

# Biología molecular del cáncer colorrectal

Albert Abad, Eva Martínez-Balibrea<sup>a</sup>, José Luis Manzano y Beatriz Cirauqui

Servei d'Oncologia Mèdica. <sup>a</sup>Laboratori de Biologia Molecular del Càncer.

Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. España.

## Resumen

La biología molecular del cáncer colorrectal (CCR) abarca una amplísima variedad de aspectos que van desde la conocida teoría de las etapas múltiples del desarrollo del tumor y los síndromes hereditarios hasta la aplicación al tratamiento de determinantes moleculares de sensibilidad y resistencia a citostáticos. En el cáncer hereditario cabe destacar las dos vías de la herencia, la vía supresora mediada por el gen supresor *APC* de la poliposis múltiple familiar y la vía mutadora mediada por la mutación en genes reparadores y conocida como síndrome de Lynch. No cabe duda del interés de los aspectos de la carcinogénesis y la herencia, pero donde mayor importancia alcanza la biología molecular del CCR en el momento actual es en su aportación al pronóstico y tratamiento de los pacientes. Genes tan importantes como el oncogén *k-ras* nos proporcionarán información pronóstica sobre la agresividad y capacidad de recaída y metástasis, información que podemos completar con el análisis de la inestabilidad alélica (*chromosomal imbalance*) en determinados cromosomas como 8p y 18q, y también con la determinación de los títulos de expresión de timidilato sintetasa. A nuestro entender, todavía es más importante la aportación que hace al tratamiento el análisis de la expresión de genes implicados en los mecanismos de reparación del ADN, como *ERCC1*, y en los mecanismos de acción de citostáticos y el conocimiento de determinados polimorfismos genéticos tales como *TS*, *UGT1A1*, *XRCC1*, *XPD*, que van a modificar la sensibilidad o resistencia a determinados fármacos y que serán tratados ampliamente en esta revisión.

**Palabras clave:** Polimorfismos genéticos. Cáncer colorrectal.

## MOLECULAR BIOLOGY OF COLORECTAL CANCER

Molecular biology in colorectal cancer (CCR) embraces a wide range of aspects from the well known theory of multiple stages in the development of a tumour and inherited syndrome, to the application on the treatment of molecular determiners of sensitivity and resistance of cytostatics. In inherited cancer we have to point out the two forms of inheritance, the suppressor way via gene suppressor *APC* of the familiar multiple poliposis and the mutation way via mutation in repairing genes and known as Lynch syndrome. There is no doubt about the interest of carcinogenesis aspects and inheritance but the highest importance reached by molecular biology in CCR up to now is its contribution to the prognosis and treatment of patients. Genes as important as *k-ras* oncogene will provide us with prognostic information about the aggressiveness and capacity of relapse and metastasis, we can complete such information with the analysis of the allelic instability (*chromosomal imbalance*) in some chromosomes such as 8p and 18q and also determining levels of expression of thymidilate synthase. In our opinion it is even more important the contribution to the treatment by the analysis of the expression of genes involved in the mechanisms of repair of DNA or in the mechanisms of action of cytostatics as well as the knowledge of some genetic polymorphisms that are going to modify the sensitivity or resistance to some medicine and will be widely treated in this essay.

**Key words:** Genetic polymorphisms. Colorectal cancer.

## Introducción

La biología molecular del cáncer colorrectal (CCR) abarca una amplísima variedad de aspectos que van desde la carcinogénesis del tumor hasta la aplicación al tratamiento de esta neoplasia. Es de sobra conocida la teoría de las etapas múltiples del desarrollo del tumor desde el pólipo hasta el cáncer invasivo debido a la acumulación

Correspondencia: Dr. A. Abad.  
Servei d'Oncologia Mèdica. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.  
Ctra. del Canyet s/n. 08916 Badalona. Barcelona. España.  
Correo electrónico: aabad@ns.hugtip.scs.es

