

HUMANITAS

HUMANIDADES MEDICAS

TEMA
DEL MES
ON-LINE

LA MEDICINA INDIVIDUALIZADA: LA FARMACOGENÓMICA EN CÁNCER

Jesús García-Foncillas y Eva Bandrés



Director: Prof. Mario Foz

N.º 33, Noviembre de 2008
ISSN: 1886-1601

HUMANITAS

HUMANIDADES MEDICAS

TEMA
DEL MES
ON-LINE

N.º 33, Noviembre de 2008

Director

Prof. Mario Foz Sala

Catedrático de Medicina. Profesor Emérito de la Universidad Autónoma de Barcelona

Consejo Asesor

Dr. Francesc Abel i Fabre

Director del Instituto Borja de Bioética (Barcelona)

Prof. Carlos Ballús Pascual

Catedrático de Psiquiatría. Profesor Emérito de la Universidad de Barcelona

Prof. Ramón Bayés Sopena

Catedrático de Psicología. Profesor Emérito de la Universidad Autónoma de Barcelona

Prof. Edelmira Domènech Llaberia

Catedrática de Psicología. Departamento de Psicología de la Salud y Psicología Social. Universidad Autónoma de Barcelona

Prof. Sergio Erill Sáez

Catedrático de Farmacología. Director de la Fundación Dr. Antonio Esteve. Barcelona

Dr. Francisco Ferrer Ruscalleda

Médico internista y digestólogo. Jefe del Servicio de Medicina Interna del Hospital de la Cruz Roja de Barcelona. Miembro de la Junta de Govern del Colegio Oficial de Médicos de Barcelona

Dr. Pere Gascón

Director del Servicio de Oncología Médica y Coordinador Científico del Instituto Clínico de Enfermedades Hemato-Oncológicas del Hospital Clínic de Barcelona

Dr. Albert Jovell

Médico. Director General de la Fundación Biblioteca Josep Laporte. Barcelona. Presidente del Foro Español de Pacientes

Prof. Abel Mariné

Catedrático de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelona

Prof. Jaume Puig-Junoy

Catedrático en el Departamento de Economía y Empresa de la Universidad Pompeu i Fabra. Miembro del Centre de Recerca en Ecomía i Salut de la Universitat Pompeu i Fabra de Barcelona

Prof. Ramón Pujol Farriols

Experto en Educación Médica. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

Prof. Celestino Rey-Joly Barroso

Catedrático de Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona. Hospital General Universitario Germans Trías i Pujol. Badalona

Prof. Oriol Romaní Alfonso

Departament d'Antropologia, Filosofia i Treball Social. Universitat Rovira i Virgili. Tarragona

Prof. Carmen Tomás-Valiente Lanuza

Profesora Titular de Derecho Penal. Facultad de Derecho de la Universidad de Valencia

Dra. Anna Veiga Lluch

Directora del Banco de Células Madre. Centro de Medicina Regenerativa de Barcelona

COMENTARIO EDITORIAL

Pere Gascón

Jefe de Servicio de Oncología Médica. Instituto Clínico
de Enfermedades Hemato-Oncológicas (ICMHO).
Hospital Clínic. Barcelona.

El Dr. Jesús García-Foncillas y la Dra. Eva Bandrés nos presentan en su artículo **La medicina individualizada: la farmacogenómica en cáncer** un mundo fascinante que tan sólo hace 10 años nos hubiera parecido pura ciencia ficción. Si bien es cierto que la ciencia va evolucionando a su ritmo y que, por más que queramos, los descubrimientos, los grandes hallazgos, ocurren a saltos y sin previo aviso, no por ello lo alcanzado hasta ahora deja de sorprendernos y, lo que es más importante, sigue sorprendiéndonos. Desde el descubrimiento de la doble hélice del ADN a la secuenciación del genoma humano, a la medicina individualizada y a los fármacos de diseño han pasado cincuenta años. Nunca en la historia de la ciencia moderna se había avanzado tan rápidamente.

Tal como comentan los autores, los genes no han cambiado mucho a lo largo de la evolución y así, estudiando genes de organismos muy poco desarrollados como por ejemplo los de la mosca del vinagre, la *Drosophila melanogaster*, o los del gusano *Caenorabditis elegans*, podemos identificar genes importantísimos que tienen su equivalente en el ser humano y con ello dar un paso de gigante en biomedicina: identificar el gen de la longevidad, el gen de la memoria, el gen de la reparación tisular, los genes origen de una extremidad, y así otros. Estamos pues frente a una revolución del

conocimiento que justo acaba de empezar. Hay un hecho a tener en cuenta: la investigación, los avances en los conocimientos se suceden a todos los niveles. Al igual que se avanza en biomedicina, se avanza en sistemas electrónicos-cibernéticos y se avanza en física. Con ello quiero decir que la gran cantidad de información que se genera cada día a escala mundial sería imposible de analizar, de ordenar, de no disponer de las actuales herramientas informáticas con su casi infinita capacidad de memoria. Un buen ejemplo de ello son los *microarray*, una pequeña superficie del tamaño de la pantalla de un teléfono móvil que puede albergar 5.000-10.000 genes pegados cada uno a una celdilla. Los miles de genes de un tumor se aparearán con de la celdilla si se reconocen. El resultado es una foto con miles de puntos rojos y verdes. El ordenador nos dirá qué genes están muy representados/expresados en un tumor, poco representados o no representados. La información que nos proporcionará el ordenador será la firma genética de un tumor en particular. Así podremos comparar tumores con tumores y con sus tejidos sanos colindantes en la anatomía humana.

