

El Genoma del Cáncer de Mama

Alfredo Hidalgo Miranda¹, Gerardo Jiménez Sánchez¹, Sergio Rodríguez Cuevas², Sandra Romero Córdoba¹, Rosa Rebollar Vega¹, Laura Uribe Figueroa¹

¹: Instituto Nacional de Medicina Genómica, México

²: Fundación Mexicana de Fomento Educativo para la Prevención y Detección Oportuna del Cáncer de Mama, A. C. (FUCAM)

Alfredo Hidalgo Miranda
Instituto Nacional de Medicina Genómica
Laboratorio de Oncogenómica
Periférico Sur 4124, Torre Zafiro II, piso 6
Col. Ex Rancho de Anzaldo, Alvaro Obregón DF
53501960, ext. 1143
ahidalgo@inmegen.gob.mx

El Cáncer De Mama: Un Problema De Salud Mundial

El cáncer de mama es una enfermedad que surge debido a la acumulación de alteraciones en el genoma de las células que componen a la glándula mamaria. A pesar del gran esfuerzo que se ha llevado a cabo en las últimas décadas para mejorar los métodos de detección y tratamiento, hoy en día el cáncer de mama constituye un grave problema de salud mundial, con más de un millón de nuevos casos diagnosticados y más de 548,000 muertes asociadas a la enfermedad cada año en el mundo¹.

A pesar de lo anterior, en años recientes ha sido posible obtener un mejor entendimiento de las bases moleculares del cáncer de mama a través de la aplicación de tecnologías de alto rendimiento, tales como los microarreglos o más recientemente, la secuenciación masiva de nueva generación².

Además de su utilidad para entender aspectos de la biología básica de la carcinogénesis mamaria, estas tecnologías han permitido traducir los hallazgos de la investigación básica a pruebas y herramientas con aplicación directa en la práctica clínica. De esta forma, las pruebas con base genómica permiten hoy en día calcular el riesgo personalizado de una paciente a presentar una recaída o a presentar metástasis en una ventana de 5 años con una alta confiabilidad. De hecho el cáncer de mama representa uno de los ejemplos representativos del impacto de la genómica en el desarrollo de una atención médica más personalizada y basada en las alteraciones genéticas presentes en el tumor de cada paciente³.

Susceptibilidad Y Riesgo Genético En Cáncer De Mama

Estudios epidemiológicos y en parejas de gemelos monocigóticos indican que el componente genético juega un papel muy relevante en la susceptibilidad para padecer cáncer de mama⁴. En la década de los 90s, usando metodologías de clonaje posicional, se descubrieron variaciones en los genes *BRCA1* y *BRCA2*, que confieren a los portadores un riesgo de padecer cáncer de mama de 10 a 30 veces mayor que a la población general^{5,6}. Por otro lado, también se han identificado otras mutaciones de alta penetrancia en genes

como *TP53* y *PTEN*, ambos involucrados en síndromes hereditarios que en su presentación incluyen el cáncer de mama^{7,8}.

Sin embargo, estos alelos de alta penetrancia tienen una frecuencia muy baja (0.1% en el caso de *BRCA1* y 2). De hecho, la combinación de estos alelos de riesgo de alta penetrancia solamente son responsables de aproximadamente 20% del componente genético del riesgo total para el cáncer de mama⁹.

Otro grupo de genes de riesgo y penetrancia moderados, fue identificado mediante estrategias de resecuenciación de genes candidato. Esta aproximación se basa en seleccionar genes con base en el conocimiento previo de la biología de la enfermedad. En este caso, se seleccionaron genes que interactúan con *BRCA1* y *BRCA2* en procesos de reparación de DNA. De esta forma se identificaron alelos poco frecuentes en *ATM*¹⁰, *CHEK2*¹¹, *PALB2*¹² y *BRIP1*¹³ que contribuye aproximadamente al 5% del componente genético de riesgo.

A pesar de una búsqueda extensiva, no ha sido posible encontrar otros genes de susceptibilidad a cáncer de mama. Tomando los resultados previamente descritos, la combinación de los genes de penetrancia y riesgo alto e intermedio únicamente se puede explicar menos del 30% del total de riesgo genético para la enfermedad. Esta situación, como en el caso de la mayoría de las enfermedades complejas, ha llevado a la hipótesis de que el riesgo restante (70%) puede deberse a la suma de una gran cantidad de alelos, cada uno de ellos contribuyendo con riesgos moderados o bajos al riesgo total de desarrollar la enfermedad.

Los estudios de asociación, ya sea con genes candidato o de genoma completo, analizan una gran cantidad de variaciones genéticas comunes en paralelo, con la finalidad de identificar variantes específicas que se encuentren enriquecidas significativamente en los casos enfermos que en los controles sanos. El abordaje de estudio de asociación con genes candidato ha identificado diversos marcadores en cáncer de mama, sin embargo, el único que ha podido ser replicado en diversas poblaciones de forma convincente es un SNP

(polimorfismo de un solo nucleotido) en el gen *CASP8*, el cual se asocia con una reducción moderada del riesgo de padecer cáncer de mama¹⁴.

Hasta hace muy poco, no se contaba con las herramientas tecnológicas necesarias para llevar a cabo un análisis de asociación entre una gran cantidad de variantes genéticas comunes distribuidas a lo largo de todo el genoma y enfermedades complejas. Gracias al desarrollo de mapas de desequilibrio de ligamiento en el genoma humano y a la disponibilidad de metodologías de genotipificación masiva en paralelo, es posible llevar a cabo estudios de asociación de genoma completo en enfermedades comunes¹⁵.