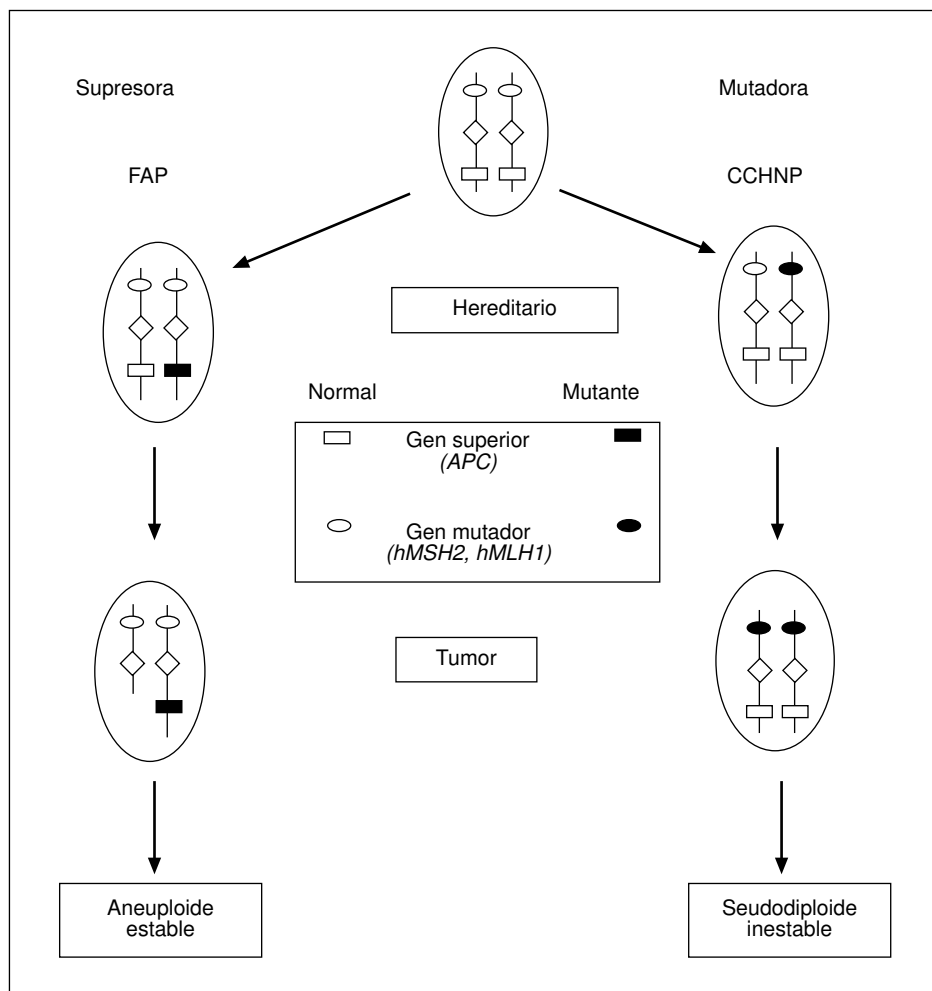


Fig. 1. Vías moleculares en la oncogénesis colorrectal. CCHNP: cáncer de colon hereditario no ligado a la poliposis, FAP: gen de la poliposis múltiple familiar.

de alteraciones genéticas, metilaciones, mutaciones, deleciones, que se inician en la mutación del gen *APC* de la poliposis múltiple familiar, igual en el cáncer hereditario ligado a la poliposis, caso en el que se nace con un alelo mutado, como en el cáncer de colon y recto esporádico, en el que la mutación se adquiere durante la vida para los dos alelos. En este caso el gen responsable, *APC*, es un gen supresor, mientras que en el caso del otro síndrome hereditario, el síndrome de Lynch, el cáncer de colon hereditario no ligado a la poliposis, está relacionado con la mutación de un gen de una familia de genes reparadores de los que los más frecuentes son el *MSH2* y *MLH1*. El conjunto de cánceres hereditarios representa menos del 15% de los cánceres de colon y recto, siendo el tipo *APC* menor del 2% (fig. 1). Otro gen de gran importancia es el oncogén *k-ras*. Las mutaciones de este oncogén estimulador del crecimiento son de relevante importancia en el desarrollo del carácter invasivo del CCR e imprimen además distintos grados de agresividad al tumor que, como veremos, tienen valor pronóstico. Finalmente, los diferentes genes implicados en la reparación del ADN, así como otros relacionados con el metabolismo o las dianas de los diferentes fármacos citostáticos activos en el CCR, son actualmente de máximo interés ante las posibilidades que abren para poder seleccionar el tratamiento para cada pa-

ciente. La determinación en el tumor de los títulos de expresión de estos genes o la determinación en suero de determinados polimorfismos presentes en algunos de ellos permite tener una aproximación a la sensibilidad o resistencia que va a presentar el paciente (el tumor) a determinado tratamiento.

