

Farmacogenómica en el cáncer colorrectal

E. Bandrés, N. Zabalegui, R. Zárate, V. Catalán, B. Honorato, F. García, E. Andión, A. Escalada, S. Martín Algarra, J. García-Foncillas

Laboratorio de Biotecnología. Departamento de Oncología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra

Correspondencia:

Jesús García-Foncillas

Laboratorio de Biotecnología. Departamento de Oncología

Clínica Universitaria. Universidad de Navarra

Avda. Pío XII, 36

31008 Pamplona

(jgfoncillas@unav.es)

Resumen

La investigación en el proyecto genoma humano va a favorecer en los próximos años el desarrollo farmacoterapias más personalizadas. La Farmacogenómica es una nueva disciplina que se ha desarrollado en los últimos años y cuyos objetivos se dirigen a conocer aquellos mecanismos que permitan explicar cómo la base genética de cada individuo afecta a la respuesta obtenida a las drogas. La posibilidad de predecir qué terapias son más efectivas para un determinado paciente va a constituir una poderosa herramienta médica, particularmente en el ámbito de la oncología. Es probable que estas predicciones deriven de una mejor comprensión de la enfermedad tanto a nivel celular como molecular. Por lo que respecta al cáncer colorrectal, los avances en el conocimiento de la etiología de la enfermedad a nivel molecular no se han asociado con una mejora en el tratamiento del paciente. La eficacia clínica y la toxicidad de las drogas más utilizadas en el tratamiento del cáncer colorrectal de cada paciente son por el momento impredecibles. Entre otras muchas variables, se han descrito determinados polimorfismos en genes implicados en el metabolismo de estas drogas que determinan la variabilidad inter-individual tanto en la eficacia terapéutica como en la toxicidad. La investigación de las características moleculares del cáncer colorrectal y el desarrollo de nuevas terapias dirigidas a dianas específicas van a permitir en el futuro predecir la respuesta de la neoplasia y, por tanto, modificar la opción terapéutica buscando aquella que mejor se ajuste al perfil biológico.

Palabras Clave: Farmacogenómica. Cáncer colorrectal. 5-FU. TS.

La era post-genómica se ha iniciado con la esperanza de acercar la práctica médica a cada individuo. La medicina personalizada pretende generar una unión consistente entre el perfil molecular del individuo y el perfil clínico de la enfermedad, ayudando a los profesionales de la medicina a tomar decisiones más acertadas en el tratamiento individual de cada paciente. El análisis molecular de determinadas enfermedades con fenotipos clínicos homogéneos puede ayudarnos a distinguir distintas entidades moleculares que requieran diferentes estrategias terapéuticas con el fin de obtener mayores éxitos en

Summary

Advances in human genome research will make it possible to personalize pharmacotherapy. Pharmacogenomics has been defined as the study of mechanisms that explain how an individual's genetic inheritance affects the response to drugs. The ability to predict which therapies are most likely to be effective for certain patients would constitute a powerful medical tool, particularly in oncology. Such predictions would be likely to arise from an understanding of the disease on the cellular and molecular level. For colorectal cancer, our increased knowledge of the molecular etiology of the disease has not yet been paralleled by an improvement in patient care. Clinical efficacy and also toxicity of a given chemotherapy are still largely unpredictable for the individual patient. Amongst other variables, genetic polymorphisms determine the interindividual heterogeneity in both toxicity and therapeutic efficacy. Due to the better molecular characterization of colorectal cancer and the development of new target-directed therapies, it should be possible to predict which therapeutic interventions will have a high likelihood of success for an individual patient.

Key words: Pharmacogenomics. CRC. 5-FU. TS.

la terapia. De esta forma la clasificación de enfermedades de acuerdo a su clínica puede ser reemplazada por una clasificación molecular. Las terapias dirigidas contra la diana responsable de determinadas patologías pueden reemplazar a las terapias clásicas, que en la mayoría de las ocasiones, se limitan a tratar los síntomas de la enfermedad. De esta manera se espera que en un futuro muy próximo se desarrollen test farmacogenómicos que predigan la respuesta a la terapia según el perfil genómico de cada paciente. La medicina personalizada puede generar cambios radicales en la industria farmacéutica y en la

práctica médica aportando enormes beneficios para la salud del individuo.

Farmacogenética y farmacogenómica

El pasado siglo XX se ha caracterizado por el desarrollo de un gran número de terapias contra las principales enfermedades que afectan a nuestra sociedad: infecciones, enfermedades cardiovasculares, cáncer y desórdenes mentales. Sin embargo, muchas de las drogas utilizadas con frecuencia no son capaces de curar al individuo y además en ocasiones pueden provocar importantes efectos adversos.