Los estudios de asociación de genoma completo han permitido identificar el tercer grupo de genes de susceptibilidad a cáncer de mama. Las variaciones en estos genes elevan de forma discreta el riesgo, pero su frecuencia es alta entre la población.

A la fecha se han llevado a cabo 6 estudios de asociación de genoma completo en cáncer de mama, principalmente se ha analizado población caucásica y en un caso población asiática¹⁶⁻²². Estos estudios han identificado 11 variantes genéticas comunes de baja penetrancia asociadas al riesgo de cáncer de mama. A pesar de que estas variantes presentan una baja penetrancia, debido al diseño experimental de estos estudios hace que la asociación estadística sea altamente significativa, además de que estas 11 variantes han sido las que han sido validadas de una forma mas convincente en trabajos posteriores.

La señal de asociación mas fuerte que se ha detectado está localizada en la región 10q26, en el gen *FGFR2* (SNPs rs2981582 y rs1219648), seguidos por variantes en 16q12 (*TNRC9/LOC643714*), 3p24 (*NEK10/SLC4A7*), 5q12 (*MAP3K1/MGC33648/MIER3*), 6q25 (*ESR1*), 2q35 (*TNP1/IGFBP5/IGFBP2/TNS1*), 8q24 (*FAM84B/c-MYC*), 5p12 (*MRPS30/FGFR10*), 11p15 (*LSP1/H19*), 17q22 (*COX11/STXBP4/TOM1L1*) y 10p14 (*CASP8*).

El papel biológico de estas variantes en el proceso de la carcinogénesis mamaria es actualmente un área de investigación activa y la variantes podrían estar afectando diversos procesos, principalmente la tasa de expresión de los genes involucrados. Para obtener un

panorama más amplio de el estado actual de la identificación de genes asociados al riesgo genético a padecer cáncer de mama consultar la referencia²³.

Perfiles De Expresión De RNA Mensajero Y Clasificación De Los Tumores De Mama

Una de las principales contribuciones del análisis genómico al conocimiento de la biología de los tumores de mama ha sido la definición de subgrupos moleculares basados en perfiles de expresión de RNA mensajero. Los perfiles moleculares han permitido identificar al menos cinco subtipos tumorales en cáncer de mama, cada uno de ellos con características biológicas y clínicas particulares. Los subgrupos identificados son: el grupo *ERBB2* positivo, los cuales presentan una mejor respuesta a quimioterapia y cerca del 50% responde a tratamiento con Trastuzumab. El grupo “Parecido a normal”, negativos a receptor de estrógenos, el grupo “Basal” que expresa queratinas 5 y 17, y son negativos a receptor de estrógenos y a amplificación de *ERBB2*, es decir, son triple negativos. Este subtipo tiene el pronóstico clínico más sombrío y el el grupo “Luminal” se caracteriza por la expresión de genes de células epiteliales del lumen de los conductos mamarios, incluyendo al receptor de estrógenos. Son tumores *ERBB2* negativos y suelen tener la mejor tasa de sobrevivencia²⁴.

Más importante que lo anterior, la correlación entre variables clínicas, tiempo libre de metástasis y tiempo de sobrevida en general, y perfiles de expresión, ha permitido identificar perfiles de expresión que pueden ser usados como herramientas de predicción de curso clínico. Así, los subtipos *ERBB2* y el basal parecen asociarse a una menor sobrevida. Asimismo, los tumores de los subgrupos Luminal B y Luminal C se identificaron como entidades clínicas diferentes con un curso más agresivo, particularmente en lo relacionado a la reincidencia del tumor²⁵.

Por otro lado, a través de una estrategia de clasificación supervisada, se identificó un patrón de 70 genes que resultó altamente predictivo para el desarrollo de metástasis distante en un período de cinco años en pacientes sin evidencia de metástasis linfática regional. Este trabajo demuestra la utilidad de las firmas moleculares para detectar patrones de expresión que tiene un mayor valor predictivo que los parámetros clínicos tradicionales, además de

que permite identificar a los pacientes que se beneficiarán mayormente de tratamiento adyuvante analizando tumores primarios de pacientes jóvenes en estadios I y II (menores a 53 años)^{26,27}.

Además de la utilidad predictiva, la estratificación basada en patrones de expresión se correlaciona con la respuesta a quimioterapia pre-operatoria. Así, a través del análisis de tejido obtenido de biopsias por aspirado de aguja fina, se determinó que los subtipos parecido a basal y *ERBB2* son más sensibles al tratamiento pre-operatorio con paclitaxel y doxorubicina que los que presentan los patrones parecido a normal y luminal²⁸.

Debido a que se han usado diferentes plataformas de microarreglos para definir los perfiles de riesgo, se han llevado a cabo estudios que comparan diferentes patrones para evaluar su utilidad clínicos. En un trabajo se compararon cinco patrones: a) El modelo de progresión basado en 70 genes (MammaPrint™)^{26,27}; b) modelo de respuesta a heridas^{29,30}; c) puntaje de recurrencia (OncotypeDX™)^{31,32}; d) modelo de subtipos intrínsecos (luminal A, luminal B, ERBB, receptor de estrógenos negativo, basal y parecido a normal)^{33,34}; y, d) modelo de tasa de expresión de dos genes (relación de tasa de expresión entre *HOXB13* e *IL17BR*).

Los resultados indican que la mayoría de los modelos presentan niveles altos de concordancia en cuanto a su capacidad de predicción clínica en muestras individuales. Casi todos los tumores que se identificaron como Basales, ERBB2-negativos a receptor de estrógenos o Luminares B también fueron clasificados en el grupo de mal pronóstico mediante los modelos de 70 genes, activación de respuesta a heridas y un alto puntaje de recurrencia. El patrón de 70 genes y el modelo de puntaje de recurrencia concordaron en la clasificación de desenlace clínico en un 77 – 81% de los casos, lo cual resulta relevante, dado que estas pruebas se aplican ya en el ámbito clínico, a través de estudios clínicos como el MINDACT³⁵ y el TAYLORx³⁶.

