo de toda su ruta metabólica. Las mutaciones en genes que codifiquen estas proteínas implicadas en el mecanismo de acción o en el metabolismo del fármaco, tendrán repercusiones en la eficacia y toxicidad. Esto resulta especialmente importante por el estrecho margen terapéutico de estos medicamentos, donde una mayor exposición por eliminación disminuida podría ocasionar una toxicidad intolerable. Desde el punto de vista de la FGt, consideramos 2 grupos de genes con metodología distinta: los que afectan a la farmacodinamia y a los que afectan a la farmacocinética¹. El tumor tiene

una tasa de crecimiento y replicación muy alta, y por tanto muchas probabilidades de desarrollar mutaciones, mientras que los polimorfismos en el metabolismo permanecerán a lo largo de la vida. Así que el genotipo del DNA obtenido de muestras sanguíneas, saliva u otra muestra biológica puede no ser el mismo que el del tumor, e incluso puede haber cambios en genotipos realizados en distintas localizaciones tumorales, primario o metastásico, o en distintos momentos a lo largo de la enfermedad tumoral. De esta manera, estudiar la variabilidad en la toxicidad en relación con polimorfismos de la ruta metabólica del medicamento, su farmacocinética, puede realizarse en sangre y una única vez al modo de carnet de identidad farmacogenética. Pero para predecir la eficacia de un antineoplásico, su farmacodinamia, es preciso analizar el tumor, buscar las mutaciones somáticas.

Sobre un 10% de los fármacos aprobados por la FDA recogen en su ficha técnica información farmacogenómica. En la tabla 1 se presentan los biomarcadores válidos y los fármacos relacionados junto con su recomendación en el uso de tumores sólidos.

El conocimiento del impacto de las variantes genéticas en la respuesta a los tratamientos es distinto para cada fármaco. En este capítulo se presentan aquellos con más evidencia científica. En el caso de las mutaciones somáticas, describimos las de obligado análisis antes de la prescripción del fármaco correspondiente. En las variantes germinales, incluso los más estudiados son todavía objeto de controversia. A continuación mostramos aquellos con mayor utilidad clínica potencial.

5-FLUOROURACILO (5-FU) Y CAPECITABINA

- TS
- TP
- DPYD
- MTHFR

El 5-Fluorouracilo es una fluoropirimidina “antimetabolito”, análogo de un sustrato metabólico natural de la célula, consolidado como agente antitumoral desde hace más de 40 años. Tanto las células normales como las tumorales metabolizan 5-FU a su derivado monofosforilado, FdUMP, y trifosforilado, FUTP, conocido por sus efectos citotóxicos². La capecitabina es un profármaco del 5-FU que se transforma a través de carboxilesterasas presentes en plasma, hígado y tumor en 5-FU. Esto favorece una ventajosa teórica concentración del fármaco en el tumor.

Tiene dos vías principales de acción a través de sus metabolitos activos 5-fluoro-2´deoxiuridina- 5´monofosfato (**FdUMP**) y 5-fluoroUTP (**5-FUTP**). Cuando es administrado por vía oral o por bolo, actúa a través del metabolito 5-FUTP, que se incorpora al ARNm intracelular, lo que conlleva su disfunción e inhibición de la síntesis de proteínas³.

La segunda vía de actuación del 5-FU es cuando es administrado por infusión continua, a través de su otro metabolito activo, FdUMP, que es un inhibidor de la Timidilato Sintetasa. Una de las consecuencias de esta vía es la disminución de los niveles de metilación celulares y síntesis de Timidina. Este metabolito también puede ser fosforilado a FdUTP e incorporado directamente al ADN. Esta incorporación errónea inhibe la elongación de la cadena y altera su estabilidad, lo que resulta en la producción de roturas de una hebra y fragmentación del ADN^{4,5}. (fig 1)

La **Timidilato Sintasa (TS)**, codificada por un gen que tiene su locus en el cromosoma 18p, es una enzima dimérica citosólica que cataliza la metilación reductiva de deoxiuridina-5´monofosfato (dUMP) a deoxitimidina-5´monofosfato (dTMP). En esta reacción, un grupo metilo del cofactor 5,10-

metilentetrahidrofolato (5,10-MTHF) se transfiere a la posición 5 del anillo de la pirimidina, procurando la única fuente de novo de dTMP (timidina), nucleótido necesario para la síntesis de ADN. Por tanto, es una enzima limitante en la ruta de síntesis de novo del ADN y una atractiva diana para moléculas de inhibición. El FdUMP compite con el dUMP y, en presencia de los niveles adecuados de poliglutamatos de cadena larga de 5,10-MTHF, atrapa a la enzima TS en un complejo ternario. El bloqueo de TS provoca una depleción de dTMP y, por tanto, de dTTP y una acumulación de dUMP que es incorporado al ADN produciendo errores, rotura de hebras y, finalmente, muerte celular. En esas condiciones, el FdUTP también puede ser incorporado erróneamente al ADN⁶.

Polimorfismos en el gen que codifica para la TS también han demostrado influir en la respuesta al tratamiento con 5FU, varios estudios han demostrado que tanto el mRNA TS como los niveles de proteína están inversamente relacionados con la respuesta antitumoral: niveles elevados de TS (tanto su mRNA como el enzima resultante de la traducción responsable) estarán relacionados con un peor pronóstico de la enfermedad y con peor respuesta al tratamiento, así como a menor supervivencia en pacientes con CCR (cáncer colorrectal) avanzado.

Se han descrito, en el *enhancer* de la region promotora de la TS (**TSER**), diversos polimorfismos diferentes, pero dos de ellos son los más frecuentes. El primero es un polimorfismo VNTR que consiste en dos o tres repeticiones (**TSER*2 o TSER*3**) en tandem de una secuencia de 28 pares de bases en la región 5' del promotor del gen (TSER). Se ha visto que a medida que aumenta el número de repeticiones aumentan los niveles de TS mRNA y la expresión de la proteína, por lo tanto, pacientes homocigotos para TSER*3 tendrían mayor actividad TS, peor pronóstico y una peor respuesta al tratamiento con 5FU que pacientes homocigotos para TSER*2.

El otro polimorfismo es un SNP común en el décimo segundo nucleótido de la segunda repetición en el alelo TSER*3, que consiste en una transversión del nucleótido C por G y se asocia con un nivel de expresión de TS 2.6 veces superior al del alelo TSER*2, tanto in vitro como en el tumor⁷. Los pacientes

homocigotos para la triple repetición (3R/3R) presentan un nivel de actividad enzimática de TS de 2 a 4 veces mayor que los pacientes homocigotos para la doble repetición (2R/2R). Se ha demostrado que el alelo 3G se asocia con los niveles más elevados de expresión de esta enzima aunque otros autores han comprobado que los genotipos portadores de este alelo responden peor a la quimioterapia basada en 5-FU que los que no lo tienen⁸.

Por otro lado, en la posición 1494 de la región **3'UTR** de este mismo gen, existe una variación que consiste en una delección de 6 pares de bases. 3'UTR modula la regulación del gen a nivel postranscripcional a través del control de la estabilidad del ARNm. El polimorfismo -6pb se asocia con una reducción en la estabilidad del ARNm in vitro y una expresión reducida de la proteína TS en el tejido tumoral en CCR⁹. Parece ser que la variante 6pb también puede estar relacionada con los niveles de expresión de la enzima TS y con los dos polimorfismos encontrados en el promotor¹⁰.

Más del 80% del 5-FU es inactivado en el hígado por la enzima DPD (dihidropirimidina deshidrogenasa) y su actividad varía entre 5-21 veces¹¹. Se han descrito mejores respuestas en aquellos pacientes con cáncer colorrectal cuyos tumores presentan baja expresión de la enzima DPD. Por otro lado, los pacientes con una baja actividad de la DPD no consiguen inactivar adecuadamente el 5-FU y se forman excesivas cantidades de metabolitos activos provocando elevada toxicidad que puede llegar a ser mortal¹². Se ha comprobado que los individuos que padecen toxicidad severa frente al 5-FU presentan una reducida actividad de la enzima DPD (por debajo de 100pmol/min/mg de proteína en células de sangre periférica). Aproximadamente el 3% de la población son portadoras de mutaciones heterocigotas que inactivan la DPD y el 0,1% son homocigotos para estas mutaciones. La deficiencia completa de esta enzima provoca un metabolismo deficiente de las pirimidinas que se asocia con desordenes neurológicos. Se han documentado al menos 350 casos de asociación entre deficiencia en la enzima DPD y toxicidad severa a 5-FU y en siete de ellos los pacientes han fallecido¹³. Una transición de G a A en la región 5' de la secuencia consenso de *splicing* del exón 14 ocurre en el 50% de los individuos que presentan un alelo no funcional de la proteína DPD, provocando una delección del exón 14 y

por lo tanto la generación de una proteína truncada que es degradada por el proteosoma. Esta variante recibe el nombre de **DPYD*2A**. Un estudio realizado en 25 pacientes con toxicidad en grado III-IV demostró que el 24% de los pacientes eran portadores de esta mutación. Si bien esta mutación parece ser la más frecuente, hasta ahora se han descrito un total de 20 mutaciones que se asocian con una reducida actividad de la enzima DPD y por tanto quizás en un futuro sea necesario realizar un screening completo de todo el gen. Por otro lado, otros trabajos demuestran que aproximadamente entre un 33-66% de pacientes con toxicidad severa tras el tratamiento con el 5-FU presentan un fenotipo normal en la enzima DPD lo que sugiere que además de esta enzima existen otros factores que determinan la toxicidad a esta droga.

El análisis de expresión de mRNA de las enzimas DPD y TP en combinación con el análisis de expresión de la enzima TS sugieren que estas tres enzimas podrían actuar como factores predictivos independientes de resistencia a 5-FU en cáncer colorrectal metastásico. Aunque estas enzimas, TS, DPD y TP son las que por el momento han aportado resultados más favorables como marcadores de resistencia al 5-FU, se están investigando otros muchos genes.

La **Timidina Fosforilasa (TP)**, también denominada factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas, cataliza la interconversión de timina a timidina utilizando la desoxiribosa-1-fosfato (dR-1P) y fosfato inorgánico (Pi) como segundos sustratos y por otra parte cataliza la reacción de transferencia de un grupo desoxiribosilo de un nucleótido a otro. Una elevada expresión intratumoral de TP ha sido asociada frecuentemente con una falta de respuesta a quimioterapia del 5-FU. La correlación inversa entre la respuesta quimioterapéutica al 5-FU y la expresión de TP se debe probablemente a dos causas:

- TP es importante en la angiogénesis y lo que sugiere es que un aumento en su expresión es un marcador de otros cambios genéticos asociados al desarrollo de un fenotipo tumoral más agresivo. Este

fenotipo contribuye a la resistencia a agentes citotóxicos como el 5-FU a través de la pérdida del potencial apoptótico.