En la actuación terapéutica frente a una enfermedad es evidente la variabilidad interindividual de la respuesta. Dicha variabilidad va intrínsecamente ligada a las características genéticas del sujeto y está modulada por factores fisiológicos, patológicos y ambientales. Así, una particular dotación genética del sujeto subyace tanto en los factores farmacocinéticos, determinantes de la concentración del fármaco en su lugar de acción como en los factores farmacodinámicos, acción específica del fármaco, ligados a la manifestación propia de la enfermedad y a las reacciones adversas. La Farmacología del futuro pretende realizar una terapia individualizada monitorizando el cociente riesgo/beneficio, es decir, determinar el fármaco óptimo y la dosis apropiada para cada individuo, consiguiendo un mayor efecto terapéutico y minimizando el riesgo de reacciones adversas. Las nuevas tecnologías, que ayudan a comprender el papel de los genes en las enfermedades, están revolucionando los procesos de descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos, ofreciendo considerables oportunidades a la industria para reducir tiempos, costes y riesgos¹.

La farmacogenómica es una nueva disciplina que engloba tanto a la farmacología como a la genética². El descubrimiento de las variantes genéticas de los individuos,, que influyen en el efecto de los fármacos, permitirá el desarrollo de nuevos procedimientos diagnósticos y productos terapéuticos que se prescribirán selectivamente a los pacientes, con garantía de seguridad y efectividad. Estas variaciones pueden manifestarse como cambios que afectan a las dianas frente a las que van dirigidas las drogas o como diferencias que afectan a las enzimas que metabolizan estas drogas³. La farmacogenética tradicional estudia variaciones de la secuencia de genes candidatos sospechosos de afectar a la respuesta frente a una determinada droga. Por otro lado la farmacogenómica estudia el efecto global sobre un amplio número de genes permitiendo a los investigadores identificar las bases genéticas de las variaciones interindividuales e interraciales respecto a la eficacia de las drogas, su metabolismo y su transporte. De esta manera se ha aumentado el nivel de complejidad en la búsqueda de nuevos genes candidatos⁴.

El patrón de expresión génica en un determinado tejido puede revelar mecanismos de acción de determinadas drogas en el contexto genético y puede servir para aclarar diferencias interindividuales en la respuesta a fármacos. El proyecto genoma humano (HGP) y las avanzadas tecnologías automatizadas, como la tecnología microarray, van a tener un profundo impacto en el descubrimiento de nuevas drogas, su desarrollo y su aplicación terapéutica. La aplicación de esta técnica en screening y toxicología de fármacos permite analizar de una

forma rápida los cambios de expresión génica que se dan durante la administración de un fármaco así como la localización de nuevas posibles dianas terapéuticas y los efectos toxicológicos asociados.

La tecnología microarray permite estudiar simultáneamente la expresión de miles de genes en un único experimento. Se puede estudiar la función de los genes al facilitar la identificación de que genes están activados de forma diferencial cuando se comparan tejido sano y enfermo, células en distintas etapas de desarrollo, en distintas condiciones metabólicas o ambientales. Este enfoque posibilita el desarrollo de la "genómica funcional". La tecnología microarray se basa en la tecnología Southern que viene desarrollándose en ciencia desde los años 70. Las innovaciones tecnológicas como la miniaturización y la detección con fluorescencia, aportan notables ventajas con respecto a las técnicas tradicionales. Un microarray está formado por cientos o miles de puntos cada uno de los cuales representa la secuencia de un determinado gen. Estos puntos pueden ser productos de PCR de cDNA u oligonucleótidos que son inmovilizados en una superficie sólida, habitualmente cristal. La muestra problema a analizar, RNA total o RNAm, es transformada en DNA complementario incorporando nucleótidos marcados fluorescentemente, normalmente Cy3 o Cy5. Los cDNA provenientes de dos muestras diferentes (tejido tumoral versus tejido normal) marcados con distintos fluorocromos son hibridados con un mismo microarray y la fluorescencia en cada punto se determina mediante la utilización de un láser confocal. Tras la excitación y emisión de fluorescencia se obtiene una señal cuantificable que se convierte en una matriz de puntos verdes, rojos o amarillos según la expresión relativa para cada gen en cada una de las muestras. La cantidad de RNA utilizado, la eficacia del marcaje del cDNA y la eficiencia en la hibridación puede variar significativamente entre los distintos experimentos y resulta imprescindible "normalizar" los datos obtenidos. En estos experimentos se obtiene una gran información con numerosos datos que deben ser procesados. Es en este punto donde la bioinformática adquiere su protagonismo aportando numerosas herramientas que permiten analizar toda la información obtenida^{5,6}.

Otro elemento clave en la búsqueda de genes relevantes para explicar una determinada enfermedad y/o terapia es obtener un mapa comprensible de los polimorfismos distribuidos por todo el genoma. El término polimorfismo se define como las variaciones que existen en el DNA genómico y que ocurren en al menos el 1% de la población. La gran mayoría de estos polimorfismos son cambios de un solo nucleótido o SNP (single nucleotide polymorphisms). Puesto que el genoma humano está formado por 3 billones de nucleótidos y existe una variación cada 300 pares de bases, las diferencias que, podría esperarse, existen entre dos genomas serían de 10 millones de SNP y una minoría de ellos se ha asociado con la respuesta a drogas de manera que la tarea pendiente en este campo es enorme.