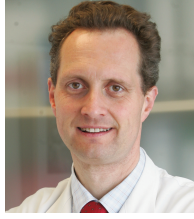
Un ejemplo de su gran poder informativo y que nos dará una foto de cuál va a ser el futuro del cáncer desde el punto de vista genómico lo tenemos en el cáncer de mama. Imaginemos

que tenemos 4 biopsias de 4 pacientes con cáncer de mama. Cien patólogos las miran al microscopio y deciden por amplia mayoría que los 4 tumores son muy parecidos. Los oncólogos los trataríamos, pues, de forma parecida. Sin embargo, las firmas genéticas de las 4 biopsias de los 4 cánceres nos indican que los 4 son distintos genéticamente: uno tiene muy buen pronóstico y por tanto posiblemente no sería necesario establecer tratamiento quimioterápico; otro tiene un pronóstico menos favorable, un tercero todavía menos favorable y un cuarto un pronóstico totalmente desfavorable, y en él posiblemente deberemos aconsejar algún tipo de tratamiento experimental. Esta revolución en medicina gracias a la genómica y a los nuevos ordenadores nos permitirá una nueva clasificación de los tumores, una mejor selección de nuestros pacientes y la elección de los fármacos más adecuados para cada uno de ellos.

Más de veinticinco años de investigaciones en biología molecular, desde el descubrimiento del primer oncogén a la actualidad, han permitido identificar moléculas en la célula cancerosa asociadas al proceso tumoral. Esto ha permitido al mundo académico y a la industria farmacéutica generar una cantidad enorme de nuevos fármacos diseñados contra estas nuevas moléculas. Este es el fundamento de la llamada terapia anti-diana o de

tratamientos a la carta. Ya en el momento actual y más en el futuro, diseñaremos tratamientos en función de qué molécula aberrante posee esta o aquella célula cancerosa. Con ello conseguiremos no ya tratamientos a la carta sino -y esta es la esperanza- tratamientos más efectivos y menos tóxicos. También, y gracias a los polimorfismos humanos (SNPs), podremos identificar qué paciente responderá o no a un fármaco en particular. Con ello conseguiremos identificar a quienes responden a un determinado fármaco y a los que no, y con ello evitaremos toxicidades innecesarias y pérdidas de tiempo cruciales, a la vez que ahorraremos recursos económicos por cuanto haremos un uso racional de los fármacos.

Vivimos tiempos apasionantes, como se extrae del artículo de García-Foncillas y Bandrés. Vivimos una verdadera revolución tecnológica y conceptual. La presión social y la de nuestros pacientes es tal que los grandes avances científicos muchas veces quedan diluidos por el hecho de que todavía no curamos ciertos o muchos tipos de cáncer. Si bien esto es en cierta manera correcto, el avance en los tratamientos y en las respuestas ha sido espectacular en los últimos años. Lo que sí podemos anunciar es que la medicina personalizada es ya un hecho.



Jesús García-Foncillas López

CURRICULUM VITAE

FORMACIÓN Y TÍTULOS ACADÉMICOS

- Licenciado en Medicina por la Universidad de Zaragoza,
- Realizó la especialidad en Oncología Médica y el doctorado en la Clínica Universitaria de Navarra.
- Completó su formación con diversas estancias en centros extranjeros como el MIT de Boston, la Unidad de Citometría de la Universidad de Nebraska y el M.D. Anderson Cancer Center de Houston.

ACTIVIDAD PROFESIONAL

- Actualmente es Director del Departamento de Oncología y Radioterapia de la Clínica Universitaria de Navarra.
- Durante su trayectoria profesional ha dirigido el laboratorio de Oncología y actualmente coordina la Unidad de Genética Clínica de la Clínica Universitaria.
- Desde septiembre de 2004 está al frente del laboratorio de Farmacogenómica del cáncer del CIMA de la Universidad de Navarra.
- Es profesor de Oncología de la Facultad de Medicina y del Máster de Biotecnología del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
 - Coordinador del Programa de Genómica y Proteómica de la Red Nacional de Centros de Cáncer.
 - Coordinador del Program de Biotecnología para el VI Programa Marco de la Comisión Europea.

ACTIVIDAD INVESTIGADORA

- Su actividad científica y de investigación está dirigida a la aplicación de la investigación básica al ámbito clínico en el tratamiento y diagnóstico del cáncer.
- Ha participado en diferentes proyectos de investigación subvencionados por agencias nacionales e internacionales.

CARGOS INSTITUCIONALES

- Presidente del X Congreso Nacional de la Asociación Española de Investigación en Cáncer.
- Vocal de la Junta Directiva del Grupo Español de Cáncer Hereditario y de la Junta Directiva de la Federación Española de Sociedades de Oncología (FESEO).
- Consultor del Steering Committee de Farmacogenómica de la Agencia Europea del Medicamento y miembro de la Comisión de Biotecnología de la Unión Europea.
- Desde 1998 es académico correspondiente de la Real Academia de Medicina de Zaragoza y desde 2006 Miembro Honorario de la Sociedad Mexicana de Oncología y de la Asociación Latinoamericana de Oncología.
- Actualmente es el Vicepresidente de la Comisión Nacional de Oncología Médica del Consejo de Especialidades del Ministerio de Sanidad y Consumo y miembro del Comité Científico de múltiples fundaciones y asociaciones dirigidas a la investigación clínica y aplicada en cáncer.

PUBLICACIONES

- Hasta la fecha ha publicado más de cincuenta artículos de investigación en revistas nacionales y sobre todo internacionales de primer nivel.
- Es Editor-in-Chief de la obra Genetic Diagnosis in Cancer, publicada por la European Biological Research Foundation.
 - Es autor de diferentes capítulos de libros.



Eva Bandrés

CURRICULUM VITAE

FORMACIÓN Y TÍTULOS ACADÉMICOS

- Licenciada en Biología por la Universidad de Navarra en 1994.
- Realizó la residencia como B.I.R. en el servicio de Inmunología de la Clínica Universitaria de Navarra.
- En el año 2000 obtuvo el grado de doctor en este mismo departamento con un estudio sobre el papel de los linfocitos T CD57+ en la patogenia de la LLC-B.