Perfiles De Expresión De MicroRNAs Y Cáncer De Mama.

Los estudios de expresión diferencial de miRNAs han permitido generar firmas moleculares capaces de discriminar al tejido mamario sano del tumoral con una exactitud del 100% con tan sólo 29 transcritos; entre los se encuentran: *miR-10b*, *miR-125b*, *miR-145* y *miR-451* que se están subexpresados y *miR-21* y *miR-155* están sobreexpresados^{37,38}. Algunos de los blancos predichos para estos miRNAs son el supresor tumoral *TGFβ* silenciando por *miR-21*; *SOCS1*, *APC* y *FLT1* regulado por *miR-15*, mientras que los miRNA subexpresados tienen como blancos diversos oncogenes como lo es el factor de crecimiento *BDNF* y el factor de transducción *SHC1* para *miR-10*, *YES*, *ETS1*, *TEL* y *AKT3* para *miR-125b* y *MYCN*, *FOS*, *MAP3K10*, *MAP3K11* y *MAPK14* para *miR-145*^{37,39}.

Debido a que la expresión de receptores hormonales y la proteína HER2 son marcadores biológicos para determinar el diagnóstico del tipo tumoral, su correlación con la expresión de miRNAs específicos es de fundamental importancia. Asimismo, diversos reportes concluyen que la expresión de ciertos miRNAs se relacionan con subtipos tumorales definidos por perfiles de expresión de RNA mensajero (Luminal A, luminal B, basal, parecido a normal y HER 2+) y con cursos clínicos específicos, por lo que podrían emplearse como biomarcadores para el diagnóstico de las diferentes neoplasias mamarias y para la prognosis de estos tumores^{40,41}.

Entre los microRNAs que se han identificado con diferencias en su tasa de transcripción en tumores de mama tenemos a *let-7*, que está diferencialmente expresado entre los subtipos tumorales definidos por perfiles de expresión de RNA mensajero. *Let-7* se encuentra submodulado en cáncer de mama, teniendo una menor expresión en tumores metastáticos con altos índices de proliferación, sugiriendo que los bajos niveles de expresión de *let-7* están asociados con mala prognosis³⁷. El *miR9-3* está subregulado en cáncer de mama invasivo altamente vascularizado o con presencia de metástasis en ganglios³⁸, lo que sugiere que la pérdida de expresión de este miRNA podría estar relacionada con la adquisición de la capacidad metastásica. En cuanto a microRNAs asociados a la expresión de receptores estrogénicos, destaca *miR-206* el cual esta sobre-expresado en tumores

negativos a receptor de estrógenos (RE- α)^{42,43}. En lo que se refiere a las diferencias entre los subtipos luminal y basal, los perfiles de expresión de los miRNAs *miR-141*, *miR-200c*, *miR-183*, *miR-221* y *miR-222* permiten diferenciar ambos subtipos de tumor³⁹.

Otro de los cambios que se han observado en los tumores es la expresión de las enzimas que participan en la biogénesis de los miRNA. Dicer esta subexpresado en los tipos tumorales más agresivos: Basal, Her 2+ y luminal B y se ha relacionado con una mayor capacidad de invasión, por otro lado *AGO2* se sobre-expresa en estos mismos subtipos tumorales⁴⁰.

¿Papel De Los MicroRNAs En El Cáncer De Mama Metastásico.

La metástasis es un proceso común en el cáncer y en cierto modo está mediado por la expresión de miRNAs pues estos actúan como promotores de la progresión maligna o bien como reguladores de la proliferación de las células cancerígenas⁴⁴. Uno de los modelos mejor estudiados en el cáncer de mama metastásico es el de *miR-10b* que se encuentra sobreexpresado en células tumorales mamarias metastásicas, regulando positivamente la migración celular y la invasión; al inducir la transcripción del factor *Twist* que a su vez inhibe la transcripción del RNAm del gen homeótico *HOX-D10* el cual forma parte de la ruta supresora de tumor de *RHOC*, elevando los niveles de genes pro metastáticos. De esta forma, los niveles de *miR-10b* en los tumores primarios se pueden con una progresión clínica mas agresiva^{44,45}.

Existen otros miRNAs que naturalmente inhiben la invasión tumoral y la metástasis, como *miR-335*, *miR-206* y *miR-126*, los cuales de forma silvestre actúan como supresores tumorales. En cáncer de mama se encuentran subexpresados, lo que trae como consecuencia la promoción de la metástasis a pulmón y hueso^{45,46}.

Los perfiles de expresión de microRNAs también muestran una estrecha correlación con el estadio y el curso clínico en tumores de mama, por lo que podrían ser utilizados como predictores del desenlace clínico y como herramientas para la elección del tratamiento^{47,48}. Los miRNAs son también un blanco terapéutico factible, un ejemplo claro de este tipo de

aplicaciones es el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para obtener una mejor respuesta al tratamiento de cáncer de mama con Trastuzumab al inhibir a *miR-221* y *miR-222* los cuales se han implicado en la regulación de ciclo celular mediada por la vía de *ERBB2*³⁸.

Análisis De Aberraciones En El Número De Copias De DNA En Cáncer de Mama

Los primeros reportes de aberraciones en el número de copias de DNA en tumores mamarios utilizaron se basaron en la descripción de cariotipos obtenidas a partir de células de efusiones de pacientes con cáncer de mama mediante bandeó G, C y Q.