Es evidente la imposibilidad de tratar todos estos temas con profundidad en el corto espacio de que se dispone en un capítulo de revisión, por lo que, dada la trascendental importancia que puede tener la selección del tratamiento y que, por otra parte, es un tema menos conocido, y en pleno desarrollo, vamos a centrar nuestro capítulo en los datos de biología molecular y el pronóstico y tratamiento de los pacientes afectados de CCR.

### Biología molecular y tratamiento adyuvante

Si bien el tratamiento adyuvante del estadio III está perfectamente establecido, no existen datos definitivos sobre la indicación de tratamiento en el estadio II de colon y todavía menos en el I. El estudio de determinados genes aporta datos sobre el pronóstico de este grupo de pacientes, que permiten seleccionar el subgrupo de riesgo que debería ser tratado en régimen adyuvante.

En 1998 se publicaron ya los resultados referentes al valor pronóstico de las mutaciones del gen *k-ras* que se analizan en un gran metaanálisis en el estudio RASCAL<sup>1</sup>. Este estudio incluye a 2.721 pacientes procedentes de 22 trabajos de 13 países diferentes, lo que lo convierte en una muestra ampliamente representativa. Los resultados de este metaanálisis demuestran un riesgo de recurrencia y muerte significativamente más alto para los pacientes que presentan mutaciones del *k-ras*. Para la existencia de cualquier mutación el riesgo de recurrencia presenta una significación de  $p = 0,001$  y de  $p = 0,004$  para el riesgo de muerte. La mutación específica de la valina en el codón 12 empeora el pronóstico respecto a otras mutaciones también de manera significativa ( $p < 0,007$ ). En nuestra experiencia, aunque existe diferencia, ésta no llega a ser significativa ( $p = 0,07$ ) para cualquier mutación, aunque sí existe diferencia significativa para el estadio II respecto a no tener mutación o tener mutación en aspártico o serina ( $p = 0,03$ )<sup>2</sup>.

También el desequilibrio cromosómico, las pérdidas de heterocigosidad (LOH) en 18q, ha demostrado ser un factor diferencial en diversos estudios. Los tres con mayor número de pacientes demuestran, aunque con porcentajes de LOH diferentes, que la LOH en el estadio II empeora la supervivencia a los 5 años de manera significativa<sup>3-5</sup>. Recientemente se ha publicado un estudio de gran trascendencia<sup>6</sup> en el que se analiza el desequilibrio cromosómico (*allelic imbalance*) en 8p y 18q. El estudio incluye a 180 pacientes sin afectación ganglionar ni metástasis en el momento de la cirugía; por tanto, en estadios I y II de cáncer de colon. Se analiza el desequilibrio alélico de los cromosomas 8p y 18q mediante SNP (*single-nucleotide polymorphism*) y se clasifica a los pacientes según presenten desequilibrio en ninguno, uno o ambos constituyendo los grupos L (dos desequilibrios), L/R (un desequilibrio) y R (ningún desequilibrio). La supervivencia libre de enfermedad a los 5 años es significativamente peor para los pacientes con desequilibrio cromosómico (del 58% para los pacientes del grupo L, del 74% para el grupo L/R y del 100% para los pacientes del grupo R;  $p < 0,0001$ ) (tabla 1). Es de destacar que los pacientes en estadio I del grupo L tienen un pronóstico peor que los pacientes en estadio II del grupo R y se concluye que, en los pacientes sin metástasis, el desequilibrio cromosómico es mejor predictor pronóstico que la clasificación anatomopatológica. A nuestro entender, este estudio da la clave para seleccionar qué pacientes en estadio I o II de cáncer de colon deben ser tratados con quimioterapia adyuvante, aunque desgraciadamente esto está todavía lejos de ser introducido en la práctica habitual.