ACTIVIDAD PROFESIONAL

- Tras su formación se incorporó al Laboratorio de Biotecnología de la Clínica Universitaria de Navarra dirigido por el Dr. García-Foncillas.
- Durante los años 2002-2004 recibió una beca del Fondo de Investigación Sanitaria para la ampliación de estudios dirigida a profesionales sanitarios que han finalizado el periodo de formación sanitaria.
- Desde septiembre de 2004 está contratada como Colaborador de Investigación en el Laboratorio de Farmacogenómica, Area de Oncología, del CIMA.

ACTIVIDAD INVESTIGADORA

- Su principal interés científico se centra en la identificación de marcadores moleculares asociados a respuesta y pronóstico en tumores gatrointestinales, en especial en cáncer de colon.

LA MEDICINA INDIVIDUALIZADA: LA FARMACOGENÓMICA EN CÁNCER



RESUMEN

Una ciencia mejor es el camino hacia la medicina personalizada. Parece que éste es el momento justo para que los médicos aporten una perspectiva “biológica” y se hagan más partícipes de las controversias, los debates y las discusiones suscitados en torno a la medicina personalizada. Éste es un campo, no obstante, compartido con los bioestadísticos, los investigadores y otros, expertos en las metodologías de medición/estimación y en el diagnóstico/progresión de la enfermedad, respectivamente. La medicina personalizada supone verdaderamente un esfuerzo multidisciplinario. En concreto, hay muchas oportunidades de utilizar los principios fundamentales de la medicina clínica (p. ej., dosis-exposición-respuesta) para abordar las preocupaciones y las incertidumbres que rodean a las asociaciones entre genes, variantes genéticas (p. ej., biomarcadores), y observaciones clínicas, y para proporcionar un modelo de trabajo biológico, mecanicístico y cuantitativo que sea útil para las futuras tomas de decisión en el campo de la farmacogenética. Entre otras cuestiones, existe la necesidad de

reexaminar cuidadosamente la calidad y las ventajas de los estudios observacionales de relación entre genes. La idea de que todas las pruebas de asociaciones farmacogenéticas concluyentes necesarias para la prescripción médica (es decir, certeza empírica) se obtendrán a partir de ensayos clínicos aleatorios por razones de coste y tiempo, no es práctica. También es ingenuo pensar que los estudios observacionales asociativos y los modelos matemáticos (es decir, certeza causal) convencerán por sí solos a los médicos de que hagan uso de la farmacogenética para tratar a sus pacientes. Los médicos pueden abordar mejor la falta de fiabilidad percibida respecto a los modelos y a los estudios asociativos aportando datos cuantitativos en forma de modelos fármaco-enfermedad que puedan: 1) determinar la fuerza de la evidencia de replicación a partir de estudios genéticos asociativos, y 2) hacer frente a las incertidumbres respecto a los estudios genéticos asociativos proporcionando las probabilidades operativas para las decisiones clínicas, como la selección de la prescripción y los resultados clínicos previstos.

PERSONALIZED MEDICINE: CANCER ADDRESS FROM PHARMACOGENOMICS



SUMMARY

Better science is the way to personalized medicine. It seems like the right time for clinicians to bring a "biological" perspective to the table and to become more engaged in the controversies, debates, and discussions around personalized medicine. This is their domain, albeit a shared domain, with biostatisticians, researchers, and others who are experts in measurement/estimation methodologies and disease diagnosis/progression, respectively. Personalized medicine is truly a multidisciplinary effort. In particular, there are numerous opportunities to utilize the core principles of clinical medicine (e.g., dose–exposure–response) to address the concerns and uncertainties surrounding the associations between genes, genetic variants (e.g., biomarkers), and clinical observations, and to provide a biological, mechanistic, quantitative, and model-based framework to deal with future decision-making in pharmacogenetics. Among other issues, there

is a need to thoughtfully reexamine the quality and merits of observational gene association studies. It is impractical to think that all of the needed conclusive evidence of pharmacogenetic associations for drug dosing decisions (i.e., empirical certainty) will come from RCT because of the cost and time involved. It is also naïve to think that observational association studies and mathematical models (i.e., causal certainty) alone will convince those in clinical practice to utilize pharmacogenetics in patient care. Clinicians can better address the perceived unreliability of association studies and believability of models by bringing quantitation to the table in the form of drug–disease models that can (1) assess the strength of evidence of replication from genetic association studies, and (2) address uncertainties around genetic association studies by providing operational probabilities for clinical decisions such as dose selection and expected clinical outcomes.



LA MEDICINA INDIVIDUALIZADA: LA FARMACOGENÓMICA EN CÁNCER

JESÚS GARCÍA-FONCILLAS Y EVA BANDRÉS

*Laboratorio de Farmacogenómica, Centro de Investigación Médica Aplicada,
Universidad de Navarra.*

INTRODUCCIÓN

Hace más de 50 años que Watson y Crick descubrieron la estructura del ADN (ácido desoxirribonucleico) y más de 5 años de la publicación del genoma humano. Desde entonces y gracias al progreso de la tecnología se han dado pasos hacia la aplicación de estos conocimientos en la práctica clínica, primero como expectativas y después como realidades que ayudan al control y tratamiento de las enfermedades en general.

Durante la segunda mitad del siglo pasado hemos asistido al nacimiento y al espectacular desarrollo de la biología molecular. Así, hemos conocido la naturaleza del material genético. Experimentos clave realizados a finales de los 40 y principios de los 50 indicaron, por tanto, que el material genético es el ácido nucleico: DNA o RNA y no las proteínas como se pensaba durante la primera mitad del siglo. Además, en 1953 Watson y Crick determinaron que el DNA está en forma de doble hélice, lo que sugirió un mecanismo para su duplicación. También se han conocido los mecanismos básicos de control de la expresión genética y se ha descifrado la clave genética, es decir, cómo una secuencia de cuatro elementos, los nucleótidos, se leen para dar lugar a otra secuencia de 20 elementos, que son los aminoácidos que forman las proteínas. Por otra parte, se han puesto las bases para el desarrollo de la biotecnología. Las contribuciones de la biotecnología a la humani-