- La actividad enzimática de TP es reversible y además puede deglicosilar FdU. Dada la actividad de deglicosilación de TP y su elevada expresión en tumores agresivos, se ha probado con el uso de profármacos para llevar el 5-FU específicamente a las células del tumor. Los profármacos capecitabina y tegafur son dos ejemplos de profármacos disponibles oralmente y que requieren de la TP para su actividad.

Algunos autores han comprobado que los niveles de Timidina Fosforilasa suelen estar más elevados en el tejido tumoral que en el tejido normal adyacente. Cuando se administra 5-FU, el FdUMP es anabolizado por la TP presente en el tumor, que también puede transformar metabolitos derivados del 5-FU en 5-FU. Por tanto, la expresión de TP puede afectar a la sensibilidad a 5-FU; estudios anteriores han determinado que su ADNc puede transfectarse a células tumorales haciéndolas sensibles al tratamiento.

El gen que codifica **MTHFR** está localizado en el brazo corto del cromosoma 1 (locus 36.3). MTHFR es una enzima clave en la homeostasis y en la regulación del folato intracelular, compuesto esencial para la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. Su papel principal es catalizar la transformación de 5,10-metilentetrahidrofolato (5,10-MTHF) a 5-metilentetrahidrofolato (5-MTHF), este último sirve como un donante de grupos metilo necesario para la conversión de homocisteína en metionina y subsecuente producción de S-Adenosilmetionina (SAM). SAM es el donador universal de grupos metilo en humanos y es necesario para múltiples reacciones de metilación en la célula, entre ella la metilación del ADN. La metilación de homocisteína es catalizada por la enzima Metionina Sintasa (MS), que requiere el cofactor vitamina B12.

La variante C677T, que implica la sustitución de Alanina por Valina, ha sido asociada con una disminución de la actividad de MTHFR, con un incremento de los niveles de homocisteína y una alteración en la distribución del folato.

La detección de este polimorfismo puede ser útil para identificar a los pacientes con riesgo alto de presentar toxicidad durante el tratamiento con **metotrexato**. En este sentido, se ha observado que los pacientes homocigotos para el alelo mutante TT o los heterocigotos CT (aproximadamente el 10 y el 40% de la población, respectivamente) presentan un mayor riesgo de efectos adversos tras el tratamiento con metotrexato que los pacientes con genotipo salvaje CC. Por otra parte, se ha observado que el genotipo MTHFR también influye en la respuesta del cáncer de mama y del colorrectal a la quimioterapia con 5-FU. Así, los pacientes con genotipo mutante TT respondieron mejor que los heterocigotos o con genotipo salvaje¹⁴. El genotipo 677TT también ha sido asociado con un tiempo significativamente mayor de la progresión, aunque no tiene efectos relevantes en la supervivencia global¹⁵. La combinación de la variante genética **MTHFR C677T** con la actividad o polimorfismo de la **TS**, parece tener un mayor poder predictivo sobre la respuesta a la quimioterapia basada en 5-FU en comparación con la que tiene el polimorfismo C677T sólo¹⁶. Sólo unos pocos estudios han analizado el papel de la variante C677T sobre los efectos secundarios de la terapia basada en fluoropirimidinas en CCR, pero por el contrario, el genotipo 1298CC en un estudio de una población con CCR avanzado se ha correlacionado con un mayor riesgo de desarrollar reacciones adversas graves después de quimioterapia basada en 5-FU. El genotipo 1298CC también se ha asociado con una menor supervivencia y un reciente trabajo de Zhang y col. han sugerido, por primera vez, la hipótesis de que los polimorfismos MTHFR pueden estar asociados con respuesta clínica según el sexo, en particular, los autores han reportado una correlación significativa entre genotipo 1298AA y una mayor supervivencia global en mujeres, pero no para los pacientes varones con colorrectal avanzado cáncer con esquemas basados en 5-FU. Sin embargo, son necesarios más estudios para validar estos resultados. Terrazzino y col. han llevado a cabo un análisis de los haplotipos **C677T/A1298C** en pacientes con cáncer rectal tratados con radioterapia preoperatoria y 5-FU y encontraron que la variante **MTHFR 677T-1298A** predispone a una peor respuesta y a una más baja tasa de regresión tumoral en comparación con otras combinaciones de genotipo. Por otra parte diferencias en el escenario clínico (neoadyuvancia,

adyuvancia, primera/segunda línea metastásica) y en la administración de 5-FU (bolo y perfusión) podrían afectar en las asociaciones entre los polimorfismos de MTHFR y la actividad de las fluoropirimidinas. Otras cuestiones a considerar son las diferencias de raza y origen étnico de los pacientes además de la variabilidad individual en la ingesta y en los niveles de folato.

PLATINOS

CISPLATINO, CARBOPLATINO Y OXALIPLATINO

- GSTP1
- NER (ERCC1, XPD)
- BER (XRCC1)

El Oxaliplatino (1,2-diamino clico-hexano-oxalato-platino) es un derivado platinado de tercera generación que fue aprobado por la FDA para su uso en cáncer colorrectal metastático¹⁷ en 2002 y por EMEA en 1995. El oxaliplatino muestra un comportamiento químico y un mecanismo de acción similar a otros derivados del platino. Ha mostrado actividad en tumores con resistencia intrínseca o adquirida al cisplatino. Este hecho está relacionado con la diferente estructura de los enlaces o “aductos” que forma el oxaliplatino y que le permiten obviar ciertos mecanismos de resistencia a otros agentes platinados. Especialmente el que resulta de la reparación de los defectos en la replicación del ADN

Aunque el mecanismo preciso no es del todo claro, los agentes derivados del platino ejercen su citotoxicidad de forma similar a los agentes alquilantes. Producen enlaces intrahebra o entre las dos hebras del ADN (conocidos como aductos), sobre todo en islas CpG (regiones donde existe una gran concentración de pares de citosina y guanina enlazados por fosfatos) (fig 2)

Estos enlaces resultan en la formación de uniones covalentes entre el complejo activo platinado y determinadas bases de la secuencia del ADN, lo que lleva, en último término, a la apoptosis. De hecho, el grado de citotoxicidad que ejercen este tipo de compuestos, se correlaciona con la unión al ADN y finalmente la muerte celular. Este hecho, además, parece ser independiente de la fase del ciclo celular en que se encuentre la célula.

Los estudios de dobletes de platino en primera línea de la enfermedad avanzada de cáncer de pulmón, sólo consiguen una tasa de respuestas en torno a un 20-35%, con una supervivencia mediana de alrededor de 9 meses (12 meses con bevacizumab, o pemetrexed-cisplatino en adenocarcinoma)

pero con una toxicidad importante (hematológica 5-20% grado 3-4). Por otra parte, los estudios de adyuvancia en estadios tempranos aportan una mejoría, pero modesta, en la disminución de las recurrencias. Se han identificado retrospectivamente potenciales biomarcadores en la acción o resistencia a estos fármacos, pero hasta la fecha no se han validado prospectivamente para que tengan una utilidad real que permita elegir el esquema terapéutico con mayor probabilidad de eficacia. (fig 3)

Existen múltiples mecanismos de resistencia de las células cancerosas relacionados con agentes de platinos, entre los que destacamos^{18,19}:

- Descenso en la acumulación de la molécula.
- Inactivación del fármaco por niveles incrementados de glutatión (conjugación) o de metalotioneína (secuestro)
- Defectos en el sistema de reparación por excisión de bases.
- Incremento en el sistema de reparación por excisión de nucleótidos de los aductos del ADN.

Se han descrito defectos en el sistema de reparación del ADN (Mismatch Repair System) e incremento en el bypass replicativo como mecanismos de resistencia a cisplatino o carboplatino pero no parecen contribuir a la resistencia a oxaliplatino.

Los depósitos de platino sobre el ADN pueden ser reparados por la enzima detoxificante Glutathione-S-Transferasa π -1 (**GSTP1**). Además, GSTP1 se une activamente al platino y contribuye a su eliminación del citosol.

GSTP1 (glutatión S-transferasa)

El glutatión S-transferasa (GST) son una familia multigénica de enzimas (citosólica y de membrana), que catalizan la conjugación de glutatión a los xenobióticos electrofílicos para inactivarlos y facilitar su excreción del cuerpo²⁰. GSTs desempeñan un papel importante en el metabolismo de los compuestos potencialmente genotóxicos mediante la prevención de daños en el ADN por formación de aductos.

La isoenzima GSTP1 participa en la desintoxicación de los derivados del platino, sobre todo cisplatino, y resulta ser un importante mediador de la resistencia intrínseca y adquirida al platino. Además de GSTP1, la actividad de GSTM1 y GSTT1 podrían estar involucrados en la respuesta al tratamiento²¹, sin embargo, el papel de estas enzimas específicamente en la vía de los platinos sigue siendo desconocido.

Las variaciones genéticas del GST se han asociado con cambios en la actividad enzimática. Cuatro polimorfismos frecuentes en los genes *GSTP1*, *GSTT1*, *GSTM1* pueden disminuir o suprimir la actividad de la enzima GST. ***GSTP1*** es un gen polimórfico situado en el cromosoma 11 con dos sustituciones de un solo nucleótido en el exón 5 (A313G) y el exón 6 (C341T) que dan lugar a ***Ile105Val*** y ***Ala114Val***, respectivamente²².

Estas sustituciones de aminoácidos parecen estar dentro de los sitios activos de la GSTP1 y dan lugar a la alteración de la afinidad del sustrato.

Entre los polimorfismos con supuesta influencia sobre la desintoxicación de platinos (*GSTP1*, *GSTM1* y *GSTT1*), Stoehlmacher y cols. comprobaron una asociación entre las variantes *GSTP1-105* y la supervivencia de los pacientes con CCR metastásico tratados con quimioterapia con FU/oxaliplatino de segunda y tercera línea²³. En dicho estudio, ninguna de las variantes *GSTP1*, *GSTM1* y *GSTT1* mostró una asociación con eficacia, aunque el alelo *GSTP1-105 G* fue un factor genético desfavorable en lo que se refiere a la aparición de neurotoxicidad por oxaliplatino.

Sistema de reparación ADN: NER (Reparación por Excisión de Nucleótidos) y **BER** (Reparación por Excisión de Bases)

Las protuberancias creadas en el ADN por los fármacos derivados del platino son reparadas principalmente por los sistemas de reparación por excisión de nucleótidos **NER** (Nucleotide Excision Repair) (Fig 4). Por ello, mutaciones o polimorfismos en los genes implicados en estos sistemas pueden asociarse con una disminución en la capacidad de reparación y conllevar a un aumento en el riesgo de cáncer, además de una sensibilidad mayor a la radiación ultravioleta o ionizante y a los agentes alquilantes. Se ha demostrado que

ERCC1 y *XPD* (también llamado *ERCC2*), y por otro lado *XRCC1* (**BER**), desempeñan papeles clave en la vía de reparación por escisión de nucleótidos NER y reparación por escisión de bases BER respectivamente²⁴.