En diversos estudios se detectaron alteraciones numéricas y estructurales características que involucran el brazo largo del cromosoma 1, los cromosomas 4, 5, 7, 14, 15 y X, así como el brazo corto del cromosoma 16^{49,50}, la translocación **1qter-q21** y pérdida de heterocigocidad, tanto en líneas celulares como en tumores primarios y metastáticos⁵¹⁻⁵³. Otras alteraciones importantes también involucran la pérdida de 3p12-p14 como un evento temprano en la formación del tumor de mama^{54,55}. Mediante hibridación *in situ* fluorescente, usando sondas específicas pericentroméricas de los cromosomas 1 y 17 en células en interfase, se asoció la presencia de alteraciones numéricas en estos cromosomas con la capacidad metastática de tumores mamarios⁵⁶.

Las metodologías de citogenética molecular, como la hibridación Genómica comparativa (CGH) sobre metafases, permite llevar a cabo un análisis más detallado de las alteraciones en el número de copias de DNA en cáncer de mama. El primer estudio de este tipo analizo tumores primarios y líneas celulares, identificando como alteraciones más prevalentes las amplificaciones en 8q24, 11q13, 17q22-q24 y 20q13, así como ganancias de los brazos cromosómicos 1q, 8q y 20q^{57,58}. Sin embargo, la limitada resolución del método de CGH sobre metafases complicaba la identificación de genes específicos involucrados en las alteraciones en el número de copias de DNA.

El análisis de tumores de mama con distintas variedades de microarreglos, ha permitido la identificación mas exacta de alteraciones citogenéticas en este tumor. Se han llevado a cabo

estudios de CGH en microarreglos de cromosomas artificiales de bacterias (BACs), con una resolución máxima de 1 Mb⁵⁹⁻⁶¹, microarreglos de cDNA^{62,63} y microarreglos de oligonucleotidos (40-50 Kbs de resolución)⁶⁴. Estos estudios han identificado regiones específicas de amplificaciones en 8q11, 1q21, 17q11, y 11q13, así como deleciones en segmentos que contienen genes supresores de tumor conocidos, como PTEN y CDKN2A.

Recientemente se han desarrollado microarreglos de alta densidad, diseñados inicialmente para genotipificación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP arrays)⁶⁵. Evaluando la intensidad de fluorescencia de cada sonda de genotipificación es posible determinar, además del genotipo, el número de copias de DNA de esa sonda particular en una muestra. Las primeras aplicaciones de este método se llevaron a cabo usando microarreglos que contienen 10,000 (10K) sondas a lo largo del genoma, con una distancia media entre cada marcador de 258 Kb⁶⁶. En un periodo de cuatro años, esta plataforma ha evolucionado desde los microarreglos 10K, pasando por 100K⁶⁷ (distancia promedio entre SNPs: 26 Kb), 500K (dist. Promedio: 5.8 Kb)⁶⁸ y a principios del año 2008, se lanzó al mercado el microarreglo de última generación, SNP 6.0, que contiene más de 1,800,000 marcadores genéticos a lo largo de todo el genoma⁶⁹. Los microarreglos de SNPs han detectado anormales citogenéticas en cáncer de mama: amplificaciones en los cromosomas 11q13–14.1, 17q y 20q que contienen ciclinas N, D1, los genes *BCAS1* y *BCAS3*; pérdidas de los cromosomas 6q, 9p y X, las cuales incluyen al receptor de estrógenos y al gen *p16INK4A*⁷⁰.

Alteraciones De Número De Copias En Tumores Positivos para Receptores De Estrógenos

Los tumores positivos a receptor de estrógenos son patológica y biológicamente muy diferentes a los negativos. La variación que existe en el cromosoma 8q región es un sitio muy conocido de amplificación de DNA asociada con mal pronóstico en el cáncer de mama. Esta región está amplificada en los tumores RE positivos, pero no en RE negativos. Otra diferencia entre los dos tipos de tumores es la alteración en la región 20q13.2-13.3. En los tumores RE positivos la región se encuentra amplificada, mientras que en los tumores ER-negativos esta región sufre pérdida de DNA. Se ha identificado diferencias en

las alteraciones en el número de copias de 81 genes entre tumores RE positivos y negativos, lo que sugiere que los tumores RE positivos y negativos podrían seguir diferentes vías biológicas para su desarrollo y progresión⁷¹.

Alteraciones de número de copias en tumores triple negativos

Los tumores triple negativos se caracterizan por la ausencia de expresión de receptores hormonales (estrógenos y progesterona), así como de HER2, y constituyen cerca del 15% del total de los tumores de mama³. Se caracteriza por un curso clínico agresivo, epitelio maligno de mama mesenquimal, sarcomatoide y metaplasia escamosa. La ausencia de la expresión de receptores hormonales y de HER2/Neu hace que los tumores triples negativos no sean susceptibles de tratarse con terapia hormonal o con hereceptina. Estos tumores presentan una mayor sensibilidad a tratamientos neoadjuvantes basados antraciclinas que los otros tipos tumorales. Su asociación con un mal pronóstico se debe a la alta tasa de recaídas en pacientes con enfermedad residual que no alcanzan respuesta patológica completa por lo que representan un dilema terapéutico para los oncólogos⁷².

Se han identificado alteraciones específicas en el número de copias en los tumores triple negativos, como amplificaciones en 9p24-p21, 10p15-p13, 12p13, 13q31.q34, 18q12, 18q21-q23 y 21q22⁷³. ***Farmacogenómica Y Cáncer De Mama***

Las terapias farmacológicas adyuvantes en el tratamiento de cáncer de mama varían de acuerdo al estadio y tipo de enfermedad de las pacientes.