Otro aspecto es el de la selección del tratamiento más adecuado. Los títulos de expresión de la timidilato sintasa

(TS) se han señalado desde hace años como un factor de mal pronóstico en el CCR y recientemente se ha demostrado su efecto sobre la sensibilidad a 5-FU. Más adelante veremos cómo afecta este factor en la selección del tratamiento de los pacientes afectados de CCR metastático. Su influencia pronóstica en los pacientes tratados con intención curativa y sometidos a tratamiento adyuvante está demostrada. Citamos dos artículos de reciente publicación que vienen a ilustrar el estado actual del tema. Uno con relación al cáncer de recto analiza la importancia del polimorfismo del gen de la TS (véase en el apartado dedicado al cáncer metastático) en el *downstaging* del cáncer de recto tratado con quimiorradioterapia preoperatoria basada en 5-FU, y el otro investiga el valor pronóstico de los títulos de TS en pacientes tratados con quimioterapia adyuvante también basada en 5-FU. En el primer estudio, que incluye a 65 pacientes, se demuestra que los valores altos de TS hacen que el tratamiento preoperatorio no consiga bajar el estadio de la enfermedad (22 frente al 60%), demostrando resistencia a 5-FU<sup>7</sup>. El segundo estudio incluye a 862 pacientes afectados de CCR en estadios B y C de Dukes procedentes de ensayos de quimioterapia adyuvante basada en 5-FU. Los títulos de TS se determinaron por inmunohistoquímica en las muestras de tejido de los tumores. Los resultados demuestran un mejor pronóstico global para los pacientes con valores bajos de TS y se mantiene para los pacientes tratados con cirugía sola ( $p < 0,001$  para el intervalo libre y  $p = 0,001$  para la supervivencia a los 5 años)<sup>8</sup>.

Hoy por hoy el tratamiento adyuvante del cáncer de colon es estándar y uniforme para todos los pacientes con el esquema de la Clínica Mayo de 5-FU bolos con modulación bioquímica con ácido folínico. La superioridad de la poliquimioterapia en el cáncer avanzado ha de demostrarse también en los estudios de quimioterapia adyuvante actualmente en curso. Si esto es así, la selección del tratamiento sobre la base de determinantes moleculares individuales que desarrollaremos a continuación será también aplicable al tratamiento adyuvante.

### Biología molecular y tratamiento individualizado en la enfermedad metastásica

En los últimos 15 años se ha producido un gran avance en el tratamiento del CCR, debido fundamentalmente a tres puntos clave en el desarrollo de la quimioterapia en este tumor: la introducción de la modulación bioquímica; la infusión continua (IC) con altas dosis de 5-FU y la demostración de su superioridad frente al bolos, y sobre todo la introducción de nuevos agentes activos en este tumor, básicamente el oxaliplatino (OXA) y el CPT-11, que han permitido la introducción de la poliquimioterapia y de la segunda línea de tratamiento. Dejando aparte los excelentes resultados de la cirugía de las metástasis hepáticas, en los pacientes con enfermedad diseminada no resecable podemos hablar actualmente de un 40-50% de respuestas con otro tanto de estabilizaciones y una supervivencia de 16-22 meses de mediana con cualquiera de los esquemas de combinación de IC de 5-FU, ya sea con OXA o CPT-11. La optimización del tratamiento para mejorar estos resultados es difícil, y en este sentido la

TABLA 1. Desequilibrio cromosómico 8p y 18q y recurrencia en los estadios I-II del cáncer colorrectal

Desequilibrio	Tipo	N.º de pacientes	SLE 5 a*
Los 2	L	93	58% (47-69)
Uno de 2	L/R	60	74% (61-87)
Ninguno	R	27	100% (80-100)

\* $p < 0,0001$ . L: dos desequilibrios; L/R: un desequilibrio; R: ningún desequilibrio. SLE 5a: supervivencia libre de enfermedad a 5 años.