ERCC1 (Excision Repair Cross Complementation 1)

La reparación del ADN es un mecanismo importante para la resistencia a la terapia basada en platino y, posiblemente, en el desarrollo de neurotoxicidad. La resistencia a oxaliplatino se ha atribuido a un incremento de la tolerancia y reparación de la lesión del ADN por la vía de reparación de escisiones de nucleótidos (NER). Este sistema de reparación se encarga de reparar lesiones voluminosas en los genes transcritos. El proceso de reparación se lleva a cabo mediante la formación de complejos multiproteicos que reconocen, escinden y reparan la lesión. La sobreexpresión del gen *ERCC1* (Excision Repair Cross Complementation 1) confiere a la célula tumoral una mayor capacidad reparadora frente a las lesiones generadas por el platino impidiendo la acción citotóxica del fármaco.

En un análisis retrospectivo del ensayo IALT (Adyuvancia en estadíos I, II y III de cáncer de pulmón no microcítico tratados con dobletes de cisplatino), diseñado para encontrar factores predictivos de respuesta a cisplatino (IALT Bio), se encontró un beneficio en la terapia basada en platino en los pacientes con baja *ERCC1*, y la terapia fallaba en aumentar la supervivencia en los que tenían polimorfismos de alta expresión. Entre los pacientes del brazo de observación, se vio que los pacientes con alta expresión tenían supervivencias más largas. Por tanto, *ERCC1* podría ser un factor pronóstico positivo además de predictivo de respuesta a platinos negativo²⁵.

En modelos experimentales, la variante alélica *ERCC1-118 T* mostró posibles consecuencias funcionales, con tendencia a unas mayores concentraciones de ARNm de *ERCC1* que las observadas en presencia del alelo *ERCC1-118 C*²⁶. Hasta ahora, en dos estudios se ha abordado el análisis del polimorfismo *ERCC1-118 C/T* en pacientes con CCR avanzado tratados con quimioterapia

basada en oxaliplatino y ambos han revelado un efecto adverso del alelo *ERCC1-118 T*²⁷.

XPD (xeroderma pigmentosum)

XPD es una helicasa 5'- 3' que relaja el ADN durante la reparación por escisión de nucleótidos. El Xeroderma pigmentoso tipo D es una proteína requerida para la reparación por escisión de nucleótidos (TNM). Este producto reconoce y repara una amplia gama estructuralmente de las lesiones no relacionadas como aductos voluminosos causado por la luz ultravioleta, agentes ambientales y el daño oxidativo consecuencia de un defecto en la vía²⁸ de reparación NER de ADN dañado por UV.

Los polimorfismos de XPD pueden actuar como factores de susceptibilidad genética. Como estudio preliminar de funcionalidad, se analizó la asociación de dos polimorfismos localizados en los codones 199 (Ile/Met) y 751 (Lys/Gln) con la capacidad de reparar roturas en las cromátidas y el resultado fue una reparación subóptima en aquellas células portadoras de alelos mutados²⁹.

XRCC1 (Nucleotide Excision Repair Cross Complementing)

XRCC1 es una proteína fundamental en la ruta de reparación por escisión de bases (BER), que repara la base dañada y las rupturas de una sola hebra en el ADN causadas por radiaciones ionizantes y agentes alquilantes. Forma un complejo reparador multiproteico integrado por proteínas que reconocen los puntos de rotura que está físicamente asociado con la ADN ligasa III en su extremo C-terminal³⁰. Teniendo en cuenta que el producto génico de XRCC1 recambia bases dañadas por oxidación, metilación, reducción o fragmentación, aquellas células con un gen *XRCC1* mutante serán más sensibles a radiación UV, radiación ionizante y agentes alquilantes. Los dos polimorfismos más importantes identificados hasta ahora llevan a una sustitución de aminoácidos en regiones del gen muy conservadas

evolutivamente: en el codon 194 del exon 6, debido a un cambio de bases pirimidínicas C por T (Arg/Trp) y en el codon 399 del exon 10, debido a un cambio de bases púricas G por A (Arg/Gln) confiriendo una menor actividad a la proteína afectando a la capacidad del sistema BER para reparar las lesiones inducidas en el ADN por el oxaliplatino evitando la correcta señalización de muerte celular por apoptosis.

La presencia del polimorfismo en el exon 10 se ha correlacionado clínicamente con la resistencia al tratamiento con oxaliplatino.

Stoehlmacher y col. mostraron que la presencia del polimorfismo en uno de los alelos o en ambos (genotipo Gln/Arg o Gln/Gln) afecta a la respuesta al tratamiento basado en Oxaliplatino en pacientes con CCR metastático y a la supervivencia, 5.5 meses respecto a los 11.2 de los pacientes con el genotipo Arg/Arg.

IRINOTECAN

➤ UGT1A1

Irinotecan es un análogo de camptotecina que estabiliza la unión DNA-enzima topoisomerasa I y así la replicación de DNA. Es un fármaco imprescindible en el tratamiento del cáncer de colon metastático. En 1ª línea y formando parte del esquema terapéutico FOLFIRI (irinotecan + 5 fluorouracilo bolus modulado por leucovorin y una infusión de 5fu de 2 días cada 2 semanas), sólo consigue en torno a un 50% de respuestas con unas toxicidades graves como con diarrea (12% de pacientes), neutropenia (24%), y neutropenia febril (6%)³¹. También es efectivo en 2ª ó 3ª línea en monoterapia o combinado con los anticuerpos monoclonales. En cualquier esquema, las toxicidades limitantes de dosis serán diarrea y neutropenia. Irinotecan se transforma mayoritariamente en el hígado en el metabolito activo SN-38; este es el principal responsable de su acción citotóxica y por tanto también de su toxicidad. Se elimina vía conjugación por la Uridin Glucuronosyl Transferasa y posterior excreción biliar (SN38G) (fig 4). En 1997 se observó que 2 pacientes con síndrome de Gilbert, por tanto con déficit en la conjugación de la bilirrubina por UGT, presentaban una toxicidad hematológica grave. Esta fue la primera evidencia clínica de que una débil actividad de este enzima estaba relacionada con mayor toxicidad³². Se ha encontrado que un par de nucleótidos –TA- se repiten de forma variable en la región promotora del gen *UGT1A1*: la mayoría de la población tiene 6 copias, pero hasta un 33% de la población tiene un alelo con 7 copias. Esta variante recibe la denominación de ***UGT1A1*28***, entre un 7 y 10 % de la población caucasiana es homocigota (7/7). Este polimorfismo implica una reducción en la actividad transcripcional del gen de hasta el 70%. Esto supone a menor expresión y actividad de la enzima, por tanto menor glucuronidación, y mayor exposición a SN38. Esto se ha relacionado con mayor toxicidad por irinotecan³³ De hecho, FDA recomendaba considerar una reducción de dosis inicial en pacientes homocigotos *UGT1A1*28* en 2004, y en 2005 actualizó la ficha técnica con la recomendación de reducir un nivel de dosis al inicio del

tratamiento. También en este año, aprobó el primer test farmacogenético Invader Assay. Sin embargo, todavía faltan ensayos clínicos prospectivos que demuestren igual beneficio en los pacientes que reciben dosis estándar, o la dosis reducida y óptima para ellos. EMEA se ha pronunciado sobre este y otros polimorfismos en un documento de posicionamiento en el verano del 2008³⁴. En el caso de *UGT1A1**28, dice que no hay una información sólida sobre la dosificación en estos pacientes y la sensibilidad del test no es alta. La relación de este polimorfismo con la farmacocinética del fármaco y del SN-38 está bien establecida: pacientes con el genotipo 7/7 tienden a tener mayor área bajo la curva plasma tiempo-concentración (AUC) de SN-38 y menores ratios de SN-38G/ SN-38. Esto se ha comprobado en pacientes adultos y pediátricos, con distintas dosis, en distintos tumores y en orígenes asiáticos o europeos^{35 36 37 38 39}.

La relación con toxicidad en pacientes tratados con irinotecan se ha demostrado en varios trabajos. El primero que marcó el inicio de la llamada “irinogenomics”, firmado por Innocenti en el 2004, estableció una fuerte asociación entre neutropenia grado 4 y genotipo 7/7, con un riesgo relativo de 9.3 (95% CI, 2.4 to 36.4). En una revisión sistemática de la evidencia sobre la relación entre toxicidad y genotipado de irinotecan, la tasa global de neutropenia grado 3-4 de los 8 estudios escogidos para el análisis fue del 16% (95% CI 13–19%). Al estratificar por genotipo, las tasas eran 9.8% (6.8–14%) para *1/*1, 18% (14–23%) para *1/*28, y 38% (22–57%) para los pacientes con *UGT1A1* *28 / *28⁴⁰. Los riesgos relativos (RRs) fueron 1.82 (95% CI 1.16 –2.85) para pacientes heterocigotos *28 y 3.51 (95% CI 2.03–6.07) para homocigotos *28 / *28.

Otros autores también encontraron una correlación con diarrea grave⁴¹. Sin embargo, no todos los trabajos con asociación con toxicidad hematológica, confirmaron la asociación con diarrea⁴². En la revisión sistemática citada anteriormente, la tasa global de diarrea grado 3 ó 4 es entre 19-30 %. En los 6 estudios en los que se encontró una asociación positiva, las tasas de diarrea son significativamente diferentes cuando se estratifican por genotipos: 18% (95% CI 11–28%) para 1/*1, 27% (95% CI 20–36%) para heterocigotos 1/28, y 27% (95% CI 12–48%) para homocigotos *28/*28.

Estas controversias en la reproductibilidad de los resultados han limitado la aplicación clínica del test farmacogenético de *UGT1A1*. Como resultado de la revisión sistemática anterior, la sensibilidad clínica para neutropenia grave sería del 23 % (15-34%), y la especificidad clínica 92% (90-94%), definidas sensibilidad como el porcentaje de pacientes con neutropenia grave y homocigotos para *28, y especificidad como porcentaje de individuos sin neutropenia grave que no eran homocigotos para *28.