dad son muchas y muy importantes. Así, en el sector farmacéutico, se han conseguido productos más seguros y más baratos: insulina, hormona del crecimiento, interferones, interleucinas, vacunas, etc. En el sector medioambiental, se han obtenido nuevas bacterias modificadas para biodegradar compuestos que no eran biodegradados por las bacterias existentes. En agricultura se han conseguido plantas transgénicas resistentes a insectos, a virus, a la salinidad del suelo, etc. En este cambio de siglo y de milenio hemos asistido a un acontecimiento científico de enorme importancia: el conocimiento de la secuencia del genoma humano con sus 3.200 millones de nucleótidos distribuidos en los 23 pares de cromosomas que constituyen nuestra dotación genética. La secuencia del genoma humano contiene la clave genética presente en cada una de las diez trillones de células que existen en cada persona. Es la información necesaria para crear un ser humano, y que influye en nuestro comportamiento y en nuestras mentes. También nos indicará nuevos enfoques para combatir enfermedades.

SECUENCIACIÓN DEL GENOMA

En 1988, el Consejo Nacional de Investigación de Estados Unidos nombró un comité para iniciar el proyecto de secuenciación del genoma humano, recomendando también que se



secuenciase otros genomas como los de bacterias, levaduras, gusanos, moscas y ratones, así como el desarrollo de la tecnología necesaria para la consecución de estos objetivos. Por otra parte, se hacía hincapié en la investigación respecto a las implicaciones éticas, legales y sociales derivadas del conocimiento de la secuencia del genoma humano.

A finales de 1990 se estableció un consorcio público para determinar la secuencia del genoma humano, que implicaba a 20 laboratorios y cientos de investigadores de los Estados Unidos, el Reino Unido, Japón, Francia, Alemania y China. El 15 de febrero del año 2001, dicho consorcio publicaba en la revista *Nature* un borrador de la secuencia del genoma humano que está disponible gratuitamente para toda la humanidad. Simultáneamente, se publicaba el mismo día en la revista *Science* por la compañía americana Celera Genomics otro borrador de la secuencia del genoma humano.

En el último cuarto del siglo XX y en los primeros años de este siglo hemos conocido la secuencia completa de numerosos virus, bacterias, un hongo (la levadura de cerveza *Saccharomyces cerevisiae*), la planta *Arabidopsis thaliana* y dos variedades de arroz, varios animales (la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster*, el gusano *Caenorhabditis elegans*, el pez fugu, el pollo, el ratón, la rata y el chimpancé), y se han publicado secuencias de gran importancia desde el punto de vista de la medicina: la del parásito *Plasmodium falciparum*, causante de la malaria, y la del mosquito *Anopheles gambiae*, cuya picadura transmite esta enfermedad. El conocimiento de las secuencias de los genomas del parásito y del mosquito abre la puerta a nuevos tratamientos contra la enfermedad y al desarrollo de nuevas técnicas para controlar a los mosquitos transmisores de la misma. Muy recientemente se han secuenciado los genomas de tres parásitos que provocan tres graves dolencias: *Trypanosoma brucei*, que provoca la enfermedad del sueño, *Trypanosoma cruzi*, que provoca la enfermedad de Chagas y *Leishmania major*, que causa la leishmaniasis. Estas afecciones causan la enfermedad y la muerte de millones de perso-

nas en el mundo. Esta nueva información genética es esencial no sólo para conocer la biología y la evolución de estos tres parásitos, sino también para intentar desarrollar nuevos medicamentos y vacunas contra las enfermedades que provocan.

Un dato que ha resultado ser una sorpresa en la secuencia del genoma humano es el número de genes relativamente bajo (unos 25.000) comparado con el de otros genomas secuenciados: 6.000 en la levadura de cerveza *Saccharomyces cerevisiae*, 14.200 en la mosca del vinagre *Drosophila melanogaster*, 19.100 en el gusano *Caenorhabditis elegans* y 26.000 en la planta *Arabidopsis thaliana*. Lo que parece claro es que cada gen en el genoma humano puede codificar a unas cinco proteínas distintas debido al sistema de procesamiento alternativo que tiene lugar en el RNA mensajero. Por el contrario, los organismos mencionados antes tienen un grado de procesamiento considerablemente menor.

¿Qué hemos aprendido de la secuenciación del genoma humano? Que solamente un 1,5%, es decir, 48 millones de nucleótidos de un total de 3.200 millones, son genes que codifican a proteínas. La mayor parte del DNA es lo que se ha llamado DNA basura (*junk DNA*), aunque de momento se desconoce si esta enorme cantidad de DNA basura tiene asignada alguna función.

Una pregunta importante es ¿de dónde vienen nuestros genes? La mayor parte de ellos de un pasado lejano desde el punto de vista evolutivo. Las funciones celulares más elementales, tales como el metabolismo básico, la transcripción del DNA en RNA, la traducción del RNA en proteínas, o la replicación del DNA, evolucionaron sólo una vez y han permanecido muy estables desde la evolución de los organismos unicelulares como las levaduras y las bacterias. Ello llevó al Premio Nobel Jacques Monod, a decir: “lo que es verdadero para *E. coli* es verdadero para el elefante”. Por supuesto, se trata de una simplificación, pero en una buena parte esa afirmación es cierta.

Un genoma cuya secuencia se ha publicado recientemente es el del chimpancé. Los datos



indican que la diferencia genética entre el chimpancé y el ser humano es de tan solo el 1%. Muchos investigadores dudan de que una comparación de la secuencia del ser humano y del chimpancé nos vaya a revelar los mecanismos que determinan la capacidad de hablar, la capacidad de razonamiento abstracto, etc. Parece probable que estas características y capacidades hayan surgido de pequeños cambios, por ejemplo, en la regulación génica, que no son aparentes a la simple inspección de la secuencia de los genomas y que requerirá mucho más trabajo con el estudio de lo que se ha llamado proteómica, es decir, determinar las proteínas codificadas por los distintos genes así como la función de las mismas.

