

## **ONCOFARMACOGENETICA: TEORIA Y PRACTICA.**

Existe una gran heterogeneidad en la manera en que los individuos responden a los medicamentos, tanto en términos de eficacia como de toxicidad. Las posibles causas de esa variabilidad en los efectos de un fármaco incluirían la patogénesis y severidad de la propia enfermedad que estamos tratando, interacciones entre drogas, y algunos factores dependientes del paciente como su edad, estado nutricional o las funciones hepática y renal así como la presencia de alguna otra enfermedad concomitante. Sin embargo, estas variables clínicas no pueden ser las únicas responsables de estas diferencias interindividuales en la acción de los fármacos. La idea de que el material genético controla alguno de los efectos de los medicamentos surgió en los años 50 al introducir el uso clínico de la succinilcolina. Los anestesiólogos encontraron que una pequeña proporción de pacientes a los que se administraba este relajante muscular sufrían una parada cardiorrespiratoria en la mesa de operaciones. Los genetistas fueron capaces de demostrar porque: la succinilcolina se metaboliza en condiciones normales de manera eficiente por el enzima colinesterasa, pero 1 de cada 2500 personas son portadoras de dos copias defectuosas del gen que codifica este enzima por lo que no son capaces de eliminar el fármaco. Los malos respondedores a la succinilcolina son identificados midiendo la actividad de la colinesterasa en sangre. Posteriormente esta idea o concepto se vio apoyada por los estudios familiares y de gemelos realizados en los años 60-70 y los estudios bioquímicos de los años 70 y 80. Sin embargo, no fue hasta finales de los 80 que se donó y caracterizó el primer gen humano cuyas variaciones en su secuencia eran capaces de influir en el metabolismo de un fármaco (antiHTA debrisoquine → CYP2D6). Por tanto, la causa de casi cien mil muertes en estados unidos o de más del 10% de los ingresos hospitalarios o del hecho de que casi un tercio de los pacientes hipertensos a los

que se les indica un betabloqueante no controla su tensión o de que los antidepresivos tipo Prozac no funcionen en la mitad de las personas que lo utilizan.

La farmacogenómica estudia de qué manera la herencia genética influye en la respuesta a un medicamento, lo que incluye estudios en las variaciones del DNA germinal (farmacogenética), en la expresión del RNA o estudios de proteómica, aunque hoy por hoy, la base de la farmacogenómica es el estudio de las variaciones en el DNA germinal o lo que es lo mismo el estudio de los polimorfismos genéticos. Los polimorfismos genéticos están definidos por la presencia en una población de individuos de dos o más fenotipos debidos a la existencia de diferentes alelos y se dice que un gen es polimórfico cuando la frecuencia de aparición del alelo más raro es del al menos un 1% de la población. Hay dos clases de polimorfismos genéticos: los polimorfismos de nucleótido simple y los SSLP. En los polimorfismos de nucleótido simple, las variantes alélicas difieren en un solo nucleótido localizado en una determinada posición. Son la variación más frecuente en el genoma humano siendo responsables de más del 90% de las variaciones del genoma (el 10% restante son causadas por inserciones o deleciones indels y SSLP). Pero la mayoría son silentes (es decir, sin repercusiones fenotípicas) de manera que si se estima que existen mas de 10 millones de polimorfismos, sólo de 50 a 250.000 tienen un efecto biológico. En el segundo grupo de polimorfismos de DNA, los SSLP, las variantes alélicas se diferencian por el número de veces que se repiten determinadas secuencias o tandem cortos de nucleótidos. Estas secuencias cortas pueden tener entre 1 y 4 pares de bases que se repiten de 3 a 10 veces —STRs short tandem repeats o microsatelites— o bien los tandems consisten en un número variable de repeticiones cada 20-200 pares de bases —VNTRs variable number tandem repeats— .