Hay razones que justifican estas diferencias en los resultados comparados entre estudios:

- Las dosis de irinotecan utilizadas son distintas (desde 15 mg/m² /día por 5 días cada 2 semanas en niños hasta 350 mg/m² cada 3 semanas)
- Los esquemas son distintos en su composición, solo irinotecan o combinaciones con otros citostáticos que solaparían sus toxicidades (con 5-FU)
- Los estudios farmacogenéticos se han hecho sobre pacientes con patologías distintas: cancer colorrectal, pero también tumores del sistema nerviosos central, pacientes adultos y pediátricos.
- En unos estudios la toxicidad estudiada fue la presentada tras el primer ciclo de irinotecan en otros la más alta presentada durante todo el tratamiento.
- La neutropenia se mide a medes en el nadir y otras en el día que estaba previsto administrar el siguiente ciclo, como es habitual en la clínica asistencial.
- En todo caso se conoce el RR para neutropenia, pero no para neutropenia febril.
- Los trabajos que incluyen diferentes etnias no estratifican los resultados.

- Las muestras son pequeñas.
- No se ha estudiado suficientemente la influencia de otras variantes del gen *UGT1A1*.

Recientemente se han comunicado las contribuciones de otras variantes a la toxicidad. Concretamente Cechin y colaboradores analizaron *UGT1A1*28*, *UGT1A1*60*, *UGT1A1*93*, *UGT1A7*3*, y *UGT1A9*22* en 250 pacientes con CCR⁴³. Dos de ellos, ***UGT1A1*93*** (3156G-A) y ***UGT1A1*60*** (3279T-G), aparecen con frecuencia en desequilibrio de ligamiento con *UGT1A1*28*, en población blanca. *UGT1A9* y *UGT1A7* contribuyen a la glucuronidación de SN-38: la isoforma 9 parece estar relacionada con menor actividad de la enzima y la 7 se expresa sobre todo en el tracto gastrointestinal. La dosis de irinotecan utilizada fue 180 mg/m² bisemanal conjuntamente con 5-FU. Se buscó la correlación con la toxicidad tras el primer ciclo y también con la peor de todo el tratamiento. Uno de los haplotipos encontrados, que incluían todos los alelos excepto *UGT1A9*22*, se correlacionaba con toxicidad hematológica, aunque solo con un OR=0.39 (95% CI, 0.19 - 0.82; p= 0.01). Con un riesgo más alto, se encontró relación para el alelo *UGT1A7*3* y paradójicamente *UGT1A1*28* no se correlacionó con toxicidad hematológica⁴⁴.

Un meta-análisis del 2007 mostró una asociación estadísticamente significativa entre el genotipo *UGT1A1* y neutropenia severa en medianas y altas dosis de irinotecán (≥ 150 mg/m²), pero no la encontró para dosis <150 mg/m²⁴⁵. Estos hallazgos apoyan la sugerencia de que, a menos los pacientes que reciben irinotecan a una dosis mayor que 150 mg / m², ya sea sólo o en combinación con un fármaco mielotóxico o irinotecán a 100 mg / m² en combinación con otro agente mielotóxico (por ejemplo, el oxaliplatino), el aumento del riesgo de toxicidad no es "ni estadística ni clínicamente significativo". Sin embargo, un metanálisis más reciente que incluye estudios adicionales desde la fecha anterior y un total de 2000 pacientes, encuentra que en incluso en dosis bajas el alelo *28 confiere un riesgo importante a la toxicidad. Los resultados de los Riesgos Relativos de este metanálisis se muestran en la tabla 2. ⁴⁶

La glucuronidación dosis-dependiente del SN-38 explica porqué la asociación entre *UGT1A1**28 y la neutropenia es dosis dependiente.

Por otra parte, un hallazgo no siempre buscado pero coherente con la influencia del genotipo sobre la cinética del fármaco, fue que la misma dosis podría ser más efectiva en portadores de los *28. En la tabla 3 se muestran algunos estudios que muestran mejor supervivencia para estos genotipos.

En el estudio de Marcuello, la supervivencia es peor para el genotipo poco metabolizador, sin embargo en todos ellos la tasa de respuestas es mayor en presencia de al menos un alelo *28: RR= 1.7; CI 1.24-2.33; P<0.001.

Esto señala un nuevo enfoque sobre el desarrollo de fármacos en la era de la medicina genómica: el uso de la información genética para una escalada de la dosis del fármaco en los ensayos clínicos fase I. Los fase I originales no estratificaban por genotipo de *UGT1A1* y por tanto, podría ser que los individuos *wild type* toleraran dosis más altas. En el publicado por Toffoli en 2009, la dosis máxima tolerada (DMT) de irinotecan para pacientes CCR metastásico con un esquema tipo folfiri en primera línea, fue mayor en ausencia del alelo *28 que los 180 mg/m² teóricos:

*1/*1 →	370 mg/m ²
*1/*28 →	310 mg/m ²

Concluían que la dosis estándar de 180 mg/m² en el esquema Folfiri es inferior a la que podrían tolerar los pacientes si se excluyen los que portan la variante con las 7 repeticiones.

Por tanto la utilidad clínica de la determinación de *UGT1A1**28 está en entredicho, pero cada nuevo trabajo revela aspectos nuevos que recomiendan alerta porque todavía no está todo dicho.

CETUXIMAB Y PANITUMUMAB

➤ K-RAS

Cetuximab y Panitumumab son anticuerpos monoclonales contra el EGFR (Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico). El EGFR se expresa en más del 80% de las células de cáncer de colon, y por eso se utilizó como diana contra la que se desarrollaron los fármacos (fig 5). La unión de ligandos naturales (EGF, TGFalfa...) al receptor formando dímeros, activa el dominio intracelular dependiente de fosforilación (tirosin-kinasa dependiente). Esta activación origina cambios conformacionales vía fosforilación en sucesivas moléculas, que transmiten así la señal hasta el núcleo. Hay 2 vías implicadas en mayor medida: la Raf-Ras kinasa, cuya activación implica proliferación y crecimiento desordenado, y la PI3K-Akt cuya activación está relacionada con la evasión de apoptosis y supervivencia de la célula. Los anticuerpos impiden la unión de los ligandos naturales al EGFR, pero sólo son efectivos en un 11% de pacientes si se usan en monoterapia. Han fallado todos los intentos por demostrar relación entre la expresión del receptor y la actividad de los anticuerpos. De hecho, en estudios retrospectivos de pacientes tratados con cetuximab sin determinación previa del EGFR, se encontraron la misma tasa de respuestas en los que tenían inmunohistoquímica negativa para el EGFR como los que lo expresaban. No se conocen polimorfismos en el receptor que condicione la respuesta. Pero recientemente se ha comprobado la importancia de la mutación en la proteína K-Ras. Se trata de una proteína GTPasa en una de las vías de transducción de señal hasta el núcleo. En estado salvaje, regula el "tráfico" de señales: con residuo GTP está activa pero si pierde un fosfato -GDP- estará inactiva. La mutación implica la pérdida de capacidad para hidrolizar GTP a GDP, supone una activación permanentemente y genera una cascada de señales hacia el núcleo continua y sin interrumpir. Se ha comprobado que ningún paciente con K-ras mutado responderá a cetuximab o panitumumab. Las mutaciones responsables se encuentran en el exon 1 (codones 12 y 13) y exon 2 (codon 61). Es imprescindible analizar el estatus de K-Ras previo a la utilización de

cetuximab y panitumumab; así figura en las fichas técnicas respectivas. Es un biomarcador farmacogenético válido^{47 48}.

TRASTUZUMAB

➤ HER2

El anticuerpo monoclonal trastuzumab ha sido el primer fármaco con diseño farmacogenómico contra una neoplasia. Se había identificado la vía del HER2, proteína sobreexpresada en el 25% de los tumores de mama. Pertenece a la familia de 4 miembros de receptores transmembrana: HER1 (o EGFR), HER2, HER3 y HER4. La unión de ligandos específicos induce una homodimerización del receptor (HER2-HER2) que supone su activación y la cascada de señales hasta el núcleo que desencadena implica mayor malignidad y agresividad (fig 5). La amplificación del gen favorece la expansión metastásica, proliferación y angiogénesis. Se trataba por tanto de un biomarcador pronóstico negativo. La adición de trastuzumab a la quimioterapia en el tratamiento del cáncer avanzado de mama que sobreexpresen en gran medida la proteína HER2 (+++) o tenga amplificado su gen correspondiente se asoció con mayor tiempo a la progresión (7,4 vs 4,6 meses $P > 0.001$), mayor tasa de respuestas objetivas (50 % vs. 32%, $P < 0.001$), y mayor supervivencia global (mediana 25.1 vs. 20.3 meses). Sin embargo el tratamiento no resultó eficaz en los tumores sin el biomarcador. Así, se convierte en un marcador predictivo positivo frente a trastuzumab⁴⁹. Es obligatoria su determinación previa al tratamiento. Pero es importante reconocer sus limitaciones: sólo responden un 50% de las pacientes tratadas, y aún las que responden acaban recayendo. Los conocimientos sobre la farmacogenética del trastuzumab son muy preliminares, se han identificado mutaciones en el receptor HER2 que confieren resistencia primaria (antes de la exposición al fármaco) y secundaria (tras la exposición) al anticuerpo. En cuanto a la toxicidad del tratamiento, la limitación más importante es la cardiotoxicidad en forma de insuficiencia cardiaca que puede llegar a ocurrir en el 27% de las pacientes si reciben a la vez antraciclinas, a su vez cardiotóxicas también. La variante *HER2 Ile655Val* está identificada con mayor riesgo de cardiotoxicidad; sería de una enorme utilidad saber si una paciente puede recibir la combinación trastuzumab-antraciclinas con

seguridad o por el contrario tiene que recurrir a combinaciones menos activas y menos cardiotóxicas⁵⁰.

ERLOTINIB Y GEFITINIB

➤ EGFR

El desarrollo de erlotinib y gefitinib como tratamiento del cáncer de pulmón se ha enmarcado dentro del paradigma de terapia dirigida pues se trata de moléculas que impiden la activación del Receptor de Crecimiento Epidérmico (EGFR). Sin embargo la baja tasa de respuestas o escaso impacto en la supervivencia de los primeros ensayos en segundas líneas, invitaban a pensar que o bien la diana no era tan importante en el crecimiento tumoral o la diana no estaba tan bien identificada y bloqueada. Se han identificado factores predictivos en el análisis multivariable del estudio de erlotinib versus cuidado de soporte en 2ª línea: la histología adenocarcinoma, no haber fumado y la expresión del EGFR están relacionados con las respuestas, pero ni el número de copias ni la mutación o expresión del EGFR se relacionó con la supervivencia. Las mutaciones más frecuentes son deleciones en el **exon 19** y la L858R del **exon 21**. Ambas implican una activación del gen, y se relacionan con tasa de respuestas.