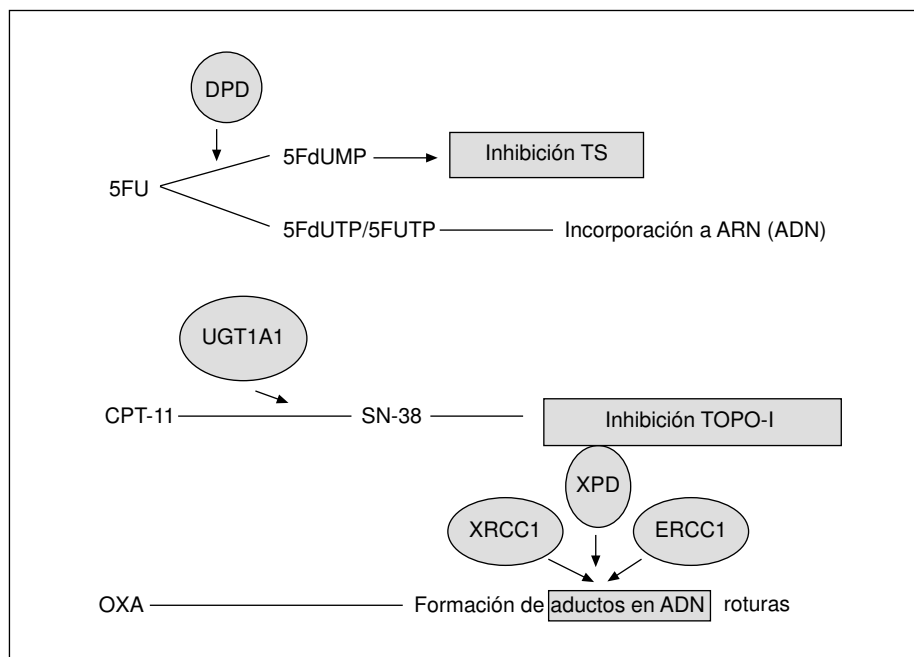


Fig. 2. Mecanismos de acción. TS: timidilato sintasa; OXA: oxaliplatino; DPD: dihidropirimidina deshidrogenasa.

posibilidad de seleccionar el tratamiento según las características del paciente es de gran interés.

En la figura 2 se esquematizan los mecanismos de acción de 5-FU, OXA y CPT-11 con las vías metabólicas más importantes y los genes implicados en ellas.

En el caso del 5-FU el mecanismo más relevante es la inhibición de la TS y en ello están implicadas la propia TS y la dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD), que actúa en la catabolización de las pirimidinas y es la causa del 85% de la desactivación del metabolito activo de 5-FU (FdUMP). Otras enzimas como la dihidrofolatorreductasa (DHFR) o la timidinfosforilasa (TP) también intervienen en la actividad de 5-FU. Variaciones en la expresión o actividad de los genes relacionados originarán distinta respuesta a 5-FU y a los agentes inhibidores de la TS en general. El CPT-11 es un inhibidor de topoisomerasa I (TOPO-I). Su acción la realiza mediante su activación a un metabolito activo, el SN-38. SN-38, a su vez, se inactiva por glucuronidación mediante la acción de la UGT1A1, de la familia de las UDP-glucuronosiltransferasas (UGT), encargadas de la metabolización de la mayoría de los fármacos. Un déficit de UGT1A1 conduce a una disminución en la inactivación de SN-38 y, por tanto, a una exposición más prolongada, lo que lleva a una respuesta distinta de la acción de CPT-11, básicamente un incremento de toxicidad, como veremos más adelante. El OXA, como todos los derivados platinados, actúa en el ADN produciendo aductos que impedirán la duplicación. En este caso van a competir todas las vías de reparación de ADN a través de la activación de diversos genes: el *ERCC1* (excision repair crosscomplementing 1), que actúa por la vía del NER (nucleotide excision repair) y que constituye el eje de la preservación de ADN ante el ataque de los derivados platinados y cualquier otro agente tóxico; el *XPD* (xeroderma pigmentosum clase D) o *ERCC2* y *XPF* son de gran interés; el *XRCC1*, que actúa

por la vía del *BER* (base excision repair) y que se relaciona muy directamente con la actividad de OXA, y el *XRCC3*, que actúa en la vía de *DSBR* (double strand break repair). Todos ellos van a actuar reparando el daño inducido por los agentes tóxicos e induciendo la apoptosis celular si no son capaces de repararlo. Una alteración en su funcionamiento lleva a una mayor actividad del agente tóxico, los derivados platinados en el caso que nos ocupa. Se sabe que los individuos con déficit en los sistemas de reparación de la ADN son más susceptibles a padecer cáncer mientras que, cuando lo padecen, son más sensibles al tratamiento. Todos estos genes conforman un conjunto de factores que modifican la actividad de los citostáticos activos en el CCR.