Las principales empresas farmacéuticas han respondido con grandes inversiones económicas al énfasis creciente en el desarrollo de una terapia individualizada para conseguir una mayor eficacia y seguridad de sus fármacos. Consideran esenciales el desarrollo de nuevos test genéticos capaces de discernir en que pacientes una determinada droga va a ser más efectiva y segu-

ra. Todo esto nos conduce a nuevas aproximaciones en el desarrollo de nuevas drogas, a la aplicación de una terapia individualizada y al desarrollo de una medicina más preventiva

Aplicación de la farmacogenómica y de la farmacogenética en el cáncer de colon

En el campo de la oncología es particularmente evidente la necesidad de nuevos diagnósticos y nuevas estrategias terapéuticas. La clasificación de los tumores en subtipos patogénicos con diferentes cursos clínicos puede ayudar a los clínicos a desarrollar terapias más específicas. En el caso del cáncer colorrectal, la clasificación de Dukes y el estadiaje con el sistema TNM clasifica el tumor de acuerdo a su apariencia histológica. Sin embargo, la práctica clínica demuestra que aquellos tumores con características histopatológicas similares presentan distintas respuestas a la terapia y por lo tanto muy diferentes pronósticos.

El fundamento del tratamiento actual para el cáncer de colon consiste en la resección del tumor mediante cirugía. Esta terapia si bien resulta curativa en los estadios precoces del tumor no resulta eficaz en aquellos pacientes con micro-metástasis o metástasis a distancia. Aunque se ha demostrado que el cáncer de colon representa una patogenia muy heterogénea desde el punto de vista clínico y patológico, el tratamiento quimioterápico aplicado por el momento es estándar⁸. Las drogas citotóxicas utilizadas son efectivas sólo en algunos pacientes mientras que en otros además de no ser eficaces, resultan altamente tóxicas. Por lo tanto es necesario localizar marcadores de pronóstico que puedan facilitar la identificación de aquellos pacientes que van a beneficiarse en mayor medida del tratamiento citostático. Habitualmente, todos los pacientes con cáncer de colon en estadio III son tratados con quimioterapia adyuvante. Sin embargo, un estudio realizado por Moertel, *et al.*⁹ indica que tras la cirugía la supervivencia a 5 años era tan sólo del 45% mientras que en aquellos pacientes que habían recibido quimioterapia adyuvante el porcentaje de supervivencia era del 65%. Estos datos lo que indican es que cerca de la mitad de los pacientes que han recibido quimioterapia se hubieran curado sin ella y que el 35% de los pacientes fallecen a pesar de haber recibido el tratamiento. Las diferencias genéticas individuales pueden ayudar a determinar el potencial metastásico de cada tumor y determinar distintos protocolos de tratamientos adyuvantes. Los cambios genéticos habitualmente observados en el cáncer de colon están siendo estudiados como posibles marcadores que puedan proveer pistas a los clínicos con el fin de realizar una intervención terapéutica más racional¹⁰. Además de la efectividad de la droga es importante poder predecir la toxicidad de los distintos tratamientos. Las células tumorales poseen un genoma que difiere sólo sutilmente de las células normales de las cuales derivan, por lo que muchas dianas frente a las que van dirigidas las drogas anti-tumorales afectan del mismo modo a las células normales. De esta manera muchas de las drogas que son capaces de matar células tumorales, son poco específicas y provocan daños colaterales muy importantes en las células normales. Estas drogas se considera que presentan un estrecho rango terapéutico en cuanto que la relación existente entre la dosis que se asocia con la eficacia anti-tumoral y la toxicidad que presenta es demasiado pequeña.

Los compuestos formados por las tiopurinas son las drogas más ampliamente utilizadas como terapia anti-tumoral en el cáncer digestivo. Estas prodrogas son convertidas por enzimas en nucleótidos de tio-guanina los cuales son incorporados en el DNA provocando la muerte celular. Uno de estos fármacos, el agente **5-fluoruracilo (5-FU)** es ampliamente prescrito para el tratamiento de tumores sólidos y es el principal agente quimioterápico utilizado en el tratamiento del cáncer colorrectal. Resulta raro comprobar que a pesar de ser el tercer agente anti-tumoral más prescrito sólo el 20-30% de los pacientes con cáncer colorrectal responden al tratamiento. El 5-FU, es una molécula en la que el hidrógeno del carbono 5 del anillo de pirimidina es sustituido por flúor. La enzima *timidina fosforilasa* (TP) cataliza la conversión de 5-fluoruracilo a FdR y posteriormente sufre una fosforilación por la *timidina quinasa* (TK) a 5-fluoro-2'deoxiuridin-5' monofosfato (FdUMP). Este metabolito es el que inhibe directamente a la enzima *timidilato sintasa* (TS). Esta enzima es necesaria para la síntesis de novo de pirimidinas y su inhibición impide la replicación del DNA y por lo tanto el crecimiento tumoral^{11,12}.