Por ejemplo, las terapias de modulación endócrina son las de elección para pacientes cursando etapas tempranas de la enfermedad, donde se ha identificado la sobreexpresión de receptores a estrógenos (ER) y/o progesterona^{1,2}.

Por su parte, para etapas avanzadas la quimioterapia sistémica con fármacos como las antraciclinas, los agentes alquilantes y los taxanos son la opción para el manejo de recaídas y para evitar la metástasis¹.

Desafortunadamente, la respuesta de las pacientes al tratamiento es muy heterogénea, observándose desde pacientes con una excelente respuesta y mejora en la supervivencia, hasta graves efectos de toxicidad y/o un nulo efecto de la terapia⁷⁴.

Esta variabilidad en la respuesta y los estrechos índices terapéuticos de los fármacos anticancerígenos, son un obstáculo para la implementación de terapias efectivas^{4,5}.

Es necesario tener conocimientos más específicos sobre todos aquellos factores que influyen en la respuesta al tratamiento, los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos y todos los efectos biológicos entre los que la genética juega un papel fundamental^{4,6}.

La farmacogenómica podría convertirse en una herramienta fundamental para establecer esquemas de dosificación menos rígidos, más individualizados y posiblemente con una mayor eficacia terapéutica.

La farmacogenómica se ha convertido en una especialidad científica de gran relevancia para el tratamiento de pacientes con cáncer de mama, ya que puede ser un factor a considerar para la selección de la terapia más efectiva. Tan importante resulta que existe un Consorcio Internacional de Farmacogenómica de Cáncer de Mama (COBRA Consortium) cuyo objetivo principal ha sido la identificación de variables genéticas asociadas a la eficacia y toxicidad de los tratamientos endocrinos para el cáncer de mama^{3,7-9}.

Los tratamientos de modulación para receptor de estrógenos son de los más estudiados, ya que se ha demostrado su efectividad para disminuir la recurrencia y la muerte en pacientes en etapas tempranas de la enfermedad. Consecuentemente, la farmacogenómica de moléculas como el tamoxifen resultan muy relevantes.^{9,10}

Farmacogenómica De Tratamientos Moduladores Del Receptor De Estrógenos

Tamoxifen

Uno de los ejemplos más evidentes de la importancia de la farmacogenómica en el tratamiento de cáncer de mama, es el relacionado al metabolismo del tamoxifen. Esta molécula es el fármaco más utilizado en los Estados Unidos para el tratamiento de cáncer de mama desde su aprobación en 1986 por la FDA. Este fármaco se utiliza principalmente como terapia adyuvante para mujeres posmenopáusicas y receptor de estrógenos positivas a quienes se les realiza un diagnóstico temprano de la enfermedad. Se ha reportado que la utilización de tamoxifen como terapia adyuvante por al menos 5 años, reduce el índice de mortalidad anual debida a cáncer de mama en un 31%

Los metabolitos del tamoxifen tienen una afinidad 100 veces mayor por el receptor de estrógeno en comparación con la molécula primaria. Por lo tanto, la eficiencia del tratamiento depende en gran medida, del metabolismo primario del tamoxifen.

Para que estos metabolitos activos se generen, el tamoxifen se metaboliza y sufre 2 reacciones importantes:

- Desmetilación. La N-desmetilación del tamoxifen es catalizada principalmente por el CYP3A4, CYP3A5, y CYP2D6. Esta reacción es muy importante para que la molécula demetilada sufra una hidroxilación y se forme el metabolito con mayor actividad clínica, el endoxifen¹¹.
- Hidroxilación. La hidroxilación del n-desmetiltamoxifen para generar el endoxifen es una reacción catalizada por el CYP2D6.

Otro metabolito, el 4-hidroxitamoxifen, también se forma por la reacción de hidroxilación, pero esta hidroxilación directa están catalizada principalmente por CYP2B6, CYP2D6 y CYP3A4.

De acuerdo a lo anterior, podemos observar que el metabolismo del tamoxifen está controlado principalmente por las enzimas hepáticas de la familia del citocromo P450

(CYP). De esta superfamilia de proteínas, de la isoforma CYP2D6 es de quién se cuenta con una mayor cantidad de información sobre su variabilidad genética a nivel poblacional.

El CYP2D6 tiene su locus en el cromosoma 22 y se han reportado más de 100 alelos diferentes de los cuales al menos 15 codifican para productos no funcionales (CYP2D6*3A, CYP2D6*4, CYP2D6*5, CYP2D6*7, CYP2D6*8, CYP2D6*11, CYP2D6*12, CYP2D6*13, CYP2D6*14, CYP2D6*18, CYP2D6*19, CYP2D6*20, CYP2D6*21, CYP2D6*33, CYP2D6*35). Todos aquellos individuos que son homocigotos a estos alelos son generalmente metabolizadores deficientes¹²⁻¹⁴.

El CYP2D6*1 es la variante silvestre y corresponde a quienes metabolizan de forma normal. El CYP2D6*10 corresponde a metabolizadores intermedios y el CYP2D6 a metabolizadores ultrarápidos.

Estas variantes alélicas, además de ser numerosas, tienen diferencias significativas en relación a la frecuencia de los fenotipos funcionales en individuos con diferencias étnicas.