Otro dato interesante que se ha revelado de la comparación de las secuencias del genoma del gusano y del ser humano es que aproximadamente un 36% del genoma del gusano, unos 7.000 genes, son esencialmente los mismos que los de los humanos y los de otros organismos, y son los que contienen las instrucciones para ejecutar los procesos más básicos de la célula y del desarrollo del organismo. Por otra parte, la comparación de los genes de la mosca *Drosophila* con 300 genes humanos asociados a enfermedades ha indicado que unos 120 genes de la mosca están relacionados con dichos genes humanos.

Otro tema que nos interesa a todos es el del envejecimiento. Se han identificado mutaciones de un gen en la mosca que hacen que ésta viva más de 100 días en lugar de los 60 a 80 que vive normalmente. En el ser humano existe un gen similar. También se ha encontrado un gen en el gusano *Caenorhabditis* cuya desactivación hace que el gusano viva tres veces más de lo normal. Otro factor importante en el envejecimiento son los telómeros y la telomerasa. En las células somáticas normales los cromosomas se acortan en cada división celular, lo que no es un problema inmediato, ya que cada cromosoma termina en un telómero, una estructura muy redundante que contiene miles de copias de una secuencia de DNA de 6 nucleótidos. Por el contrario, en las células germinales “inmortales”,

que expresan telomerasa, no se acorta su DNA durante la división celular. Sin embargo, las células somáticas normales que mediante técnicas de biotecnología expresan telomerasa rompen la barrera de la senescencia. Así, células que normalmente envejecerían después de 50-55 divisiones, se pueden dividir más de 100 veces y permanecen “jóvenes”.

De la capacidad de aumentar la duración de la vida de las células sanas de una persona se derivan varias aplicaciones terapéuticas muy importantes. Así por ejemplo, la obtención de células de la piel rejuvenecidas para tratar la ulceración crónica de la piel; o células epiteliales de pigmento de retina para tratar la degeneración macular. Por otra parte, puesto que el 86% de los cánceres expresan telomerasa, se están desarrollando fármacos que inhiban dicha proteína.

Una pregunta de un enorme interés es en qué se diferencian entre sí los genomas de cada persona. El Proyecto Genoma Humano ha descifrado los genomas de cinco personas, tres mujeres y dos hombres, entre los cuales hay un asiático, un hispano, un afroamericano y un blanco europeo. De acuerdo con los datos obtenidos, no es posible distinguir una etnia de otra a partir del análisis del genoma. Se calcula que el genoma de dos personas sólo se diferencia en un 0,1% y es esa cantidad tan pequeña la que hace único a cada individuo. Los seres humanos difieren entre sí en aproximadamente un nucleótido de cada mil. Esto es lo que se conoce como polimorfismos de un solo nucleótido (*single nucleotide polymorphisms* o SNPs). Si tenemos en cuenta los 3.200 millones de nucleótidos que hay en el genoma humano, esto se traduce en un total de 3,2 millones de SNPs.

Los SNPs son marcadores que pueden permitir descubrir la base genética de muchas enfermedades. También pueden proporcionarnos información respecto a la respuesta de cada persona a las medicinas, lo que es importante para mejorar la especificidad de los medicamentos. Adicionalmente, el análisis de los SNPs puede darnos la clave de la base genética de nuestras



capacidades personales, como la capacidad para las matemáticas, la memoria, la coordinación física, o la creatividad.

GENOMA Y SALUD HUMANA

Variaciones en las secuencias del genoma marcan las diferencias en nuestra susceptibilidad a, o protección de, toda clase de enfermedades, en la edad de aparición y gravedad de la enfermedad, y en el modo en el que nuestros organismos responden al tratamiento. Comparando los patrones y frecuencias de SNPs en pacientes y controles, se podrá identificar qué SNPs están asociados con qué enfermedades. Esta investigación nos traerá la medicina genética, que alterará muchos aspectos de la medicina.

Resulta evidente que no todos los medicamentos son igualmente eficaces en todos los pacientes ni tienen el mismo perfil de seguridad. Los costes humanos, sanitarios y económicos de esta desigual eficacia y de las reacciones adversas medicamentosas son muy cuantiosos, y tienen impacto a todos los niveles: en los pacientes que los sufren, en los laboratorios que desarrollan nuevos fármacos, y en los gestores sanitarios que han de administrar presupuestos siempre limitados. Los éxitos cosechados mediante la combinación de terapias dirigidas y pruebas diagnósticas en enfermedades complejas como el cáncer muestran el camino a seguir, e ilustran los numerosos beneficios que podrán derivarse de la introducción generalizada de este tipo de abordajes en la práctica clínica habitual. Huelga decir que no estamos hablando de una panacea, ni de un nuevo abordaje que arrinconará por obsoletos a los ya existentes, sino de un conjunto de herramientas muy poderosas de prevención, diagnóstico y tratamiento que complementarán a las que ya se encuentran a disposición del clínico.

Recientemente se ha acuñado el término *Medicina Individualizada* que se sustenta en la llamada investigación traslacional, es decir, en la transferencia del conocimiento generado por la investigación básica y la investigación clínica

hasta el entorno asistencial. 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, cáncer¹ y trastornos mentales. Sin embargo, muchos de los fármacos utilizados 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 frente a 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, y ofrecen considerables oportunidades a la industria para reducir tiempos, costes y riesgos. Estamos a punto de asistir al nacimiento de los “medicamentos personalizados” o particulares para distintos estratos de pacientes clasificados según sus características genéticas².

LA FARMACOGENÓMICA

La farmacogenómica es una nueva disciplina que engloba tanto a la farmacología como a la genética. 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 contra las que van dirigidos los fármacos o como diferencias que afectan a las enzimas que los metabolizan. Cualquier cambio provocado en la molécula diana puede ser responsable de la ausencia de respuesta a un determinado fármaco, mientras que cambios que afecten a las enzimas metabolizadoras pueden modular tanto la eficacia como la citotoxicidad. La farmacogenética tradicional estudia variaciones de la secuencia de genes candidatos sospechosos de afectar a la respuesta frente a un determinado fármaco. Por otro lado, la farmacogenómica estudia el efecto global sobre un amplio número de genes, lo que permite a los investigadores identificar las bases genéticas de las variaciones interindividuales e interraciales respecto a la eficacia de los fármacos, su metabolismo y su transporte. De esta manera se ha incrementado el grado de complejidad en la búsqueda de nuevos genes candidatos¹.