Distintos niveles de la enzima *timidilato sintasa* (TS) afectan directamente sobre la efectividad de dicho agente y se ha comprobado en diferentes estudios una relación inversa entre los niveles de RNAm^{13,14} o de enzima¹⁵ y la respuesta obtenida al tratamiento. Recientemente se ha demostrado además que la presencia de esta enzima es diferente en distintos puntos de metástasis. Gorlick *et al.*¹⁶ han demostrado que los niveles de RNAm de TS es mayor en las metástasis pulmonares que en las metástasis hepáticas derivadas de cáncer colorrectal. Este dato coincide con los publicados por Cascinu *et al.*¹⁷ según los cuales los niveles de TS son también mayores en las metástasis abdominales que en las hepáticas. Estas variaciones intra-pacientes en los niveles de TS entre los tumores primarios y entre los distintos puntos de metástasis puede indicarnos la necesidad de cuantificar la expresión de esta enzima con el fin de obtener un mejor indicador de la falta de respuesta a 5-FU. También se ha descrito un polimorfismo genético en el gen para la enzima TS que actúa como regulador de la expresión de dicha enzima. Este polimorfismo está caracterizado por un número de repeticiones en tandem (dos o tres repeticiones) en la región promotora del gen de la TS de una secuencia de 28 pares de bases. Un mayor número de repeticiones implica una mayor expresión de la enzima y por lo tanto aquellos pacientes homocigotos con tres repeticiones en tandem tienen una mayor actividad de la TS y por lo tanto una menor probabilidad de responder al tratamiento con 5-FU que aquellos pacientes homocigotos con dos repeticiones^{18,19}. En uno de estos estudios los investigadores evalúan 50 pacientes con cáncer colorrectal en estadio avanzado que han sido tratados con 5-FU. Los resultados obtenidos demostraron que el 50% de los pacientes tienen una copia del promotor con una doble repetición y otra con triple repetición, el 29% de los pacientes presentan los dos genes con triple repetición y el 21% de los pacientes tienen los dos genes con una doble repetición. Se demuestra que aquellos pacientes en los que la región promotora de ambos genes existe una doble repetición son los que responden mejor al tratamiento con 5-FU y los tumores disminuyen o desaparecen completamente durante al menos 6 semanas²⁰. La supervivencia en estos pacientes es aproximadamente de 8 meses más que en los pacientes con otros tipos de variaciones. Estos datos sugieren

que este simple test genético puede ayudar a determinar que pacientes con cáncer colorrectal serían los más beneficiados con el tratamiento con esta droga. Sin embargo, en este estudio además se comprueba que los pacientes con la variante genética más beneficiosa en cuanto a la respuesta son además los más sensibles a los efectos adversos provocados por la droga de manera que este test también identifica aquellos pacientes que requieren un mayor seguimiento cuando son tratados.

Es importante señalar que aunque una alta expresión de la TS es indicativa de quimiorresistencia a 5-FU, una baja expresión no identifica necesariamente individuos más sensibles al tratamiento. Otros marcadores tales como aquellas enzimas implicadas en el metabolismo del 5-FU podrían ayudar a explicar la falta de respuesta a 5-FU. La enzima *timidin-fosforilasa* (TP) es una enzima que cataliza la fosforilación reversible de timina y deoxiuridina a sus bases y deoxirribosas fosfato. Se ha demostrado que esta enzima induce angiogénesis y crecimiento tumoral²¹ y además permite la activación de ciertas prodrugs como por ejemplo la conversión de FUDR a 5-FU. Un estudio realizado por Metzger *et al* demuestra que la expresión de TP es un factor predictivo independiente en pacientes con cáncer colorrectal tratados con 5FU más leucovorin. Niveles de expresión bajos de la enzima TP en el tumor se asocian con pacientes que responden al tratamiento mientras que aquellos pacientes con una expresión alta de las enzimas TP o TS no responden al tratamiento. Estos datos contrastan claramente con la evidencia teórica de que aquellas células con una mayor expresión de TP deberían ser más sensibles al 5FU. Esta discrepancia puede sugerir que la asociación inversa entre los niveles de expresión de TP y la respuesta a 5FU es una consecuencia del papel angiogénico de la enzima TP.

Otra importante enzima involucrada en la función del 5-FU es la *dihidropirimidina dehidrogenasa* (DPD). Más del 80% del 5-FU es inactivado en el hígado por esta enzima y la actividad de la DPD varía entre 5-21 veces^{24,25}. 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 grandes toxicidades que pueden llegar a ser mortal²⁶. 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)²⁷. Aproximadamente el 3% de la población son portadoras de mutaciones heterocigotas que inactivan la DPD y el 0,1% son homocigotas 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 fallecido²⁸. 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 trunca que es degradada por el proteosoma (Figura 1). Un estudio realizado en 25 pacientes con toxicidad en grado III-IV demostró que el 24% de los pacientes eran portadores de esta

mutación aportando pruebas sobre la necesidad de realizar dicho genotipaje antes del tratamiento quimioterápico con 5-FU²⁹. 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 metastásico³⁰.

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. El gen *p53* y su proteína esta involucrada directamente en el control del ciclo celular y el mecanismo de apoptosis. En un 50-60% de tumores de colon se observan mutaciones en dicho gen que provoca una sobreexpresión del mismo³¹. La sobreexpresión de esta proteína se ha asociado con un peor pronóstico aunque los resultados existentes en la literatura a nivel clínico son conflictivos en este sentido³². Sólo existe un trabajo en el que se demuestra que la sobreexpresión de este gen se correlaciona con una peor respuesta en pacientes de cáncer colorrectal tratados con bolus de 5-FU más leucovorin³³.