#### Determinantes individuales de sensibilidad/toxicidad o resistencia a citostáticos en el cáncer colorrectal

En el apartado anterior hemos descrito las vías más importantes por las que actúan los citostáticos con indicación en el CCR y los genes implicados en ellas. Con ello podemos configurar una serie de factores genéticos o moleculares que pueden permitir una selección del fármaco con más actividad de manera individualizada para cada paciente en razón del estado de dichos genes. Para ello disponemos del análisis de la expresión de genes y de la determinación de los llamados polimorfismos genéticos. Un polimorfismo genético consiste en una variante genética frecuente en la población (> 1%) que, a diferencia de la mutación, que es muy poco frecuente (< 1%), no constituye patología, pero puede modificar la función de la proteína para la que el gen está codificando. La existencia de polimorfismos genéticos en los genes implicados en la actividad de 5-FU y otros inhibidores de la TS, el CPT-11 y el OXA abre un interesante campo para

la selección del tratamiento. Así, se puede distinguir dos tipos de determinantes individuales relacionados específicamente con los citostáticos en el CCR: la sobreexpresión de determinados genes y la existencia de polimorfismos genéticos (tabla 2).

**Expresión de genes.** La relación entre los títulos de expresión de la TS tumoral y la respuesta al tratamiento con 5-FU ha sido ampliamente demostrada. Lenz et al<sup>9</sup> demostraron en 57 pacientes afectados de adenocarcinoma gástrico que la respuesta al tratamiento con 5-FU y la supervivencia están relacionadas con los títulos de expresión del ARNm de la TS. La mediana del ARNm de la TS en los tumores de pacientes que respondían era de  $2,3 \times 10^{-3}$ , mientras que en enfermos que no respondían la mediana era de  $6,8 \times 10^{-3}$ , diferencia que era estadísticamente significativa. Estos mismos autores han estudiado los valores de ARNm de la TS en el CCR avanzado en tratamiento de infusión continua de 5-FU demostrando, al igual que en el caso anterior, la relación entre los títulos de expresión y la respuesta al tratamiento<sup>10,11</sup>.

Otros estudios se han centrado en el grado de actividad y expresión del gen dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD). En un estudio realizado por el grupo de Lenz<sup>12</sup> se analizaron al mismo tiempo los valores del ARNm de la TS y DPD en enfermos afectados de neoplasia colorrectal. Se demostró que todos los que respondieron al tratamiento con 5-FU presentaban títulos bajos de TS o DPD, de manera que estos dos factores tienen un valor predictivo de respuesta a este tipo de tratamiento. También es de gran importancia la demostración del incremento de la toxicidad a 5-FU generado por el déficit de DPD y que explica los casos de toxicidad grave con la administración de este fármaco<sup>13</sup>.

La expresión de ERCC1 está en relación con la respuesta al tratamiento con derivados platinados como el OXA. Ya se ha comentado la importancia que tiene este gen en la reparación del daño inducido al ADN. La resistencia al cisplatino originada por la sobreexpresión de este gen ya fue demostrada en cáncer gástrico por el grupo de Lenz<sup>14</sup>. En un reciente trabajo, también del mismo grupo<sup>15</sup>, se analiza la expresión de ERCC1 y TS, así como la respuesta al tratamiento en 50 pacientes afectados de CCR metastático tratados con 5-FU y OXA en segunda línea de tratamiento al fallo a 5-FU + CPT-11. Se demuestra que los valores bajos de TS van ligados a una mejor respuesta y supervivencia, con un 75% de respuesta objetiva (RO) frente al 25% ( $p = 0,02$ ) y 10,2 frente a 1,5 meses de supervivencia mediana ( $p < 0,001$ ). Respecto a ERCC1 se demuestra diferencia únicamente en la supervivencia, que es superponible a la obtenida según la TS ( $p < 0,001$ ). Cuando se realiza el análisis combinando de los dos factores moleculares, existe diferencia significativa en la supervivencia respecto a tener los dos bajos frente a las otras posibles combinaciones.

**Polimorfismos genéticos.** Los polimorfismos genéticos son, como ya se ha dicho, variaciones en la estructura del gen, generalmente en la zona promotora. Se trata de variaciones germinales y, por tanto, forman parte de la estructura genética del individuo, de manera que no se modifican a lo largo de la vida ni por efecto de los tratamientos. Al ser cambios en el ADN genómico, su análisis se puede realizar a partir de una muestra de sangre con

TABLA 2. Determinantes individuales relacionados con la quimioterapia

	Expresión de genes	Polimorfismos
5-FU/inhibidores TS	TS	
DPD	TS	
CPT-11	-	UGT1A1
OXA	ERCC1	XRCC1
		XPB (ERCC2)

TS: timidilato sintasa; DPD: dihidropirimidina deshidrogenasa; OXA: oxaliplatino.

extracción de ADN de los linfocitos, lo que simplifica muchísimo la metodología de la obtención de muestras y se desprende de la necesidad de realizar biopsias. En la mayoría de los casos se correlacionan con la expresión del gen y sobre todo con la conservación de la función o no de la proteína. Es por ello que consideramos que representan un campo de sumo interés en el camino de la selección del tratamiento por paciente.