El patrón de expresión génica en un determinado tejido puede revelar mecanismos de acción de determinados fármacos en el contexto genético y puede servir para aclarar diferencias interindividuales en la respuesta a aquéllos. Puede resultar especialmente importante realizar estudios del perfil de transcripción en tumores, ya que los patrones alterados de expresión génica pueden servir como guía para seleccionar una terapia efectiva o evitar exposiciones innecesarias a determinados medicamentos tóxicos porque son ineficaces. El proyecto genoma humano (HGP) y las avanzadas tecnologías automatizadas, como la tecnología *microarray*, van a tener un profundo impacto en el descubrimiento de nuevos fármacos, en su desarrollo y en 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 localiza-

ción 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 qué 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 mediante fluorescencia, 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^{3, 4}. La cantidad de RNA utilizado, la eficacia del marcaje del cDNA y la eficiencia en la hibridación pueden 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 protagonismo y aporta

numerosas herramientas que permiten analizar toda la información obtenida.

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 SNP⁵. Hasta ahora se conoce sólo un pequeño número de estos SNP y una minoría de ellos se ha asociado con la respuesta a fármacos, de manera que la tarea pendiente en este campo es enorme.

Las principales empresas farmacéuticas han respondido con grandes inversiones económicas al énfasis creciente puesto en el desarrollo de una terapia individualizada para conseguir una mayor eficacia y seguridad de sus fármacos. Consideran esencial el desarrollo de nuevas pruebas genéticas que permitan discernir en qué pacientes un determinado fármaco va a ser más efectivo y seguro. El desarrollo de estas nuevas tecnologías es imprescindible en el desarrollo de la farmacogenómica y no sólo permite identificar qué genes están afectando a la eficacia de un determinado fármaco sino que también está permitiendo identificar genes implicados directamente en la patogenia de una determinada enfermedad, descubriendo así nuevas dianas potenciales para el desarrollo de nuevos fármacos. Todo esto nos conduce a nuevas aproximaciones en el estudio y producción de nuevos medicamentos, a la aplicación de una terapia individualizada y al advenimiento de una medicina más preventiva.

Ejemplo de la 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 clasifican el tumor de acuerdo a su apariencia histológica. Sin embargo, la práctica clínica demuestra que tumores con características histopatológicas similares responden de manera diferente a la terapia y, por tanto, presentan muy diferentes pronósticos.

El fundamento del tratamiento actual del cáncer de colon está en la resección del tumor mediante cirugía. Esta terapia, si bien resulta curativa en los estadios tempranos del tumor, no es eficaz en los pacientes con micrometástasis o metástasis a distancia. Aunque se ha demostrado que el cáncer de colon tiene una patogenia muy heterogénea desde el punto de vista clínico y patológico, el tratamiento quimioterápico que se aplica por el momento es estándar. Los fármacos citotóxicos utilizados son eficaces sólo en algunos pacientes, mientras que en otros, además de no ser eficaces, resultan altamente tóxicos. Por tanto, es necesario localizar marcadores de pronóstico que puedan facilitar la identificación de los 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. Tras la cirugía, la supervivencia a 5 años era tan sólo del 45%, mientras que en los pacientes que habían recibido quimioterapia adyuvante el porcentaje de supervivencia era del 65%. Lo que indican estos datos 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 tratamiento⁶. 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 proporcionar pistas a los clínicos con el fin de realizar una intervención terapéutica más racional. Ade-



más de la efectividad del fármaco, es importante poder predecir la toxicidad de los distintos tratamientos. Las células tumorales poseen un genoma que difiere sólo sutilmente del de las células normales de las que derivan, por lo que muchas dianas frente a las que van dirigidos los fármacos antitumorales afectan del mismo modo a las células normales. De esta manera, muchos de los que son capaces de matar células tumorales, son poco específicos y provocan daños colaterales muy importantes en las células normales. Se considera que estos fármacos presentan un estrecho margen terapéutico en cuanto que la relación existente entre la dosis que se asocia con eficacia antitumoral y la toxicidad que presenta es demasiado pequeña^{7,8}.

Los compuestos formados por las tiopurinas son los más ampliamente utilizados como terapia antitumoral. Estos profármacos son convertidos por enzimas en nucleótidos de tioguanina, los cuales son incorporados en el DNA provocando la muerte celular. Uno de estos fármacos, el agente **5-fluorouracilo (5-FU)** es ampliamente prescrito para el tratamiento de tumores sólidos y es el principal agente quimioterápico utilizado en el tratamiento del cáncer colorrectal^{9,10}. Resulta raro comprobar que a pesar de ser el tercer agente antitumoral más prescrito sólo el 20-30% de los pacientes con cáncer colorrectal responde al tratamiento. El 5-FU es una molécula en la que se sustituye en el carbono 5 del anillo de pirimidina del uracilo el hidrógeno por flúor. La enzima *timidina fosforilasa (TP)* cataliza la conversión de 5-fluorouracilo a FudR y posteriormente sufre una fosforilación por la *timidina cinasa (TC)* a 5-fluoro-2'-deoxiuridín-5'-monofosfato (FdUMP). Este metabolito es el que inhibe directamente 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 tanto el crecimiento tumoral^{11,12}.