Otro gen que ha sido investigado en cáncer colorrectal es el gen *k-ras*. Su influencia en la respuesta obtenida en el tratamiento quimioterápico con 5-FU se ha analizado en dos estudios y en ninguno de los dos trabajos se ha demostrado asociación entre las mutaciones en este gen y la quimiosensibilidad^{34,35}.

El 5-fluorouracilo interacciona con algunos otros fármacos antineoplásicos confiriendo una acción sinérgica. Esto ha facilitado la puesta en marcha de regímenes de poliquimioterapia cuyo objetivo se cifra en aumentar la tasa de respuesta y, por extensión, la supervivencia global de estos paciente. Algunos de estos citostáticos que pueden utilizarse como adyuvantes son:

- El ácido fólico o leucovorin se une a un punto distinto de la TS que el FdUMP, estableciéndose un complejo ternario entre los tres elementos que aumenta la inhibición de la TS.
- El tomudex (Raltitrexed) es otro inhibidor competitivo de la timidilato sintetasa favoreciendo de esta manera la actividad del 5-fluorouracilo.

Los niveles de expresión de la enzima *Timidilato Sintetasa*, al igual que ocurre con el 5-FU, condiciona la respuesta obtenida a la poliquimioterapia con estos fármacos.

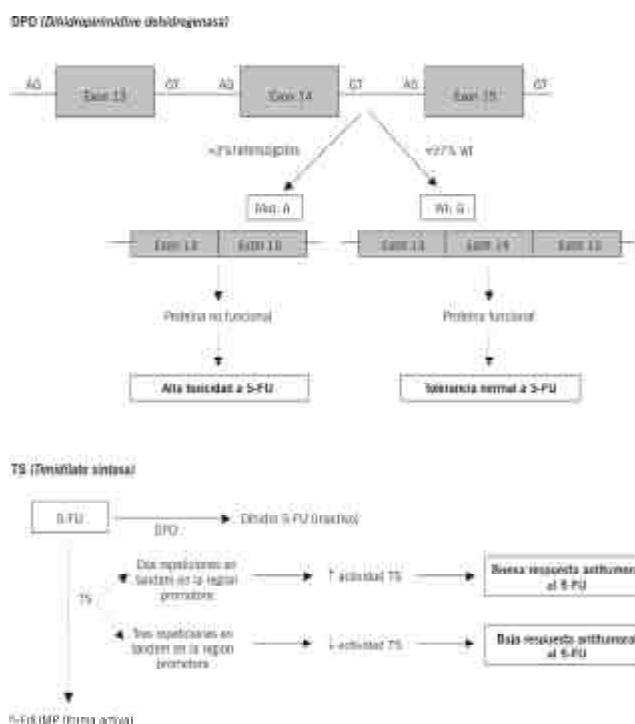
- Los derivados de platino como el cisplatino, carboplatino u oxaliplatino aumenta el contenido intracelular de folatos reducidos, aumenta el daño producido sobre el DNA e interfiere en la reparación del DNA. De todos ellos el más utilizado en terapia de cáncer de colon es el *oxaliplatino*. Como agente único con este compuesto

se obtienen respuestas modestas pero es muy activo en combinación con 5-FU. Como tratamiento de primera línea la combinación de ambos compuestos muestra ratios de respuestas de un 50-53%. El Oxaliplatino actúa principalmente formando aductos en el DNA y los genes implicados en el sistema de reparación del DNA deben estar implicados en la respuesta obtenida. Por el momento, sólo existen algunas evidencias que asocian una alta expresión del gen ERCC1 y una menor respuesta al tratamiento con 5-FU más oxaliplatino.

La *capecitabina* es otra fluorpirimidina que ha demostrado ratios de respuesta similares al 5-FU con una toxicidad aceptable y con la ventaja de ser administrada por vía oral. La enzima TP cataliza el paso final de activación de este fármaco y se ha demostrado que la expresión de esta enzima es mayor en tumores que en tejidos normales, lo cual sugiere que este fármaco presenta una mayor especificidad tumoral. El mecanismo de acción es similar al 5-FU y al igual que ocurre con este agente el nivel de expresión de la enzima TS se ha asociado con la respuesta obtenida a la capecitabina. Un pequeño estudio realizado en el promotor de la TS también ha demostrado que aquellos pacientes con el genotipo 2R/2R en esta región muestran las más altas tasas de respuestas (80%)³⁷.