Por ejemplo, el CYP2D6*10, es un alelo de alta prevalencia en la población asiática y se ha demostrado una menor concentración del 4-hidroxitamoxifen en suero y por tanto una pobre respuesta al tratamiento adyuvante con tamoxifen^{15,16}. Sin embargo, en pacientes caucásicas este genotipo no parece tener relación alguna con la efectividad de la terapia¹¹. Así mismo, se ha observado que la presencia de alelos de actividad nula como CYP2D6*4 está asociado a un riesgo hasta 4 veces mayor de recurrencia en comparación que pacientes homocigotos para el alelo silvestre. Este alelo tiene una frecuencia de hasta un 30% en caucásicos, 6% en asiáticos, mientras que en africanos y árabes-saudis es sólo del 1-4%^{7,12}. En población mexicana-americana se ha reportado una frecuencia de aproximadamente el 10% para el alelo *4 (de actividad nula)⁷⁵.

Para otras isoenzimas de la familia de los citocromos, los polimorfismos en CYP2C19, CYP2C9 y CYP2B6 también tiene importancia en el metabolismo del tamoxifen. El alelo CYP2C19*17 se ha asociado a una fenotipo de metabolizador ultra rápido. Se han observado que las pacientes homocigotas a este alelo presentan una menor recurrencia,

lapso libre de recaídas más amplio y una mayor índice de supervivencia que las pacientes que no presentan esta variante^{9,18}.

A pesar de los diversos estudios que evidencian la influencia de las variantes del CYP2D6 en el metabolismo del tamoxifen, la evidencia resulta confusa. Por tanto, se ha establecido un Consorcio Internacional de Farmacogenómica de Tamoxifen, cuyo objetivo es recolectar y analizar la mayor cantidad de datos relacionados a la presencia de variantes alélicas en los genes relacionados al metabolismo de este fármaco tan importante⁷⁶.

Taxanos

El paclitaxel se utiliza para el tratamiento de carcinoma de mama avanzado, recurrente o refractarios al tratamiento convencional y su mecanismo de acción está relacionado al arresto de la división celular e inducción de apoptosis².

Este fármaco tiene un índice terapéutico muy limitado, por lo que el encontrar la dosis terapéutica óptima para cada individuo, resulta fundamental para evitar efectos tóxicos. El metabolismo de eliminación de este fármaco está regulado por las isoformas de citocromo P450 :CYP2C8, CYP3A4, y CYP3A5. Así mismo, la glicoproteína p que es el producto del gen ABCB1 es importante en el mecanismo de eliminación del fármaco y se ha observado que la variabilidad interindividual en este gen, podría estar relacionado con las diferencias en la toxicidad¹⁹. Polimorfismos en el gen ABCB1, específicamente la variante G1199T/A y G2677T/A tienen una mejor respuesta y mayor lapso de supervivencia al ser tratados con paclitaxel¹⁵

En pacientes caucásicas se detectó que la presencia del alelo CYP1B1*3 está asociado a un incremento en la actividad hidroxilante sobre el estrógeno. Esto podría incrementar el metabolismo de paclitaxel provocando una menor concentración del fármaco reduciendo su disponibilidad para ejercer el efecto deseado⁷⁷.

Ciclofosfamidias

A pesar de que las ciclofosfamidias son de los fármacos más utilizados para la terapia de cáncer de mama, existen pocos estudios que correlacionen la variabilidad en los genes del metabolismo con la efectividad clínica de la molécula⁷⁸.

Un estudio reciente en 85 pacientes con cáncer de mama determinó que aquellos individuos con los alelos CYP3A4*1B y CYP3A5*1 son metabolizadores pobres para las ciclofosfamidias, mientras que un estudio en pacientes japoneses demostró que la presencia del alelo CYP2B6*6 está relacionado a un incremento en la eliminación y una menor vida media de la ciclofosfamida, lo que implica un menor efecto terapéutico²¹.

Es evidente que la variabilidad genética de las pacientes con cáncer de mama definirá la eficacia y toxicidad de cualquier tratamiento.

El desarrollo de herramientas para el análisis genómico ha hecho que los estudios farmacogenómicos resulten una realidad inmediata. Hoy, contamos con diversas plataformas tecnológicas que permiten el análisis de la mayoría de los genes relacionados al metabolismo de fármacos (Microarreglo DMET de Affymetrix, ADME Veracode de Illumina) en un solo ensayo. Estas herramientas permitirán conocer el genotipo relacionado al metabolismo de fármacos de los pacientes de una forma eficaz. Esta información permitirá diseñar terapias individualizadas que sean más seguras para las pacientes y que finalmente tengan la mejor efectividad en el tratamiento de la enfermedad.

Referencias

1. WHO. World Health Organization Fact Sheet. *WHO, Cancer* (2008).
2. Stratton, M.R., Campbell, P.J. & Futreal, P.A. The cancer genome. *Nature* **458**, 719-24 (2009).
3. Hidalgo-Miranda, A. Bases genómicas del cáncer de mama: avances hacia la medicina personalizada. *Salud Publica de Mexico* **51**, 197-207 (2009).
4. Hemminki, K. & Vaittinen, P. Familial breast cancer in the family-cancer database. *Int J Cancer* **77**, 386-91 (1998).
5. Miki, Y. et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* **266**, 66-71 (1994).
6. Wooster, R. et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* **378**, 789-92 (1995).
7. Malkin, D. et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* **250**, 1233-8 (1990).
8. Nelen, M.R. et al. Localization of the gene for Cowden disease to chromosome 10q22-23. *Nat Genet* **13**, 114-6 (1996).
9. Milne, R.L. et al. The average cumulative risks of breast and ovarian cancer for carriers of mutations in BRCA1 and BRCA2 attending genetic counseling units in Spain. *Clin Cancer Res* **14**, 2861-9 (2008).
10. Renwick, A. et al. ATM mutations that cause ataxia-telangiectasia are breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet* **38**, 873-5 (2006).
11. Meijers-Heijboer, H. et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations. *Nat Genet* **31**, 55-9 (2002).
12. Rahman, N. et al. PALB2, which encodes a BRCA2-interacting protein, is a breast cancer susceptibility gene. *Nat Genet* **39**, 165-7 (2007).
13. Seal, S. et al. Truncating mutations in the Fanconi anemia J gene BRIP1 are low-penetrance breast cancer susceptibility alleles. *Nat Genet* **38**, 1239-41 (2006).
14. Cox, A. et al. A common coding variant in CASP8 is associated with breast cancer risk. *Nat Genet* **39**, 352-8 (2007).
15. Risch, N. & Merikangas, K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* **273**, 1516-7 (1996).
16. Easton, D.F. et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* **447**, 1087-93 (2007).
17. Gold, B. et al. Genome-wide association study provides evidence for a breast cancer risk locus at 6q22.33. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**, 4340-5 (2008).
18. Hunter, D.J. et al. A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer. *Nat Genet* **39**, 870-4 (2007).