Existen muchos ejemplos de polimorfismos localizados en los genes que codifican las enzimas y proteínas implicadas en la acción de los fármacos. Probablemente el caso más

estudiado sea el del citocromo P450 (oxida xenobióticos). Se sabe que de los 57 genes implicados en la codificación del citocromo P450, tres son particularmente importantes en el metabolismo de drogas: el 2D6 el 2C9 y el 3A4. El 2D6 está implicado en el metabolismo de un 25% de todos los fármacos prescritos incluidos los betabloqueantes, los antidepresivos y muchos fármacos antineoplásicos . El 2C9 interviene el en metabolismo del 5% de todos los fármacos y es muy polimórfico. Y el 3A4 metaboliza la mitad de todos los medicamentos pero parece que es poco polimórfico.

Centrándonos en los fármacos antineoplásicos, quizás el caso más estudiado sea el de la tiopurinmetiltransferasa. Este enzima metila a la mercaptopurina utilizada en el tratamiento de las leucemias infantiles, disminuyendo la biodisponibilidad para su conversión a los metabolitos activos. Los estudios realizados por Evans determinaron que aproximadamente el 10% de los pacientes caucásicos tienen constitutivamente una actividad intermedia del enzima tiopurinmetiltransferasa, y un 0,3% son deficientes en la misma. Los casos con actividad intermedia tenían una mayor incidencia de toxicidad, tolerando el 65% de las dosis normales. Sin embargo el grupo de enfermos con deficiencia enzimática no solo presentaban episodios de toxicidad hematológica severa-fatal, sino que también tenían un mayor riesgo de recidiva –reflejando quizás una inadecuada administración del fármaco por los episodios de toxicidad– y una mayor incidencia de tumores cerebrales en los casos que recibían radioterapia craneal. Este grupo de pacientes solo tolera un 5-10% de las dosis convencionales de mercaptopurina. Hasta ahora se han identificado 10 variantes del gen que codifica la tiopurinmetiltransferasa que conducen a una baja actividad enzimática. Tres de ellas (TPMT\*2, TPMT\*3A y TPMT\*3C) son responsables del 95% de los casos de baja actividad. Los heterocigotos para estos alelos tienen una actividad intermedia y los homocigotos son el 0,3% deficiente.

**Dihidropirimidin dehidrogenasa (DPD)** es el enzima que cataboliza el 85% del 5FU administrado y se considera responsable del 60% de los casos de toxicidad relacionada

con el 5fluoracilo. Su actividad tiene un alto grado de variabilidad interpersonal, pudiendo existir diferencias de hasta 20 veces. Se han descrito hasta el momento 39 polimorfismos en el gen que codifica este enzima. Los individuos con deficiencia demostrada de DPD tienen un riesgo muy alto de sufrir algún episodio de toxicidad grave cuando son tratados con 5FU. Sin embargo, la relación entre la toxicidad del 5FU y los polimorfismos inactivadores de la DPD es compleja existiendo muchos pacientes con toxicidad severa que no presentan ningún polimorfismo en el gen y viceversa. También se podría pensar que la toxicidad estuviera relacionada más con la actividad de la proteína que con la variante genotípica, pero hay pacientes que presentan episodios de toxicidad severa con 5FU y que poseen una actividad normal del enzima DPD.

El gen que codifica el enzima diana del 5fluoracilo, la timidilato sintasa es polimórfico, Se han descrito tres polimorfismos en el gen de la timidilato sintasa (TYMS), siendo el principal un polimorfismo del tipo SSLP en el que las variantes alélicas difieren en el número de veces que se repiten determinadas secuencias cortas de nucleótidos (*tandem*). Este polimorfismo varía de 2 (TSER2) a 9 (TSER9) copias del *tandem repeat*, siendo las variantes TSER2 y TSER3 las más frecuentemente exploradas. La variante TSER3 se ha relacionado no solo en estudios *in vitro* con una mayor expresión de TS, sino que también se ha observado una posible relación con niveles mayores de TS libre en pacientes con cáncer. En algunos estudios con pacientes afectos de carcinoma colorrectal, se ha relacionado la presencia del genotipo TSER3/3 en las células tumorales con una menor eficacia del 5FU, aunque otros autores no han podido confirmar estos hallazgos. Sin embargo, y de forma paradójica, el genotipo TSER3/3 constitutivo determinado en leucocitos circulantes se ha correlacionado con una mayor tasa de respuesta al 5FU. La interpretación de estos datos resulta difícil debido al carácter retrospectivo de los estudios, al limitado número de enfermos (entre 50-200 pacientes) y al diferente origen del material en el que dicho polimorfismo es estudiado (tejido tumoral vs células sanguíneas