El *Irinotecan* o *CPT-11* es otro producto que está siendo utilizado como tratamiento quimioterápico frente el cáncer de colon, como agente único o en combinación con 5-FU. Los resultados obtenidos en primera línea de tratamiento demuestran que la incorporación del irinotecan al tratamiento con 5-FU incrementa la ratio de respuesta de un 22% a un 35% y la supervivencia en tres meses. Este producto se administra como una prodroga que requiere ser transformado por la carboxilesterasa, la cual activa el fármaco a SN-38 que bloquea la *topoisomerasa I* y por lo tanto inhibe el crecimiento celular³⁸. La enzima hepática UDP-glucuroniltransferasa 1A1 inactiva el producto activo del fármaco, SN-38, mediante glucuronidación siendo el producto originado eliminado por la bilis y la orina. La toxicidad dosis-limitante del irinotecan consiste entre otros efectos en diarrea y leucopenia y estos efectos tóxicos están asociados con una excesiva formación de SN-38³⁹. Estudios *in vitro* han demostrado que la variación interindividual en la capacidad de introducir un grupo glucurónico al compuesto SN-38 varía entre 17-52 veces de manera que la variabilidad en cuanto a la respuesta al irinotecan puede estar relacionada con la tasa de glucuronidación^{40,41}. En la región promotora de este gen también se ha descrito un polimorfismo que afecta a la expresión de la enzima⁴². Este polimorfismo consiste en variaciones en un determinado número de repeticiones TA (zona de unión del factor de transcripción IID). La presencia de siete repeticiones TA, (TA)7TAA, UGT1A1*28, en comparación con la forma agreste de seis repeticiones, en la región promotora de UGT1 reduce la expresión de la enzima y por lo tanto también reduce los niveles de SN-38-glucuronizado⁴³. Esto provoca una mayor acumulación de SN-38, provocando importantes efectos adversos durante la terapia con irinotecan. En cuanto a la eficacia de este fármaco, otro gen que ha sido implicado como marcador predictivo es el gen *k-ras*. Se ha sugerido que productos mutantes de este gen pueden alterar la expresión de c-fos, alterando la sensibilidad de células tumorales a las camptotecinas. El pro-

Figura 1. Polimorfismos que afectan a la respuesta terapéutica a 5-FU



a) Mutaciones en el gen DPD afectan directamente al metabolismo del 5-FU. El gen DPD wild-type contiene una secuencia de nucleótidos GT al final del exón 14 necesaria para el correcto splicing del mRNA. Un cambio de G a T en este punto provoca la pérdida completa del exón 14 y genera una proteína no funcional. Los pacientes con esta mutación no pueden metabolizar correctamente el 5-FU provocando toxicidades severas a este fármaco.

b) Polimorfismos en la enzima TS afectan a la eficacia del 5-FU. La presencia de tres repeticiones en tandem en la región promotora del gen provoca un aumento en la expresión de esta enzima. El metabolito activo del 5-FU, 5-FdUMP, inhibe en el tejido tumoral la enzima TS impidiendo el crecimiento tumoral. Los individuos con este polimorfismo (tres repeticiones) presentan una mayor expresión de esta enzima y por lo tanto una menor respuesta al fármaco que aquellos individuos con dos repeticiones.

ducto del oncogen fos regula la síntesis de DNA y los mecanismos de reparación del DNA aumentando en parte la expresión de la enzima *Topoisomerasa I*. Esta enzima es la principal diana del CPT-11 y por tanto un aumento en su expresión podría provocar resistencia al tratamiento⁴⁴. Estudios *in vitro* han demostrado que aquellas líneas celulares con alta expresión de c-fos muestran una mayor resistencia a camptotecinas. En un trabajo *in vivo* se ha comprobado que pacientes con mutaciones en *k-ras* tienen un menor tiempo de supervivencia tras el tratamiento con CPT-11 que aquellos pacientes con el gen *k-ras* normal.

Conclusiones

Las nuevas tecnologías genéticas disponibles en la actualidad van a permitir en un futuro muy próximo cambiar el modo en que los pacientes con cáncer reciben el tratamiento quimio-

Tabla 1. Principales agentes terapéuticos utilizados para el tratamiento del cáncer colo-rectal y posibles factores predictivos asociados a respuesta

Tratamiento y marcador predictivo	Asociación con respuesta al tratamiento	Evidencia	Referencias
5- Fluoruracilo			
TS	Baja expresión. Homocigotos para dos repeticiones en tandem en la region promotora.	Estudios bien diseñados con un amplio número de pacientes.	13, 14, 15, 18, 19
DPD	Baja expresión.	Número limitado de trabajos con bajo número de pacientes.	26, 27
TP	Baja expresión.	Número limitado de trabajos con bajo número de pacientes.	22, 23
p53	Sin mutaciones	Número limitado de trabajos con bajo número de pacientes.	33
Capecitabina			
TS	Baja expresión. Homocigotos para dos repeticiones en tandem en la región promotora	Número limitado de trabajos con bajo número de pacientes.	37
DPD	Baja expresión.	Marcador teórico	
TP	Alta expresión.	Número limitado de trabajos con bajo número de pacientes.	37
Irinotecan			
Topoisomerasa I	Alta expresión.	Número limitado de trabajos con bajo número de pacientes.	44
Oxaliplatino			
ERCC1	Baja expresión.	Número limitado de trabajos con bajo número de pacientes.	36

terápico. Con esta perspectiva los oncólogos y los farmacólogos clínicos deben impulsar la incorporación de la farmacogenética en sus campos de investigación. Hasta el momento existen datos que confirman la existencia de potenciales factores predictivos que permiten seleccionar el tratamiento más adecuado para cada paciente (Tabla 1). Las nuevas tecnologías van a permitir identificar nuevos factores predictivos como consecuencia de una ampliación en el conocimiento del cáncer colorrectal y del mecanismo de acción y el metabolismo de los fármacos utilizados para su tratamiento. Las futuras investigaciones en este campo deben englobarse en el contexto de amplios estudios randomizados y controlados en los que se minimicen los sesgos y se obtengan datos robustos. De esta manera se espera en el futuro realizar una terapia personalizada de acuerdo a las características moleculares de cada individuo.