Diferentes concentraciones de la enzima *timidilato sintasa (TS)* afectan directamente a la efectividad de dicho agente y se ha comprobado en diferentes estudios una relación inversa entre las concentraciones 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 las concentraciones 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 las concentraciones de TS son también mayores en las metástasis abdominales que en las hepáticas. Estas variaciones intra-pacientes en las concentraciones de TS entre los tumores primarios y entre los distintos puntos de metástasis pueden 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 tándem (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 tanto los pacientes homocigotos con tres repeticiones en tándem tienen una mayor actividad de la TS y en consecuencia una menor probabilidad de responder al tratamiento con 5-FU que los pacientes homocigotos con dos repeticiones^{18,19}. En uno de estos estudios los investigadores evaluaron a 50 pacientes con cáncer colorrectal en estadio avanzado que habían sido tratados con 5-FU. Los resultados obtenidos demostraron que el 50% de los pacientes tenían una copia del promotor con una doble repetición y otra con triple repetición, el 29% presentaban los dos genes con triple repetición y el 21% tenían los dos genes con una doble repetición. Se demuestra que los pacientes en los que en 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 por completo durante al menos 6 semanas²⁰. La supervivencia en estos pacientes es aproximadamente de 8 meses más que en los



que tienen otros tipos de variaciones. Estos datos sugieren que este simple test genético puede ayudar a determinar qué pacientes con cáncer colorrectal se beneficiarían más del tratamiento con este fármaco. 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 el fármaco y por tanto este test también identifica a los 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 a individuos que van a responder. Otros marcadores como las enzimas implicadas en el metabolismo del 5-FU podrían ayudar a explicar la falta de respuesta al mismo. La enzima *timidin-fosforilasa* (TP) es una enzima que cataliza la fosforilación reversible de timina y desoxirribosofosfato. Se ha demostrado que esta enzima induce angiogénesis y crecimiento tumoral²¹ y además permite la activación de ciertos profármacos 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 leucovorín. Bajos grados de expresión de TP en el tumor se observan en los pacientes que responden al tratamiento, mientras que ninguno de los pacientes con una alta expresión de TP o TS respondieron al tratamiento^{22, 23}. Estos datos contrastan claramente con la evidencia teórica de que las células con una mayor expresión de TP deberían ser más sensibles al 5FU. Esta discrepancia puede sugerir que la asociación inversa entre los grados 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 deshidrogenasa* (DPD). Más del 80% del 5-FU es inactivado en el hígado por esta enzima y la actividad de la DPD presenta variaciones entre

individuos de entre 5 y 21 veces^{24, 25}. Un estudio publicado demuestra que los tumores de pacientes con cáncer colorrectal con baja expresión de esta enzima presentan mejores respuestas. 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, lo que provoca una gran toxicidad que puede llegar a ser mortal²⁶. Se han descrito un amplio número de polimorfismos en esta enzima que podrían afectar a su actividad. Se ha comprobado que los individuos que sufren toxicidad severa frente al 5-FU presentan una reducida actividad de la enzima DPD (por debajo de 100 pmol/min/mg de proteína en células de sangre periférica)²⁷. Aproximadamente el 3% de la población son portadores 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 a trastornos neurológicos. Se han documentado al menos 350 casos de asociación entre deficiencia de 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 tanto la generación de una proteína truncada que es degradada por el proteosoma. Un estudio realizado en 25 pacientes con toxicidad en grado III-IV demostró que el 24% de ellos eran portadores de esta mutación, lo que aporta pruebas sobre la necesidad de realizar dicho genotipado 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 a 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 y un 66% de los 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 este fármaco.

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 el cáncer colorrectal metastásico⁵⁰.

Aunque estas enzimas, TS, DPD y TP, son las que por el momento han aportado resultados más favorables como marcadores de resistencia, están siendo investigados otros muchos genes. El gen *p53* y su proteína están involucrados directamente en el control del ciclo celular y el mecanismo de apoptosis. En un 50-60% de los tumores de colon se observan mutaciones en dicho gen que provoca una sobreexpresión del mismo⁵¹. La sobreexpresión de esta proteína se ha asociado con un peor pronóstico, aunque los resultados publicados en la literatura de carácter clínico son conflictivos en este sentido⁵². Sólo existe un trabajo en el que se demuestra que la sobreexpresión de este gen se correlaciona con una peor respuesta en pacientes con cáncer colorrectal tratados con bolus de 5-FU más leucovorín⁵³. En líneas celulares de cáncer colon se ha comprobado que la disrupción de la vía de *p53* puede provocar resistencia a 5-FU.

Otro gen que ha sido investigado en cáncer colorrectal es el *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, lo cual 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 pacientes. Algunos de estos citostáticos que pueden utilizarse como adyuvantes son:

– El ácido folínico o leucovorín 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 grados de expresión de la enzima *timidilato sintetasa*, al igual que ocurre con el 5-FU, condicionan la respuesta obtenida a la poliquimioterapia con estos fármacos.

– Los derivados del platino como el cisplatino, el carboplatino o el oxaliplatino aumentan el contenido intracelular de folatos reducidos, aumentan el daño producido sobre el DNA e interfieren 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 modestas respuestas, pero es muy activo en combinación con 5-FU. Como tratamiento de primera línea, la combinación de ambos compuestos muestra ratios de respuesta de un 50-53%. 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. De todos los posibles genes implicados en el sistema de reparación, por el momento existen algunas evidencias de que una alta expresión del gen ERCC1 es un factor predictivo de la pobre respuesta obtenida en pacientes tratados con 5-FU más oxaliplatino³⁶.

La **capecitabina** es otra fluoropirimidina que ha demostrado tasas de respuesta similares a las del 5-FU en enfermedad metastásica con una toxicidad aceptable y la ventaja de que se administra 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 del 5-FU y, al igual que ocurre con este agente, el grado de expresión de la enzima TS se ha asociado con la respuesta obtenida a la capecitabina. Un pequeño estudio rea-



lizado en el promotor de la TS también ha demostrado que los pacientes con el genotipo 2R/2R en esta región muestran las más altas tasas de respuesta (80%)³⁷. Bajas concentraciones de DPD podrían también asociarse con la respuesta a capecitabina; sin embargo, al contrario de lo que ocurre con el 5-FU, los tumores con altos niveles de TP responden mejor al tratamiento, lo cual indica un nuevo mecanismo de acción diferente al del 5-FU.