**Polimorfismos de TS.** El gen de la TS presenta un polimorfismo en la zona promotora consistente en doble o triple tándem de repetición de 28 pares de bases. Los individuos pueden tener doble repetición en los dos alelos y ser homocigotos para dos repeticiones; triple repetición en los dos alelos y ser homocigotos para tres repeticiones, o tener dos y tres repeticiones y ser heterocigotos. Dado el elevado número de repeticiones que hacen que el peso molecular (PM) sea notablemente distinto, la separación de las distintas formas de polimorfismo se puede hacer mediante electroforesis (fig. 3). Estudios *in vitro* han demostrado que la triple repetición en los dos alelos comporta valores de hasta 2,6 más altos de TS que para los homocigotos para dos repeticiones<sup>16</sup>. Según el polimorfismo de la TS, pues, los pacientes homocigotos para dos repeticiones serían más sensibles a 5-FU, mientras que los homocigotos para tres repeticiones serían resistentes. Este hecho se ha demostrado en estudios clínicos. También el grupo de Lenz desarrolló un estudio cuyos resultados<sup>17,18</sup> prueban que, *in vivo*, las concentraciones de TS para los pacientes homocigotos para tres repeticiones (3/3) alcanzan cifras 3,6 veces superiores a las de los homocigotos para dos repeticiones (2/2). Esto se traduce en un índice de respuestas del 9% para los 3/3 frente al 50% para los 2/2; las respuestas para los heterocigotos es de 15% ( $p = 0,04$ ). Estos resultados son similares a los de Marsh et al, quienes con 24 pacientes refieren fallo de respuesta en el 40% de los 3/3 frente al 22% para los 2/2, con diferencia también en la supervi-

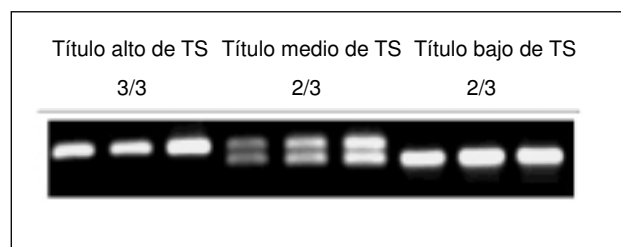


Fig. 3. Análisis del polimorfismo del gen de la timidilato sintasa (TS).

vencia de dos meses sin alcanzar diferencias significativas<sup>19</sup>. El mismo grupo analiza la relación del polimorfismo de la TS y la respuesta al tratamiento con otro inhibidor de la TS, la capecitabina, en 22 pacientes y obtienen un 80% de respuestas para los 2/2 y tan sólo el 14% para los 3/3 ( $p = 0,02$ )<sup>20</sup>. En nuestra experiencia en un grupo de pacientes que recibieron tratamiento de segunda línea con 5-FU + CPT-11, no encontramos diferencias en la respuesta al tratamiento respecto al polimorfismo de TS con tres respuestas y una progresión para los 3/3 y una respuesta y una progresión para los 2/2 en un total de 5 respuestas de los 21 pacientes (24%)<sup>21</sup>. Al tratarse de segunda línea de tratamiento y poliquimioterapia es posible que el factor molecular con relación a la respuesta a 5-FU pierda potencia.

De los resultados obtenidos hasta ahora, el polimorfismo del gen de la TS parece asociado a la respuesta al tratamiento con 5-FU de manera significativa.