Bibliografía

- Scherf U, Ross DT, Waltham M, *et al.* A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. *Nat Genet* 2000 Mar;24(3):236-44.
- Evans DAP. Genetic factors in drug therapy. In: *Clinical and Molecular Pharmacogenetics*. Cambridge: Cambridge University Press; 1993.
- Kleyn PW, Vesell ES. Genetic variation as a guide to drug development. *Science* 1998;281:1820-1.
- Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999;286:487-91.
- Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, *et al.* Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 Dec 8; 95(25):14863-8.
- Hollon T. Comparing microarray data: What technology is needed? *J Natl Cancer Inst* 2001 Aug 1;93(15):1126-7.
- Notterman DA, Alon U, Sierk AJ, *et al.* Transcriptional gene expression profiles of colorectal adenoma, adenocarcinoma, and normal tissue examined by oligonucleotide arrays. *Cancer Res* 2001 Apr 1;61(7):3124-30.
- Seymour MT. Colorectal cancer: treatment of advanced disease. *Cancer Treat Rev* 1998 Apr;24(2):119-31.
- Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, *et al.* Intergroup study of fluorouracil plus levamisole as adjuvant therapy for stage II/Dukes' B2 colon cancer. *J Clin Oncol* 1995 Dec;13(12):2936-43.
- Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, *et al.* Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2001 Apr 19;344(16): 1196-206.
- 5-Fluorouracil: biochemistry and pharmacology. *J Clin Oncol* 1988 Oct; 6(10): 1653-64.
- Heggie GD, Sommadossi JP, Cross DS, *et al.* Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil and its metabolites in plasma, urine, and bile. *Cancer Res* 1987 Apr 15;47(8):2203-6.
- Leichman CG, Lenz HJ, Leichman L, *et al.* Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted-infusion fluorouracil and weekly leucovorin. *J Clin Oncol* 1997 Oct;15(10):3223-9.
- Kornmann M, Link KH, Lenz HJ, *et al.* Thymidylate synthase is a predictor for response and resistance in hepatic artery infusion chemotherapy. *Cancer Lett* 1997 Sep 16;118(1):29-35.
- Aschele C, Debernardis D, Casazza S, *et al.* Immunohistochemical quantitation of thymidylate synthase expression in colorectal cancer metastases predicts for clinical outcome to fluorouracil-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 1999 Jun;17(6):1760-70.
- Gorlick R, Metzger R, Danenberg KD, *et al.* Higher levels of thymidylate synthase gene expression are observed in pulmonary as compared with hepatic metastases of colorectal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 1998 Apr;16(4):1465-9.
- Cascinu S, Aschele C, Barni S, *et al.* Thymidylate synthase protein expression in advanced colon cancer: correlation with the site of metastasis and the clinical response to leucovorin-modulated bolus 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 1999 Aug;5(8):1996-9.
- Villafranca E, Okruzhnov Y, Domínguez MA, *et al.* Polymorphisms of the repeated sequences in the enhancer region of the thymidylate synthase gene