El Grupo Español de Cáncer de Pulmón realizó un ensayo abierto, no comparativo donde se seleccionaba previamente a los pacientes por su estatus mutacional del *EGFR*. Las mutaciones de *EGFR* fueron encontradas en 350 de 2105 pacientes (16.6%). Las mutaciones eran más frecuentes en mujeres (69.7%), en pacientes que nunca habían fumado (66.6%), y en adenocarcinomas (80.9%) ($P < 0.001$ para todas las comparaciones). Se trataba fundamentalmente de deleciones en el exon 19 (62.2%) y L858R del exon 21 (37.8%). Las medianas de supervivencia libre de progresión y de supervivencia global para los 217 pacientes que recibieron erlotinib fueron 14 meses y 27 meses, respectivamente⁵¹.

Gefitinib había recibido una aprobación condicional por FDA en 2003 en segunda línea tras progresión a quimioterapia clásica que se retiró al no poder aportar la compañía farmacéutica resultados favorables en supervivencia ni otro indicador de beneficio clínico en 2005. Sin embargo, ensayos más recientes con selección de pacientes con factores predictivos

de respuesta han cambiado la situación y actualmente está aprobado en cáncer de pulmón de célula no pequeña con mutaciones activadoras del EGFR. En un análisis multivariable de 786 pacientes caucásicos se ha observado que las características clínicas de no fumador, histología de adenocarcinoma, y sexo femenino son factores predictivos independientes del estado de mutación positivo del EGFR⁵². Los pacientes asiáticos también tienen una alta incidencia de tumores con mutación positiva del EGFR: el ensayo de registro IPASS de no inferioridad randomizaba una muestra de pacientes con adenocarcinoma no fumadores o exfumadores a tratamiento con carboplatino-paclitaxel o gefitinib. Se evaluó el estatus mutacional en el 36% de los pacientes, y casi un 60 % portaban mutaciones activadoras, del19 o L858R. Es destacable que 11 pacientes (4.2%) presentaban la mutación que confiere resistencia T790M. Se cumplió el criterio de no inferioridad, e incluso resultó superior en Supervivencia Libre de Progresión (SLP) (HR para progresión o muerte= 0.74; 95% CI, 0.65-0.85; P<0.001). En el brazo tratado con gefitinib, el subgrupo con mutaciones positivas la razón de riesgos obtenida fue mayor que en la población general: HR=0.48; 95% CI, 0.36-0.64; P<0.001.; y significativamente menor en el subgrupo sin mutaciones (HR= 2.85; 95% CI, 2.05-3.98; P<0.001) los resultados del subgrupo con status de *EGFR* desconocido fueron similares a los de la población general. El mismo efecto se observó en la tasa de respuestas

Quedan incógnitas por despejar: las mutaciones de inserción en el exon 20 confieren resistencia intrínseca a las células del tumor, no conocemos el impacto que las mutaciones que activaban la ruta de señales en sentido descendiente (KRAS, BRAF...) tienen en el desarrollo de resistencia intrínseca, y además casi todos los cánceres de pulmón que responden inicialmente a los inhibidores de tirosina quinasa eventualmente recaen y resisten el tratamiento adicional. Los mecanismos conocidos de la resistencia secundaria incluyen una mutación específica de *EGFR* (T790 M) y amplificación o sobreexpresión del gen *MET*.

La presencia del *K-RAS* mutado es un factor pronóstico negativo (peor supervivencia) con independencia de la terapia que se administre. De hecho,

también parece ser un biomarcador predictivo negativo de respuesta a cisplatino-vinorelbina y erlotinib.

TAMOXIFENO

➤ CYP2D6

Tamoxifeno es el tratamiento hormonal de elección en la adyuvancia de cáncer de mama hormonodependiente en mujeres premenopáusicas, y una opción importante en el tratamiento de la enfermedad avanzada. Se transforma en metabolitos activos, y uno de los más potentes con actividad antiestrogénica es el endoxifeno. Su formación es dependiente del **CYP2D6** (fig 6). Se conoce desde hace muchos años los fenotipos de metabolizadores rápidos, ultrarrápidos, lentos e intermedios. Actualmente, se han identificado los polimorfismos en el gen del CYP2D6 responsables de esos fenotipos. Pero además, es una enzima muy vulnerable a la interacción con fármacos: los antidepresivos inhibidores de recaptación de serotonina son inhibidores con distinta potencia que podrían producir una disminución de transformación a endoxifeno y por tanto menor efecto antiestrogénico. Hay estudios farmacocinéticos que demuestran esta interacción midiendo el AUC de tamoxifeno⁵³. En caso de necesitar el uso de estos fármacos, se elegirán los de menor potencia inhibidora (venlafaxina) frente a los más potentes (fluoxetina, paroxetina). Los SNPs asociados con pobre actividad del CYP2D6 más frecuentes en población caucasiana y fenotipo de metabolizador lento son los **CYP2D6*3, *4** (20%), ***5 y *6** e intermedio el ***10 y *41** (10%). Conocer el genotipo para este enzima es útil para muchos otros fármacos: es responsable también de la transformación de codeína a morfina, de la metabolización de antidepresivos, ansiolíticos, estatinas...

Existe controversia con respecto a la importancia clínica de estos polimorfismos. En un estudio de la clínica de Mayo, 111 pacientes metabolizadores lentos (homocigotos *CYP2D6*4/*4*) o que recibían también fármacos inhibidores de la actividad enzimática de CYP2D6 tenían una SLE más corta que los pacientes clasificados como metabolizadores intermedios o extensos⁵⁴. Otro estudio examinó 6 polimorfismos de los genes de CYP, incluyendo CYP2D6, entre las mujeres diagnosticadas con el cáncer de mama temprano; 206 recibieron tamoxifeno y 280 no. Las pacientes con

tamoxifeno que portaban los alelos *CYP2D6* *4, *5, *10, y *41 (metabolizadores lentos e intermedios) tenían tasas de recurrencia significativamente mayores y menores tasas de SLR comparados con portadoras de alelos completamente funcionales⁵⁵. Un estudio retrospectivo reciente de 1.325 pacientes confirmó una asociación entre *CYP2D6* y resultados clínicos en el mismo sentido que los anteriores⁵⁶. Sin embargo, otros autores han fallado en corroborar esta asociación^{57,58}. Una reciente comunicación en el 32 Annual San Antonio Breast Cancer Symposium que incluía el mayor número de pacientes hasta la fecha (>2,000), no mostró asociación entre el estatus *CYP2D6* y resultados clínicos⁵⁹. En cualquier caso, este estudio no controlaba la medicación concomitante potencialmente inductora del enzima, que en otros estudios se ha revelado como un importante factor de confusión.

En conclusión, de momento no está aceptado su uso como biomarcador válido para dosificar tamoxifeno, pero podría ser útil para ayudar a tomar una decisión cuando el uso de inhibidores de aromatasa no sea deseable y haya indicación para las dos opciones.

GEMCITABINA

- CDA
- RRM1

Gemcitabina es un antimetabolito análogo de nucleósido usado no sólo en pulmón, si no también en cáncer de páncreas, de mama, de vejiga y algunos linfomas.

Un 80% de la dosis administrada en infusiones cortas (menos de 60 minutos) se elimina por metabolización por citidin deaminasa (**CDA**), fundamentalmente a nivel hepático, pero también activa en multitud de tejidos, incluido tumoral (fig 7). Los pacientes con actividad reducida de CDA podrían desarrollar toxicidad grave, y la sobreexpresión de la CDA en tejido tumoral podría reducir la eficacia de la gemcitabina. Se han descrito varios SNPs en la región promotora y en la codificadora, el alelo **CDA*3** (208 G>A) origina un cambio de aminoácido en la transcripción-traducción de Ala por Thr y la proteína resultante tiene menos actividad. En un estudio con población japonesa, los pacientes homocigotos *3/*3 tenían un aclaramiento menor y significativamente mayor toxicidad hematológica cuando recibían esquemas combinados de Gz con platinos o 5fu⁶⁰. Hasta un 40% de los pacientes asiáticos pueden tener un alelo *3, pero en población caucasiana no es frecuente⁶¹.

Por tanto, este polimorfismo no tiene utilidad para predecir toxicidad grave en la mayoría de nuestros pacientes. Además, los estudios han obviado una variable importante: la velocidad de administración. Los esquemas de “tasa fija” (10 mg/m²/min) permiten obtener un aclaramiento menor por CDA, probablemente porque la velocidad alta produce una saturación de la Deoxicitidin Kinasa (responsable de la fosforilación y por tanto activación de gz).

La ribonucleótido reductasa (RR) es el enzima limitante de la síntesis de DNA. Convierte ribonucleósido difosfato en desoxiribonucleósido difosfato, imprescindible en síntesis y reparación de DNA. Consiste en 2 subunidades:

M1 (RRM1) y M2 (RRM2). Niveles de expresión altos de **RRM1**, se ha correlacionado con supervivencia y respuesta a gemcitabina: implican mayor supervivencia (factor pronóstico positivo), pero peor respuesta a gemcitabina (factor predictivo de respuesta negativo)⁶²

Tabla 1: biomarcadores farmacogenéticos y recomendaciones por FDA

BIOMARCADOR	FENOTIPO	RECOMENDACIÓN	MEDICAMENTO
c-kit expresión	Expresión en GIST predice respuesta	Información	imatinib
DPD	Deficiencia dihidropirimidin deshidrogenada: peor eliminación de fluoropirimidinas	Información	5 fu capecitabina
EGFR*	En ca pulmón, expresión EGFR se asocia a más respuesta	Información	erlotinib
Sobreexpresión Her2/neu	Selección pacientes respondedores	Test previo obligatorio	Trastuzumab Lapatinib
UGT1A1*28	Homocigotos mayor riesgo neutropenia considerar reducción dosis inicial	Test previo recomendado	irinotecan
KRAS	Mutación se asocia a falta eficacia	Test previo obligatorio	Cetuximab Panitumumab

* Iressa no ha sido aprobado en 1ª línea de momento por FDA, y no se recoge en su ficha técnica, ni en la de Tarceva, las especificaciones de las mutaciones predictivas de eficacia.