normales). No obstante la mayoría de los estudios son consistentes con una eficacia superior del 5FU en los pacientes con tumores TSER2 tanto heterocigotos como homocigotos.

La **UDP-glucuroniltransferasa 1A1** inactiva el metabolito activo del irinotecán SN38. La repetición de una secuencia de dos nucleótidos (SSLP) en el promotor del gen que codifica este enzima conduce a una disminución de su actividad. Este hecho se asocia a un riesgo 4 veces mayor de tener un episodio de toxicidad severa a irinotecan, tanto diarrea como neutropenia. Existen diferentes variantes según el número de veces que se repite la secuencia, siendo los casos de toxicidad más graves aquellos en los que se repite 7 veces.

La **glutathion S-transferasa P1** interviene en la glucuronización de metabolitos de algunos citostáticos como la ciclofosfamida o las sales de platino. Existe un polimorfismo por el que se sustituye una isoleucina por una valina en el codon 105. Este polimorfismo está presente en un tercio de la población de la población caucasiana y da lugar a una glutathion transferasa menos activa. Hay estudios que encuentran que en los pacientes portadores de este polimorfismo existe una mayor actividad, en términos de respuesta y supervivencia, de la ciclofosfamida en cáncer de mama o de oxaliplatino en cáncer colorrectal.

Todos estos polimorfismos se han identificado siguiendo el abordaje del gen candidato, por el que se estudia de manera individual alguno de los genes que sabemos que están implicados en el metabolismo y la acción de determinado fármaco. El caso de la tiopurinmetiltransferasa es claro: sé que hay personas con un fenotipo o comportamiento diferente ante la administración del fármaco y que eso obedece a que tienen actividades enzimáticas distintas. Voy al gen que codifica el enzima y lo rastreo en busca de variantes o polimorfismos que se asocien a esas diferencias. Realmente la gran mayoría de los polimorfismos que actualmente se consideran implicados en la respuesta a fármacos son

los más accesibles desde el punto de vista farmacogenómico ya que son monogénicos y tienen una alta penetrancia por lo que dan lugar a fenotipos de respuesta al fármaco claramente reconocibles. Pero por desgracia esto no es lo habitual y en la mayoría de los casos los efectos de los medicamentos están determinados por la acción de múltiples genes. Este es uno de los motivos por los que la metodología del gen candidato falla a la hora de obtener resultados: en la vida real actúan más las vías poligénicas que genes individuales → diferentes polimorfismos en varios genes de una vía actuarían juntos para dar lugar a un determinado fenotipo de respuesta a un fármaco, por lo que el efecto de alguno los genes en concreto no sería fácil de detectar. Otra razón podría ser que los mecanismos que modificaran la función de la proteína según cada individuo no estuvieran a nivel del DNA, sino que fueran debidos a fenómenos postraducción. Y por supuesto podemos elegir para estudiar al gen equivocado. Con una aproximación más amplia al genoma mediante los estudios de perfiles de expresión génica con microarrays o los estudios de genoma completo o estudios de proteómica, se podrían identificar genes candidatos que aún no conocemos. Por otra parte los estudios de perfiles de expresión o de proteómica tienen la gran ventaja de ser un reflejo fiel de las variantes hereditarias realmente importantes desde un punto de vista funcional. Sin embargo este tipo de estudios también tiene sus inconvenientes, aparte de su coste y complejidad, ya que para realizarlos hay que utilizar muestras de tejido que pueden ser o no del mismo tejido sobre el que el fármaco tiene un efecto tóxico o terapéutico.