- promoter may predict downstaging after preoperative chemoradiation in rectal cancer. *J Clin Oncol* 2001 Mar 15;19(6):1779-86.
19. Kawakami K, Omura K, Kanehira E, *et al.* Polymorphic tandem repeats in the thymidylate synthase gene is associated with its protein expression in human gastrointestinal cancers. *Anticancer Res* 1999 Jul-Aug;19(4B):3249-52.
 20. Marsh S, McKay JA, Cassidy J, *et al.* Polymorphism in the thymidylate synthase promoter enhancer region in colorectal cancer. *Int J Oncol* 2001 Aug;19(2): 383-6.
 21. Moghaddam A, Zhang HT, Fan TP, *et al.* Thymidine phosphorylase is angiogenic and promotes tumor growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995 Feb 14;92(4):998-1002.
 22. Griffiths L, Stratford IJ. Platelet-derived endothelial cell growth factor thymidine phosphorylase in tumour growth and response to therapy. *Br J Cancer* 1997; 76(6):689-93.
 23. Metzger R, Danenberg K, Leichman CG, *et al.* High basal level gene expression of thymidine phosphorylase (platelet-derived endothelial cell growth factor) in colorectal tumors is associated with nonresponse to 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 1998 Oct;4(10):2371-6.
 24. Etienne MC, Lagrange JL, Dassonville O, *et al.* Population study of dihydropyrimidine dehydrogenase in cancer patients. *J Clin Oncol* 1994 Nov; 12(11):2248-53.
 25. Lu Z, Zhang R, Diasio RB. Dihydropyrimidine dehydrogenase activity in human peripheral blood mononuclear cells and liver: population characteristics, newly identified deficient patients, and clinical implication in 5-fluorouracil chemotherapy. *Cancer Res* 1993 Nov 15;53(22):5433-8.
 26. González FJ, Fernández-Salguero P. Diagnostic analysis, clinical importance and molecular basis of dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency. *Trends Pharmacol Sci* 1995 Oct;16(10):325-7.
 27. Diasio RB, Beavers TL, Carpenter JT. Familial deficiency of dihydropyrimidine dehydrogenase. Biochemical basis for familial pyrimidinemia and severe 5-fluorouracil-induced toxicity. *J Clin Invest* 1988 Jan;81(1):47-51.
 28. Johnson MR, Hageboutros A, Wang K, *et al.* Life-threatening toxicity in a dihydropyrimidine dehydrogenase-deficient patient after treatment with topical 5-fluorouracil. *Clin Cancer Res* 1999 Aug;5(8):2006-11.
 29. van Kuilenburg AB, Muller EW, Haasjes J, *et al.* Lethal outcome of a patient with a complete dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-fluorouracil: frequency of the common IVS14+1G>A mutation causing DPD deficiency. *Clin Cancer Res* 2001 May;7(5):1149-53.
 30. Salonga D, Danenberg KD, Johnson M, *et al.* Colorectal tumors responding to 5-fluorouracil have low gene expression levels of dihydropyrimidine dehydrogenase, thymidylate synthase, and thymidine phosphorylase. *Clin Cancer Res* 2000 Apr;6(4):1322-7.
 31. Lenz HJ, Hayashi K, Salonga D, *et al.* p53 point mutations and thymidylate synthase messenger RNA levels in disseminated colorectal cancer: an analysis of response and survival. *Clin Cancer Res* 1998 May;4(5):1243-50.
 32. Tortola S, Marcuello E, Gonzalez I, *et al.* p53 and K-ras gene mutations correlate with tumor aggressiveness but are not of routine prognostic value in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 1999 May;17(5):1375-81.
 33. Brett MC, Pickard M, Green B, *et al.* p53 protein overexpression and response to biomodulated 5-fluorouracil chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol* 1996 Apr;22(2):182-5.
 34. Wadler S, Bajaj R, Neuberg D, *et al.* Prognostic implications of c-Ki-ras2 mutations in patients with advanced colorectal cancer treated with 5-fluorouracil and interferon: a study of the eastern cooperative oncology group (EST 2292) *Cancer J Sci Am* 1997 Sep-Oct;3(5):284-8.
 35. Markowitz S, Hines JD, Lutterbaugh J, *et al.* Mutant K-ras oncogenes in colon cancers Do not predict Patient's chemotherapy response or survival. *Clin Cancer Res* 1995 Apr;1(4):441-5.
 36. Shiota Y, Stoehlmacher J, Brabender J, *et al.* ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 2001 Dec 1;19(23): 4298-304.
 37. Park DJ, Stoelmlacher J, Zhang W, *et al.* Human thymidylate synthase gene polymorphism determines response to capecitabine chemotherapy in advanced colorectal cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; abst 514.
 38. Kawato Y, Aonuma M, Hirota Y, *et al.* Intracellular roles of SN-38, a metabolite of the camptothecin derivative CPT-11, in the antitumor effect of CPT-11. *Cancer Res* 1991 Aug 15;51(16):4187-91.
 39. Gupta E, Lestingi TM, Mick R, *et al.* Metabolic fate of irinotecan in humans: correlation of glucuronidation with diarrhea. *Cancer Res* 1994 Jul 15;54(14):3723-5.
 40. Iyer L, King CD, Whittington PF, *et al.* Genetic predisposition to the metabolism of irinotecan (CPT-11). Role of uridine diphosphate glucuronosyltransferase isoform 1A1 in the glucuronidation of its active metabolite (SN-38) in human liver microsomes. *J Clin Invest* 1998 Feb 15;101(4):847-54.
 41. Fisher MB, Vandenbranden M, Findlay K, *et al.* Tissue distribution and interindividual variation in human UDP-glucuronosyltransferase activity: relationship between UGT1A1 promoter genotype and variability in a liver bank. *Pharmacogenetics* 2000 Nov;10(8):727-39.
 42. Mackenzie PI, Owens IS, Burchell B, *et al.* The UDP glycosyltransferase gene superfamily: recommended nomenclature update based on evolutionary divergence. *Pharmacogenetics* 1997 Aug;7(4):255-69.
 43. Wasserman E, Myara A, Lokiec F, *et al.* Severe CPT-11 toxicity in patients with Gilbert's syndrome: two case reports. *Ann Oncol* 1997 Oct;8(10):1049-51.
 44. Paradiso AV, Maiello EM, Ranieri G, *et al.* Topoisomerase-I (TOPOI) and thymidylates synthase (TS) primary tumor expression are predictive of response to CPT-11 in advanced colorectal cancer (CRC) patients. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; abst 599.