Tabla 2: Riesgos Relativos que confieren el alelo UGT1A1*28 de neutropenia grave según las dosis de irinotecan utilizadas (Clin Cancer Res. 2007 Jun 1;13(11):3269-75)

	RR	95% CI, p
Dosis bajas	2.43	1.34-4.39 p=0.003
Dosis medias	2.00	
Dosis altas	7.22	

Tabla 3: relación entre *UGT1A1**28 y eficacia en distintos estudios

Estudio	Variable eficacia	resultado
Font et al (2003)	TP	3 meses (*1/*1) vs. 4 m (*28/*28; *1/*28)
	SG	8 meses (*1/*1) vs 11 m (*28/*28; *1/*28)
	SG 1 año	21% (*1/*1) vs. 41% (*28/*28; *1/*28)
	SG 2 años	14% (*1/*1) vs. 31% (*28/*28; *1/*28)
Marcuello et al (2004)	SG	32 meses (*1/*1) vs. 24 m (*28/*28; *1/*28)
Toffoli et al. (2006)	HR*	0.81 (95% CI 0.45–1.44) (*28/*28 vs. *1/*1)
	HR*	0.84 (95% CI 0.58–1.21) (*1/*28 vs. *1/*1)
	SG	613 días (*1/*1) vs. 686 días (*28/*28) vs 669 días (*1/*28)

TTP= Tiempo a Progresión; SG= Supervivencia Global; HR* = Hazard ratio para supervivencia global