19. Stacey, S.N. et al. Common variants on chromosomes 2q35 and 16q12 confer susceptibility to estrogen receptor-positive breast cancer. *Nat Genet* **39**, 865-9 (2007).
20. Stacey, S.N. et al. Common variants on chromosome 5p12 confer susceptibility to estrogen receptor-positive breast cancer. *Nat Genet* **40**, 703-6 (2008).
21. Ahmed, S. et al. Newly discovered breast cancer susceptibility loci on 3p24 and 17q23.2. *Nat Genet* **41**, 585-90 (2009).
22. Zheng, W. et al. Genome-wide association study identifies a new breast cancer susceptibility locus at 6q25.1. *Nat Genet* **41**, 324-8 (2009).
23. Ghoussaini, M. & Pharoah, P.D. Polygenic susceptibility to breast cancer: current state-of-the-art. *Future Oncol* **5**, 689-701 (2009).
24. Perou, C.M. et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* **406**, 747-52 (2000).
25. Sørlie, T. et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**, 10869-74 (2001).
26. van 't Veer, L.J. et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* **415**, 530-6 (2002).
27. van de Vijver, M.J. et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* **347**, 1999-2009 (2002).
28. Rouzier, R. et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res* **11**, 5678-85 (2005).
29. Chang, H.Y. et al. Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 3738-43 (2005).
30. Chang, H.Y. et al. Gene expression signature of fibroblast serum response predicts human cancer progression: similarities between tumors and wounds. *PLoS Biol* **2**, E7 (2004).
31. Paik, S. et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med* **351**, 2817-26 (2004).
32. Paik, S. et al. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* **24**, 3726-34 (2006).
33. Sørlie, T. et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**, 8418-23 (2003).
34. Perou, C.M. et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* **406**, 747-52 (2000).
35. Cardoso, F. et al. Clinical application of the 70-gene profile: the MINDACT trial. *J Clin Oncol* **26**, 729-35 (2008).

36. Rayhanabad, J.A., Difronzo, L.A., Haigh, P.I. & Romero, L. Changing paradigms in breast cancer management: introducing molecular genetics into the treatment algorithm. *Am Surg* **74**, 887-90 (2008).
37. Iorio, M.V., Casalini, P., Tagliabue, E., Menard, S. & Croce, C.M. MicroRNA profiling as a tool to understand prognosis, therapy response and resistance in breast cancer. *Eur J Cancer* **44**, 2753-9 (2008).
38. Iorio, M.V. et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* **65**, 7065-70 (2005).
39. Sempere, L.F. et al. Altered MicroRNA expression confined to specific epithelial cell subpopulations in breast cancer. *Cancer Res* **67**, 11612-20 (2007).
40. Blenkiron, C. & Miska, E.A. miRNAs in cancer: approaches, aetiology, diagnostics and therapy. *Hum Mol Genet* **16 Spec No 1**, R106-13 (2007).
41. Mattie, M.D. et al. Optimized high-throughput microRNA expression profiling provides novel biomarker assessment of clinical prostate and breast cancer biopsies. *Mol Cancer* **5**, 24 (2006).
42. Adams, B.D., Cowee, D.M. & White, B.A. The role of miR-206 in the epidermal growth factor (EGF) induced repression of estrogen receptor-alpha (ERalpha) signaling and a luminal phenotype in MCF-7 breast cancer cells. *Mol Endocrinol* **23**, 1215-30 (2009).
43. Adams, B.D., Furneaux, H. & White, B.A. The micro-ribonucleic acid (miRNA) miR-206 targets the human estrogen receptor-alpha (ERalpha) and represses ERalpha messenger RNA and protein expression in breast cancer cell lines. *Mol Endocrinol* **21**, 1132-47 (2007).
44. Ma, L., Teruya-Feldstein, J. & Weinberg, R.A. Tumour invasion and metastasis initiated by microRNA-10b in breast cancer. *Nature* **449**, 682-8 (2007).
45. Negrini, M. & Calin, G.A. Breast cancer metastasis: a microRNA story. *Breast Cancer Res* **10**, 203 (2008).
46. Tavazoie, S.F. et al. Endogenous human microRNAs that suppress breast cancer metastasis. *Nature* **451**, 147-52 (2008).
47. Lu, J. et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* **435**, 834-8 (2005).
48. Salter, K.H. et al. An integrated approach to the prediction of chemotherapeutic response in patients with breast cancer. *PLoS One* **3**, e1908 (2008).
49. Kakati, S., Hayata, I. & Sandberg, A.A. Chromosomes and causation of human cancer and leukemia. XIV. Origin of a large number of markers in a cancer. *Cancer* **37**, 776-82 (1976).
50. Ayraud, N., Lambert, J.C., Hufferman-Tribollet, K. & Basteris, B. [Comparative cytogenetic study of 7 types of mammary cancer]. *Ann Genet* **20**, 171-7 (1977).