El **irinotecan, o CPT-11**, es otro producto que está siendo utilizado como tratamiento quimioterápico frente al 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 un profármaco que requiere ser transformado por la carboxilesterasa, la cual activa el fármaco a SN-38 que bloquea la *topoisomerasa I* y por tanto inhibe el crecimiento celular³⁸. La enzima hepática UDP-glucuroniltransferasa 1A1 inactiva el producto activo del fármaco, SN-38, mediante glucuronidación, de manera que el producto originado es 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 y 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 tanto también reduce las concentraciones de SN-38-glucuronizado⁴³. Esto provoca una mayor acumulación de SN-38, dando lugar a 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 producto del oncogén 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 las 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 los que tienen el gen k-ras normal.

Sin embargo, el gran salto cualitativo ha venido dado por el valor predictivo negativo de las mutaciones de k-ras en relación con la ausencia de respuesta a anticuerpos frente al EGFR en términos de tasa de respuesta y tiempo a progresión en el cáncer de colon metastásico⁴⁴⁻⁴⁸.

BIBLIOGRAFIA

1. Scherf U, Ross DT, Waltham M, Smith LH, Lee JK, Tanabe L, et al. A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. *Nat Genet* 2000 Mar; 24(3): 236-44.
2. Evans DAP. Genetic factors in drug therapy. En: *Clinical and Molecular Pharmacogenetics*. Cambridge: Cambridge University Press, 1993.
3. Kley PW, Vesell ES. Genetic variation as a guide to drug development. *Science* 1998; 281: 1820-1821.
4. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999; 286: 487-491.

5. Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, Botstein D. Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 Dec 8; 95(25): 14863-8.
6. Hollon T. Comparing microarray data: What technology is needed? *J Natl Cancer Inst* 2001 Aug 1; 93(15): 1126-7.
7. Notterman DA, Alon U, Sierk AJ, Levine AJ. Transcriptional gene expression profiles of colorectal adenoma, adenocarcinoma, and normal tissue examined by oligonucleotide arrays. *Cancer Res* 2001 Apr 1; 61(7): 3124-30.
8. Seymour MT. Colorectal cancer: treatment of advanced disease. *Cancer Treat Rev* 1998 Apr; 24(2): 119-31.
9. Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Tangen CM, 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.
10. Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, Ueki T, Satriano R, Haller DG, Benson AB 3rd, Hamilton SR. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2001 Apr 19; 344(16): 1196-206.
11. 5-Fluorouracil: biochemistry and pharmacology. *J Clin Oncol* 1988 Oct; 6(10): 1653-64.
12. Heggie GD, Sommadossi JP, Cross DS, Huster WJ, Diasio RB. Clinical pharmacokinetics of 5-fluorouracil and its metabolites in plasma, urine, and bile. *Cancer Res* 1987 Apr 15; 47(8): 2203-6.
13. Leichman CG, Lenz HJ, Leichman L, Danenberg K, Baranda J, Groshen S, 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.
14. Kornmann M, Link KH, Lenz HJ, Pillasch J, Metzger R, Butzer U, 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.
15. Aschele C, Debernardis D, Casazza S, Antonelli G, Tunesi G, Baldo C, 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.
16. Gorlick R, Metzger R, Danenberg KD, Salonga D, Miles JS, Longo GS, 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.
17. Cascinu S, Aschele C, Barni S, Debernardis D, Baldo C, Tunesi G, 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.
18. Villafranca E, Okruzhnov Y, Dominguez MA, Garcia-Foncillas J, Azinovic I, Martinez E, Illarramendi JJ, Arias F, Martinez Monge R, Salgado E, Angeletti S, Brugarolas A. 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, Watanabe Y. 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, McLeod HL. 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, Hu DE, Lees VC, Turley H, Fox SB, Gatter KC, Harris AL, Bicknell R. Thymidine phosphorylase is angiogenic and promotes tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 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, Salonga D, Schwartz EL, Wadler S, 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, Fleming R, Thyss A, Renee N, 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. Gonzalez FJ, Fernandez-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, High L, Smith JB, Diasio RB. 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, Meisma R, Zoetekouw L, Waterham HR, 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, Metzger R, Groshen S, Tsao-Wei DD, 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, Danenberg KD, Danenberg PV, Metzger R, 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, Reyes G, Arribas R, Aiza G, Sancho FJ, Peinado MA, Capella G. 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 A, Green B, Howel-Evans A, Smith D, Kinsella A, Poston G. 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, Agarwal V, Haynes H, Benson AB 3rd. 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, Myeroff L, Mackay W, Gordon N, 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, Xiong YP, Uetake H, Danenberg KD, 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, Stoehlmacher 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, Kuga H, Sato K. 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, Ramirez J, Vokes EE, Ratain MJ. 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, Green MD, Roy SK, Tephly TR, Coffman BL, Ratain MJ. 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, Burchell B, Thummel KE, Hall SD, Wrighton SA. 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, Bock KW, Bairoch A, Belanger A, 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, Goldwasser F, Trivin F, Mahjoubi M, et al. Severe CPT-11 toxicity in patients with Gilbert's syndrome: two case reports. *Ann Oncol* 1997 Oct; 8(10): 1049-51.
44. De Roock W, Piessevaux H, De Schutter J, Janssens M, De Hertogh G, Personeni N, et al. KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol* 2008; 19(3): 508-515.
45. Di Fiore F, Blanchard F, Charbonnier F, Le Pessot F, Lamy A, Galais MP, et al. Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal

- cancer treated by Cetuximab plus chemotherapy. *Br J Cancer* 2007; 96(8): 1166-1169.
46. Lievre A, Bachet JB, Le Corre D, Boige V, Landi B, Emile JF, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006; 66(8): 3992-3995.
47. Lievre A, Bachet JB, Boige V, Cayre A, Le Corre D, Buc E, et al. KRAS mutations as an independent prognostic factor in patients with advanced colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2008; 26(3): 374-379.
48. Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(10): 1626-1634.