Fig 1. Rutas de mecanismo de acción de 5FU y capecitabina

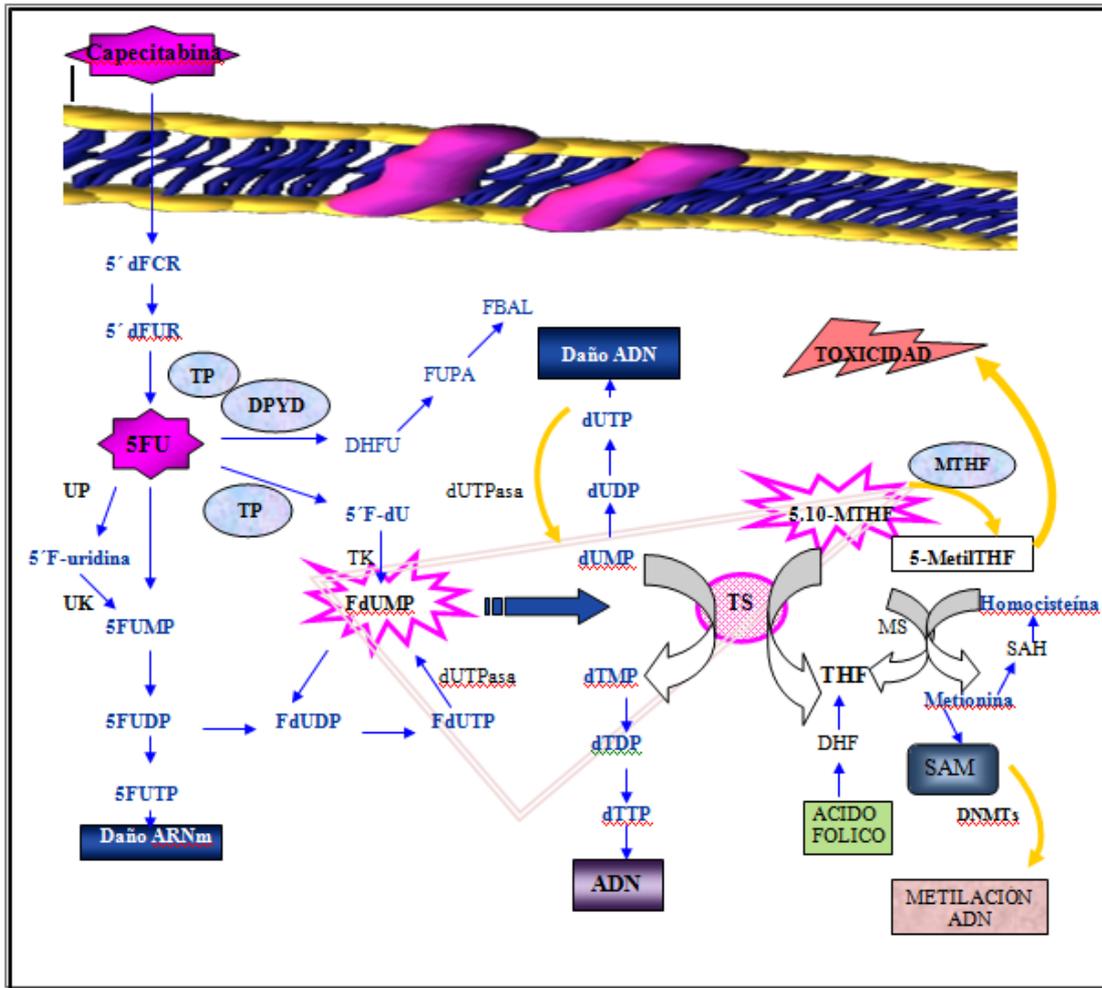


Fig2: interacción de platinos en ADN

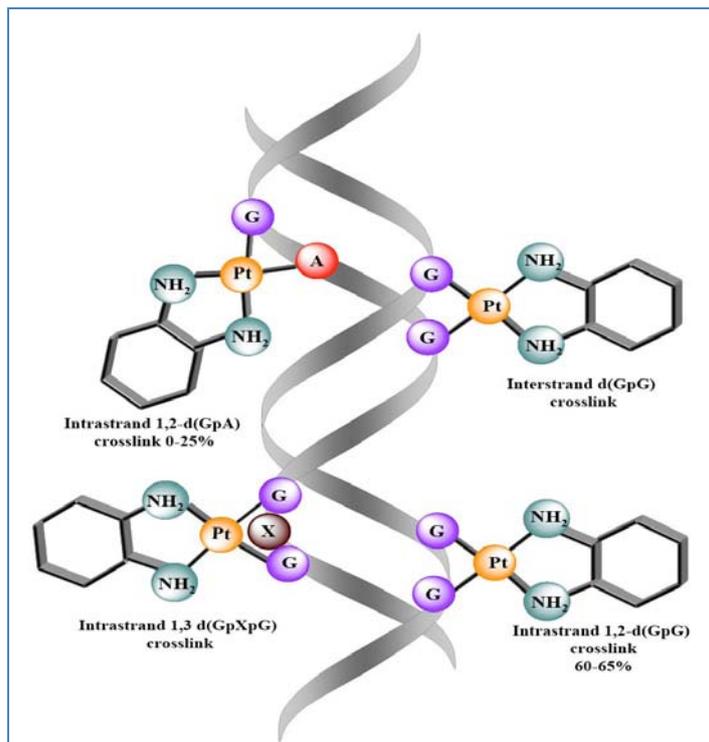


Fig 3: rutas con biomarcadores identificados de platinos

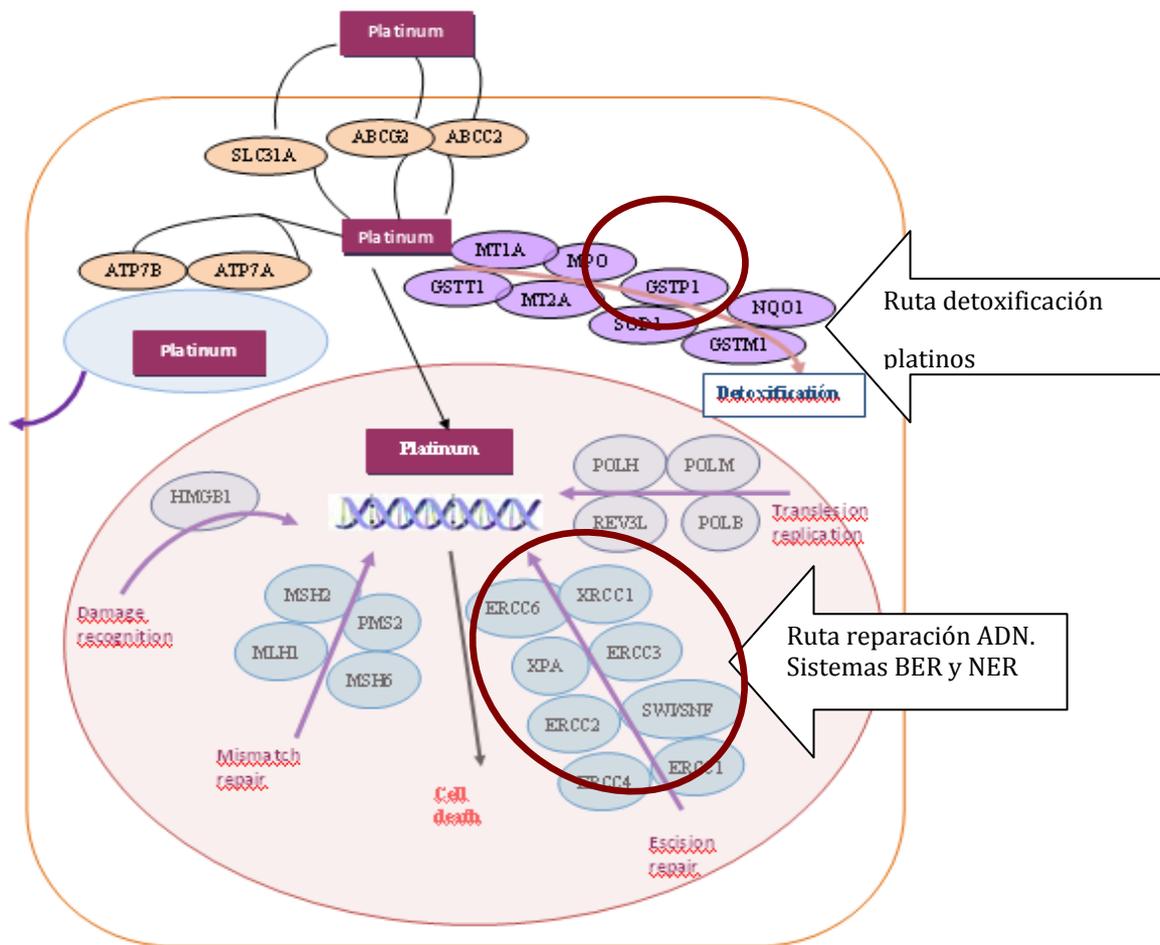


Fig 4: Rutas metabólicas de irinotecan

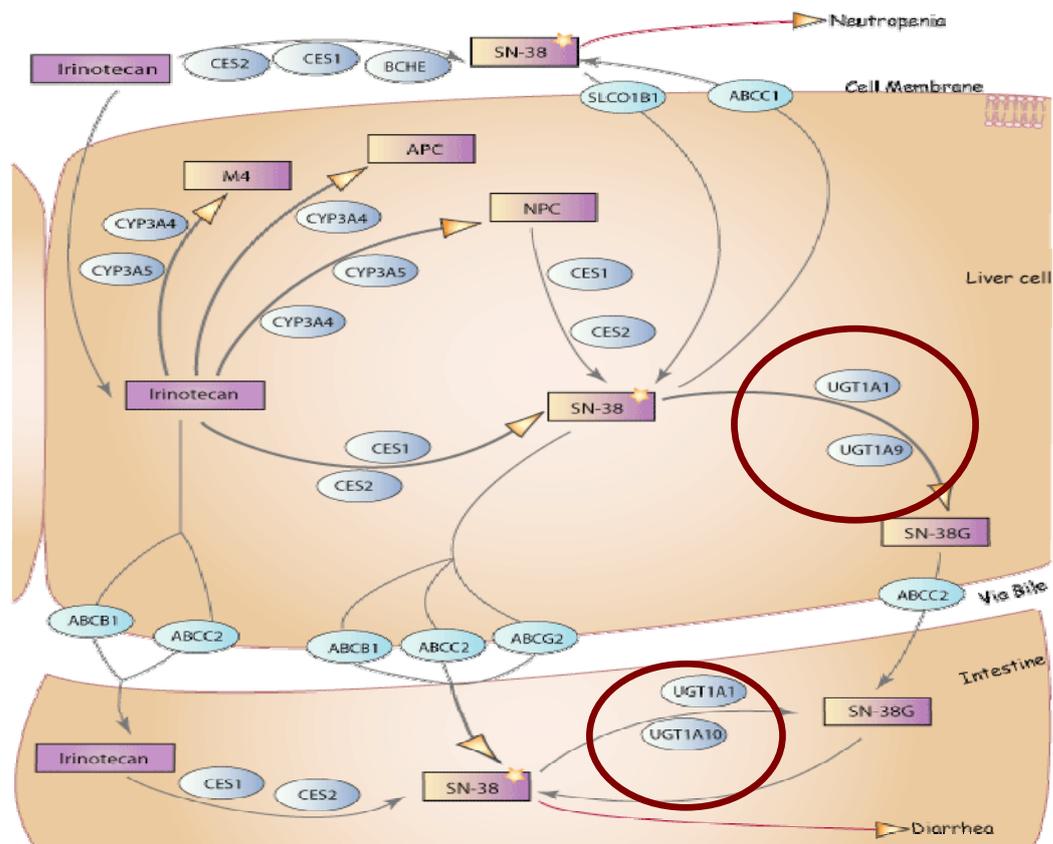


Fig 5: rutas de activación de señales del EGFR y HER2

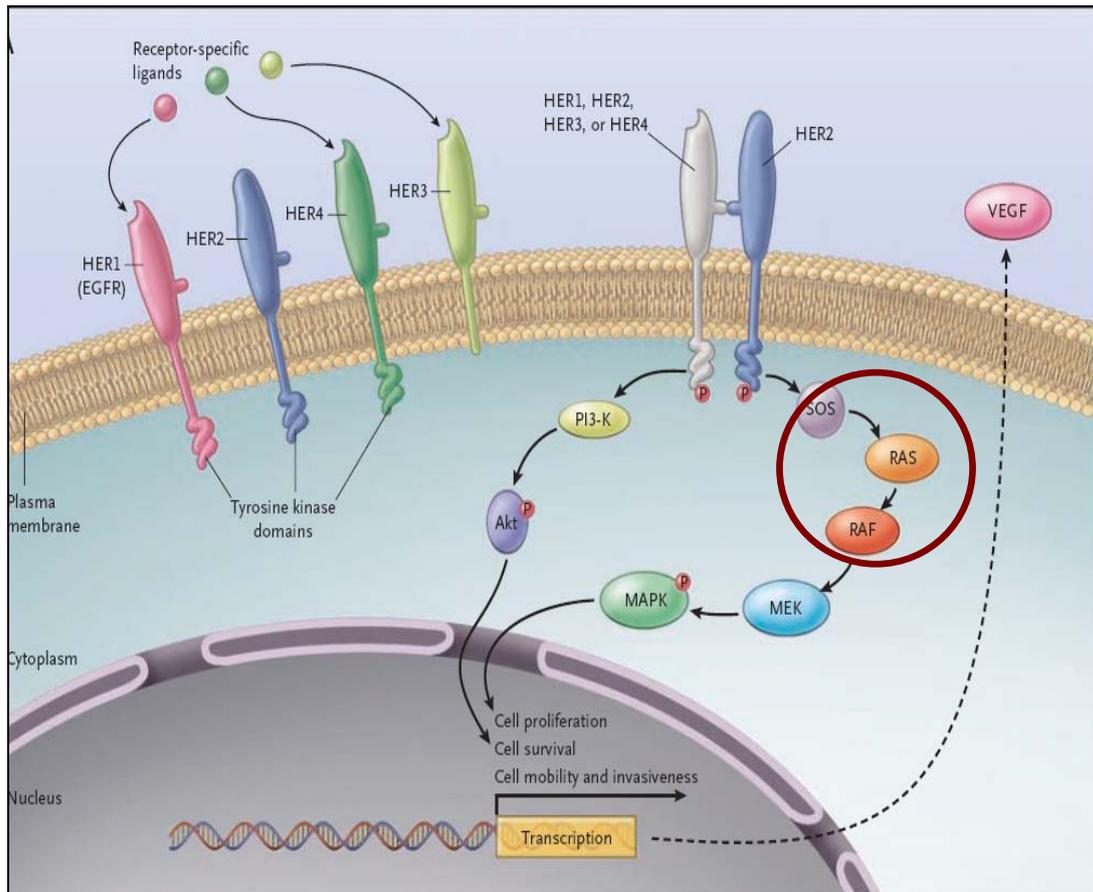
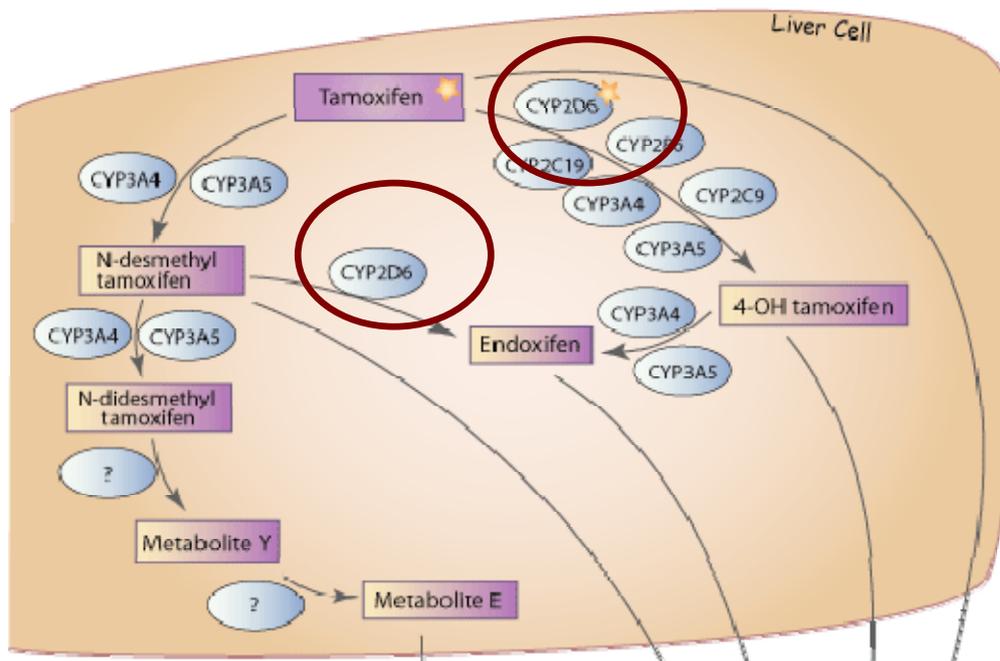


Fig 6: rutas metabólicas de tamoxifeno



BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Ikediobi ON. Somatic pharmacogenomics in cancer *The Pharmacogenomics Journal* (2008) 8, 305–314
- ² Nguyen H, Tran A, Lipkin S, and Fruehauf P. Pharmacogenomics of Colorectal Cancer Prevention and Treatment. *Cancer Investigation* 2006; 24:630-639
- ³ Danenberg PV. Thymidilate synthetase- a target enzyme in cancer chemotherapy. *Biochim Biophys Acta*. 1977 Dec 23;473(2):73-92.
- ⁴ Falcone A, Pfanner E, Brunetti I, Allegrini G, Lencioni M, Galli C, Masi G, Danesi R, Antonuzzo A, Del Tacca M, Conte PF. Suramin in combination with 5-fluorouracil (5-FU) and leucovorin (LV) in metastatic colorectal cancer patients resistant to 5-FU+LV-based chemotherapy. *Tumori* 1998; 84:666-668.
- ⁵ Otake Y, Tanakara F, Yanagihara K, Hitomi S, Okabe H, Fukushima M, Wada H. Expression of Thymidylate Synthase in Human Non-small Cell Lung Cancer. *Jpn J Cancer Res* 1999; 90:1248-53.
- ⁶ Danenberg PV. Thymidilate synthetase- a target enzyme in cancer chemotherapy. *Biochim Biophys Acta*. 1977 Dec 23;473(2):73-92.
- ⁷ Horie N, Aiba H, Oguro K, Hojo H, Takeishi K: Functional analysis and DNA polymorphism of the tandemly repeated sequences in the 5'-terminal regulatory region of the human gene for thymidylate synthase. *Cell Struct Funct* 1995, 20: 191-97
- ⁸ Marcuello E, Altés A, del Rio E, Cesar A, Menoyo A, and Baiget M. Single nucleotide polymorphism in the 5' tandem repeat sequences of Thymidylate Synthase gene predicts for response to fluorouracil-based chemotherapy in advanced colorectal cancer patients. *Int. J. Cancer*, 2004. 112: 733-737
- ⁹ Mandola MV, Stoehlmacher J, et al. A 6pb polymorphism in the thymidylate synthase gene causes message instability and is associated with decreased intratumoral TS mRNA levels. *Pharmacogenetics*. 2004. May; 1415:319-327
- ¹⁰ Lecomte T, Ferraz JM, Zinzindohoue F, Loriot MA, Tregouet DA, Landi B, Berger A. Thymidylate synthase gene polymorphism predicts toxicity in colorectal cancer patients receiving 5-Fluorouracil-based chemotherapy. *Clin. Cancer Res*. 2004 Sept 1; 10(17): 5880-8
- ¹¹ Van Kuilenburg AB, Meinsma R, Beke E, Bobba B, Boffi P et al. Identification of three novel mutations in the dihydropyrimidine dehydrogenase gene associated with altered pre RNA splicing or protein function. *Biol. Chem* 2005; 286:319-329.
- ¹² López Sobella M, Criado Illana M.T, Esteban Herrera B, López Arranza M.C. Toxicidad grave por 5-fluorouracilo asociada a deficiencia de dihidropirimidina deshidrogenasa. *Farm Hosp*. 2008; 32 (1): 54-55.
- ¹³ Johnson MR, Wang K, Tillmanns S, Albin N, Diasio RB. Structural organization of human DPD gene. *Cancer Res.*, 1997. 57: 1660-1663
- ¹⁴ Sharp L, Little J. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism and colorectal neoplasia: a HuGE review. *Am J Clin Epidemiol* 2004;159:423-43.
- ¹⁵ Narayanan S, McConnell J, Little J, Sharp L, Piyathilake CJ, Powers H, Basten G, and Duthie SJ. Associations between two common variants C677T and A1298C in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene and measures of folate metabolism and DNA stability (strand breaks, misincorporated uracil, and DNA methylation status) in human lymphocytes in vivo. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(9): 1436-43).
- ¹⁶ Cohen V, Panet-Raymond V, Sabbaghian N, Morin I, Batist G, Rozen R. Methylene tetrahydrofolate Reductase Polymorphism in Advanced Colorectal Cancer: A Novel Genomic Predictor of Clinical Response to Fluoropyrimidine-based Chemotherapy. *Clinical Cancer Research*, May 2003. Vol 9, 1611-15.
- ¹⁷ Raymond E, Faivre S, Woynarowski JM, Chaney SG. Oxaliplatin: mechanism of action and antineoplastic activity. *Semin. Oncol* 1998 Apr 25(suppl.5):4-12.
- ¹⁸ Kelland L. the resurgence of platinum-based cancer chemotherapy . [Nat Rev Cancer](#). 2007 Aug;7(8):573-84.
- ¹⁹ Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2007, 7, 3-18.
- ²⁰ Watson MA, Stewart RK, Smith GB, Massey TE, Bell DA. Human glutathione S transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis* 1998;19:275-80.
- ²¹ Goto S, Iida T, Cho S, Oka M, Kohno S, Kondo T. Overexpression of glutathione S-transferase pi enhances the adduct formation of cisplatin with glutathione in human cancer cells. *Free Radic Res* 1999;31:549–58.