51. Rodgers, C.S., Hill, S.M. & Hulten, M.A. Cytogenetic analysis in human breast carcinoma. I. Nine cases in the diploid range investigated using direct preparations. *Cancer Genet Cytogenet* **13**, 95-119 (1984).
52. Cruciger, Q.V., Pathak, S. & Cailleau, R. Human breast carcinomas: marker chromosomes involving 1q in seven cases. *Cytogenet Cell Genet* **17**, 231-5 (1976).
53. Chen, L.C., Dollbaum, C. & Smith, H.S. Loss of heterozygosity on chromosome 1q in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**, 7204-7 (1989).
54. Pandis, N. et al. Chromosome analysis of 20 breast carcinomas: cytogenetic multiclonaity and karyotypic-pathologic correlations. *Genes Chromosomes Cancer* **6**, 51-7 (1993).
55. Pandis, N. et al. Interstitial deletion of the short arm of chromosome 3 as a primary chromosome abnormality in carcinomas of the breast. *Genes Chromosomes Cancer* **6**, 151-5 (1993).
56. Herrington, C.S., Leek, R.D. & McGee, J.O. Correlation of numerical chromosome 11 and 17 imbalance with metastasis of primary breast cancer to lymph nodes. *J Pathol* **176**, 353-9 (1995).
57. Gray, J.W. et al. Molecular cytogenetics of human breast cancer. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* **59**, 645-52 (1994).
58. Kallioniemi, A. et al. Detection and mapping of amplified DNA sequences in breast cancer by comparative genomic hybridization. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 2156-60 (1994).
59. Chin, S.F. et al. Using array-comparative genomic hybridization to define molecular portraits of primary breast cancers. *Oncogene* **26**, 1959-70 (2007).
60. Han, W. et al. Genomic alterations identified by array comparative genomic hybridization as prognostic markers in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *BMC Cancer* **6**, 92 (2006).
61. Naylor, T.L. et al. High resolution genomic analysis of sporadic breast cancer using array-based comparative genomic hybridization. *Breast Cancer Res* **7**, R1186-98 (2005).
62. Pollack, J.R. et al. Microarray analysis reveals a major direct role of DNA copy number alteration in the transcriptional program of human breast tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**, 12963-8 (2002).
63. Bergamaschi, A. et al. Distinct patterns of DNA copy number alteration are associated with different clinicopathological features and gene-expression subtypes of breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* **45**, 1033-40 (2006).
64. Chin, K. et al. Genomic and transcriptional aberrations linked to breast cancer pathophysiology. *Cancer Cell* **10**, 529-41 (2006).

65. Brennan, C. et al. High-resolution global profiling of genomic alterations with long oligonucleotide microarray. *Cancer Res* **64**, 4744-8 (2004).
66. Zhao, X. et al. An integrated view of copy number and allelic alterations in the cancer genome using single nucleotide polymorphism arrays. *Cancer Res* **64**, 3060-71 (2004).
67. Matsuzaki, H. et al. Genotyping over 100,000 SNPs on a pair of oligonucleotide arrays. *Nat Methods* **1**, 109-11 (2004).
68. Jacobs, S. et al. Genome-wide, high-resolution detection of copy number, loss of heterozygosity, and genotypes from formalin-fixed, paraffin-embedded tumor tissue using microarrays. *Cancer Res* **67**, 2544-51 (2007).
69. Walter, M.J. et al. Acquired copy number alterations in adult acute myeloid leukemia genomes. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 12950-5 (2009).
70. Johnson, N., Speirs, V., Curtin, N.J. & Hall, A.G. A comparative study of genome-wide SNP, CGH microarray and protein expression analysis to explore genotypic and phenotypic mechanisms of acquired antiestrogen resistance in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* **111**, 55-63 (2008).
71. Zhang, R., Wiley, J., Howard, S.P., Meisner, L.F. & Gould, M.N. Rare clonal karyotypic variants in primary cultures of human breast carcinoma cells. *Cancer Res* **49**, 444-9 (1989).
72. Hennessy, B.T. et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics. *Cancer Res* **69**, 4116-24 (2009).
73. Andre, F. et al. Molecular characterization of breast cancer with high-resolution oligonucleotide comparative genomic hybridization array. *Clin Cancer Res* **15**, 441-51 (2009).
74. Tan, S.H., Lee, S.C., Goh, B.C. & Wong, J. Pharmacogenetics in breast cancer therapy. *Clin Cancer Res* **14**, 8027-41 (2008).
75. Luo, H.R., Gaedigk, A., Aloumanis, V. & Wan, Y.J. Identification of CYP2D6 impaired functional alleles in Mexican Americans. *Eur J Clin Pharmacol* **61**, 797-802 (2005).
76. Brauch, H., Murdter, T.E., Eichelbaum, M. & Schwab, M. Pharmacogenomics of tamoxifen therapy. *Clin Chem* **55**, 1770-82 (2009).
77. Gehrman, M., Schmidt, M., Brase, J.C., Roos, P. & Hengstler, J.G. Prediction of paclitaxel resistance in breast cancer: is CYP1B1*3 a new factor of influence? *Pharmacogenomics* **9**, 969-74 (2008).
78. Marsh, S. & Liu, G. Pharmacokinetics and pharmacogenomics in breast cancer chemotherapy. *Adv Drug Deliv Rev* **61**, 381-7 (2009).