Pasando a otra cuestión, habría que preguntarse por qué después de 50 años de estudios clínicos y más de 10 años de investigaciones genéticomoleculares, ¿por qué el uso clínico de la farmacogenómica es excepcional hoy en día? Tenemos ejemplos claros como el de la tiopurinmetiltransferasa o el enzima 2D6 del citocromo P450 y la no eficacia de la codeína o el enzima 2C9 y el mayor efecto de la warfarina (pacientes con deficiencia en actividad del enzima CYP2C9 presentan mayor probabilidad de sangrado con la warfarina y

necesitan menores dosis y mas controles), en los que el impacto de la determinación de dichos polimorfismos sobre los efectos farmacológicos es mayor que el uso de otros métodos habituales de ajuste de dosis como la creatinina sérica en los casos de insuficiencia renal. Además, para cada uno de estos polimorfismos existen tests de determinación comerciales. Por que entonces la comunidad médica sigue manteniendo una actitud en cierta medida escéptica. En primer lugar los clínicos, bueno en oncología no tanto, estamos acostumbrados a una dosis única para todo el mundo. No es la práctica habitual individualizar las dosis aunque sea utilizando criterios sencillos como la edad del paciente o la función renal. En el caso de los tests farmacogenómicos, no solo dependeríamos de los resultados de una prueba para tomar una decisión terapéutica, sino que la mayoría de los clínicos no tiene la formación necesaria para interpretar los resultados. Por otra parte, es muy difícil llevar a cabo los estudios clínicos necesarios para comprobar que el ajuste de las dosis en base a datos genéticos tiene repercusiones significativas en la evolución de los pacientes. Son estudios realmente complejos, no ya desde el punto de vista técnico y económico, sino por la dificultad para controlar otras variables no genéticas como las interacciones farmacológicas, la dieta o el hecho de que el paciente en cuestión sea o no fumador. Todo ello hace que no dispongamos de estudios farmacogenómicos a gran escala que aporten la suficiente evidencia científica para que un cambio de este calibre en la practica clínica no pueda ser cuestionado.

¿Qué criterios deberíamos seguir para evaluar el impacto potencial de un determinado test farmacogenómico desde un punto de vista clínico y social? Las repercusiones médicas deberían estar determinadas fundamentalmente por la prevalencia en la población de los alelos variantes, por el mayor o menor uso que se hace del fármaco en cuestión, la severidad del efecto adverso o la importancia del efecto terapéutico y la disponibilidad o no de otro tipo de técnicas para monitorizar la acción del fármaco. El test genético será clínicamente apropiado solamente si tenemos la suficiente evidencia de que las diferentes

variantes alélicas se asocian de manera significativa a determinados efectos tóxicos o terapéuticos. Finalmente el test genético debe poder hacerse rápidamente, no ser excesivamente caro y ser fiable a la hora de detectar las variantes alélicas. Y por supuesto si queremos que el test se use en la práctica habitual, los clínicos debemos ser capaces de interpretar y utilizar los resultados.

Y ya para terminar, ¿cuáles son los pasos que se deberían seguir en el campo de la farmacogenómica a medio y largo plazo? Quizá el más importante sea establecer la norma de que en todos los ensayos clínicos fase III se incluyan estudios farmacogenómicos. Así obtendríamos información a partir de grupos de pacientes uniformemente diagnosticados y tratados. También deberían acompañarse de estudios preclínicos experimentales que reafirmaran las asociaciones genotipo-fenotipo encontradas. Por otra parte no podemos olvidar la necesidad de validar cada relación farmacogenómica para cada indicación terapéutica y para cada grupo étnico relevante. Al final, se conseguirá disminuir la incidencia de efectos adversos y aumentar las probabilidades de éxito de los distintos tratamientos lo que sin duda debería incidir en el gasto sanitario.