- ²² Lecomte Thierry, Landi Bruno, Beaune Philippe. Glutathione S-Transferase P1 Polymorphism (Ile¹⁰⁵Val) Predicts Cumulative Neuropathy in Patients Receiving Oxaliplatin-Based Chemotherapy. *Clin Cancer Res* May 15, 2006 12:3050-3056.
- ²³ Stoehlmacher J, Park DJ, Zhang W, et al: Association between glutathione S-transferase P1, T1, and M1 genetic polymorphism and survival of patients with metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 94:936-942, 2002
- ²⁴ Lunn RM, Helzlsouer KJ, Parshad R, Umbach DM, Harris EL, Sanford KK, Bell DA. XPD polymorphisms: effects on DNA repair proficiency. *Carcinogenesis*. 2000. 21:551-555.
- ²⁵ Olausson KA, Dunant A, Fouret P et al DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med*. 2006 Sep 7;355(10):983-91
- ²⁶ Park DJ, Stoehlmacher J, Zhang W, et al: ERCC1 polymorphism is associated with differential ERCC1 mRNA levels. *Proc Am Ass Cancer Res* 43:321, 2002 (abstr. 1591)
- ²⁷ Park DJ, Zhang W, Stoehlmacher J, et al. ERCC1 gene polymorphism as a predictor for clinical outcome in advanced colorectal cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Adv Hematol Oncol* 2003;1:162-6.
- ²⁸ Lunn RM, Helzlsouer KJ, Parshad R, Umbach DM, Harris EL, Sanford KK, Bell DA. XPD polymorphisms: effects on DNA repair proficiency. *Carcinogenesis*. 2000. 21:551-555.
- ²⁹ Lunn RM, Helzlsouer KJ, Parshad R, Umbach DM, Harris EL, Sanford KK, Bell DA. XPD polymorphisms: effects on DNA repair proficiency. *Carcinogenesis*. 2000. 21:551-555.
- ³⁰ Demokan S, Demir D, Suoglu Y, Kiyak E, Akar U, Dalay N. Polymorphisms of the XRCC1 DNA Repair Gene in Head and Neck Cancer. *Pathology Oncology Res*. 2005. 11:22-25.
- ³¹ Tournigand C et al. *J Clin Oncol*. 2004 Jan 15;22(2):229-37
- ³² Wasserman E, Mijara A, Lokiec F, et al. Severe CPT-11 toxicity in patients with Gilbert's syndrome: two case reports. *Ann Oncol* 1997; 1049-1051
- ³³ Marcuello E, Altés A, Menoyo A et al. UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *British Journal of Cancer* (2004) 91, 678 - 682
- ³⁴ Reflection Paper On Pharmacogenomics In Oncology. Consultado en www.emea.europa.eu 20-ene-2009 21:00
- ³⁵ Sai K, Saeki M, Saito Y, et al. UGT1A1 haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administered Japanese patients with cancer. *Clin Pharmacol Ther* 2004;75:501-515
- ³⁶ Iyer L, Das S, Janisch L, et al. UGT1A1*28 polymorphism as a determinant of irinotecan disposition and toxicity. *Pharmacogenomics J* 2002;2:43-47
- ³⁷ Mathijssen RH, Marsh S, Karlsson MO, et al: Irinotecan pathway genotype analysis to predict pharmacokinetics. *Clin Cancer Res* 9:3246-3253, 2003
- ³⁸ Paoluzzi L, Singh AS, Price DK, et al: Influence of genetic variants in UGT1A1 and UGT1A9 on the in vivo glucuronidation of SN-38. *J Clin Pharmacol* 44:854-860, 2004
- ³⁹ Stewart CF, Panetta JC, O'Shaughnessy MA, Throm SL, Fraga CH, Owens T, Liu T, Billups C, Rodriguez-Galindo C, Gajjar A, Furman WL, McGregor LM. UGT1A1 promoter genotype correlates with SN-38 pharmacokinetics but not severe toxicity in patients receiving low-dose irinotecan. *J Clin Oncol* 25:2594-2600, 2007.
- ⁴⁰ Palomaki, Glenn E.; Bradley, Linda A.; Douglas, Michael P.; Kolor, Katherine; Dotson, W David. Can UGT1A1 genotyping reduce morbidity and mortality in patients with metastatic colorectal cancer treated with irinotecan? An evidence-based review. *Genetics in Medicine*. 11(1):21-34, January 2009.
- ⁴¹ Marcuello E, Altés A, Menoyo A, Del Rio E, Gomez-Pardo M, Baiget M. UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2004;91:678-682.
- ⁴² Toffoli G, Cecchin E, Corona G, et al: The role of UGT1A1*28 polymorphism in the pharmacodynamics and pharmacokinetics of irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 24:3061-3068, 2006
- ⁴³ Cecchin E, Innocenti F, D'Andrea M, et al. Predictive role of the UGT1A1, UGT1A7 and UGT1A9 genetic variants and their haplotypes on the outcome of metastatic colorectal cancer patients treated with fluororacil, leucovorin, and irinotecan. *J Clin Oncol* 2009; (27)=2457-2465
- ⁴⁴ Garsparini G., D'Andrea M.R., Toffoli G. Irinotecan in the Adjuvant Treatment of Colon Cancer: Is the Story Finished or Does Personalized Therapy Open New Opportunities? *Journal of Clinical Oncology*, Vol 28, No 12 (April 20), 2010
- ⁴⁵ Hoskins J M, Goldberg R.M., Qu P., Ibrahim J.G., McLeod H. UGT1A1*28 Genotype and Irinotecan-Induced Neutropenia: Dose Matters *JNCI J Natl Cancer Inst* (2007) 99(17): 1290-1295
- ⁴⁶ Côté JF, Kirzin S, Kramar et al. A UGT1A1 polymorphism can predict hematologic toxicity in patients treated with irinotecan. *Clin Cancer Res*. 2007 Jun 1;13(11):3269-75

-
- ⁴⁷ Ficha técnica Erbitux. www.agemed.es consultado en 20-01-09
- ⁴⁸ Ficha técnica Vectibix. En www.agemed.es consultado en 20-01-09
- ⁴⁹ Slamon D.J et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against her2 for metastatic breast cancer that overexpresses her2. *N Engl J Med*, 2001 vol 344, no. 11·march 15,
- ⁵⁰ Beauclair S, Formento P, Fischel JL, Lescaut W, Largillier R, Chamorey E, Hofman P, Ferrero JM, Pagès G, Milano G. Role of the HER2 [Ile655Val] genetic polymorphism in tumorogenesis and in the risk of trastuzumab-related cardiotoxicity *Ann Oncol*. 2007 Aug;18(8):1335-41
- ⁵¹ Rosell R, Moran T, Queralt C, et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med* 2009;361
- ⁵² Ficha técnica Iressa. En www.agemed.es 30 octubre 2010
- ⁵³ Stearns V, Jonson MD, Rae JM et al. Active tamoxifen metabolite plasma concentrations after coadministration of tamoxifen serotonin reuptake inhibitor paroxetine. *J Natl Cancer Inst* 2003: 23: 1758-64
- ⁵⁴ Goetz MP, Knox SK, Suman VJ, et al. *The impact of cytochrome P450 2D6 metabolism in women receiving adjuvant tamoxifen. Breast Cancer Res Treat* 2007: 101:113–121
- ⁵⁵ Schroth W, Antoniadou L, Fritz P, et al. *Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes. J Clin Oncol* 2007(25):5187–5193
- ⁵⁶ Schroth W, Goetz MP, Hamann U, et al. *Association between CYP2D6 polymorphisms and outcomes among women with early stage breast cancer treated with tamoxifen. JAMA* 2009: (302)1429–1436.
- ⁵⁷ Nowell SA, Ahn J, Rae JM, et al. *Association of genetic variation in tamoxifen-metabolizing enzymes with overall survival and recurrence of disease in breast cancer patients. Breast Cancer Res Treat* 2005: (91):249–258.
- ⁵⁸ Wegman P, Vainikka L, Stal O, et al. *Genotype of metabolic enzymes and the benefit of tamoxifen in postmenopausal breast cancer patients. Breast Cancer Res* 2005: (7)R284–R290
- ⁵⁹ Goetz M, Berry D, Klein T, et al. (2010) *Adjuvant tamoxifen treatment outcome according to cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) phenotype in early stage breast cancer: Findings from the International Tamoxifen Pharmacogenomics Consortium. Cancer Res* 69(suppl 24), abstr 33
- ⁶⁰ Sugiyama E, Kaniwa N, Kim SR et al. Pharmacokinetics of gemcitabine in japanese cancer patients: the impact of a cytidine Deaminase polymorphism. *J Clin Oncol* 2007; 25:32-42.
- ⁶¹ Ueno H, Kiyosawa K, Kaniwa N. Pharmacogenomics of gemcitabine: can genetic studies lead to tailor-made therapy? *British J Cancer* 2007: 97 (145-151)
- ⁶² Rosell R, Danenberg KD, Alberola V et al. Ribonucleotide reductase messenger RNA expression and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 10:1318-1325