**Polimorfismo de UGT1A1.** Como ya se ha dicho, CPT-11 se metaboliza a SN-38 para actuar inhibiendo a TOPO-I. El SN-38 es desactivado por glucuronidación y excreción por acción de *UGT1A1*. El déficit en la actividad de *UGT1A1* irá ligado a una mayor exposición de SN-38. Se ha descrito también un polimorfismo en la zona promotora, la región llamada TATA box del gen de *UGT1A1*. Este polimorfismo consiste en una variación en el número de repeticiones del dinucleótido TA que varía de 5 a 8. En la población caucásica se limitan a 6 o 7, y la forma normal es la homocigota para 6 repeticiones (6/6). Basándose en estudios funcionales se ha demostrado que la actividad del gen es inversamente proporcional al número de repeticiones. La presencia de 7 repeticiones en uno de los dos alelos se asocia a una disminución de la actividad de *UGT1A1*. En este caso, debido al pequeño número de repeticiones, las diferentes formas del gen no pueden separarse por electroforesis y es necesaria la secuenciación para determinar el tipo de polimorfismo (fig. 4). La frecuencia en la población española es del 43% de homocigotos para 6 repeticiones (6/6), del 49% para los heterocigotos y de sólo el 8% para homocigotos con 7 repeticiones (7/7) (Martínez E, Abad A, et al, comunicación personal, 2000). La relación de este polimorfismo con la aparición de toxicidad en pacientes tratados con CPT-11 se ha demostrado en la clínica. El estudio más importante<sup>22</sup> incluye a 118 pacientes afectados de CCR avanzado tratados con CPT-11. La to-

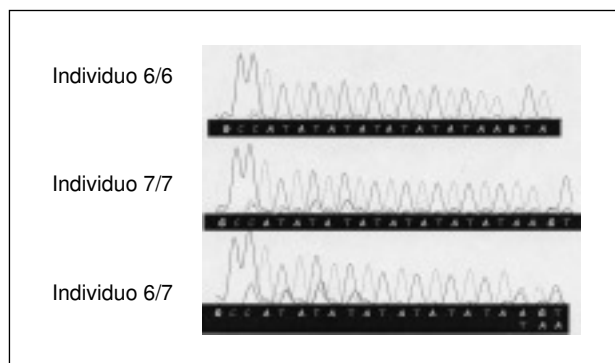


Fig. 4. Análisis del polimorfismo del gen *UGT1A1*.

xicidad grados 3-4 tanto hematológica como de diarreas fue significativamente más alta para los pacientes con déficit de *UGT1A1*, los homocigotos para 7 repeticiones y también para los heterocigotos, con un 54 y un 31% de los 26 pacientes que la presentaron, frente al 15% para los homocigotos 6/6 ( $p = 0,001$ ). En nuestra experiencia (Abad et al, *Perspectives in colorectal cancer*, Dublín 2001), aunque sin alcanzar significación estadística, la toxicidad grados 3-4 en un grupo de 21 pacientes tratados con 5-FU + CPT-11 fue más elevada, con un 55% de diarreas para los pacientes con 7 repeticiones en algún alelo (5 de 9) frente al 33% para los homocigotos 6/6 (4 de 12). Los resultados hasta el momento indican claramente un riesgo de toxicidad grave con relación al polimorfismo 7/7 de *UGT1A1* en los pacientes tratados con CPT-11, sin que existan datos respecto a su influencia en los resultados del tratamiento.

**Polimorfismo XRCC1.** El OXA, al igual que todos los derivados platinados, ejerce su acción citotóxica dañando al ADN. En los mecanismos de reparación de ADN interviene el gen *XRCC1*, perteneciente al sistema *BER*, descrito anteriormente. Se ha descrito en este gen un polimorfismo que modifica la eficiencia reparadora de *XRCC1*. En este caso, el polimorfismo consiste en un cambio de una base en el codón 399 del exón 10 del gen. Se considera normal y por tanto, con la función reparadora correcta el polimorfismo arginina/arginina. El cambio consiste en la sustitución de una o las dos guaninas por adenina (ag), de manera que tendremos glutamina/arginina o adenina en los dos alelos (aa) glutamina/glutamina. Recordemos que la acción de *XRCC1* es reparar el daño producido en el ADN y la inducción de apoptosis si no puede repararlo. El daño inducido por OXA no es reparable y en condiciones de normalidad de *XRCC1* se induce la apoptosis y la célula muere, lo que se traduce en sensibilidad a OXA. Cuando la función está disminuida por la existencia de alguno de los polimorfismos, el daño no se repara, pero *XRCC1* no es capaz de inducir la apoptosis, por lo que la célula prolifera, lo cual se corresponde con resistencia a OXA. De nuevo el grupo de Lenz analiza los resultados del tratamiento con 5-FU + OXA en dos trabajos. El primero<sup>23</sup> incluye a 45 pacientes tratados en segunda línea de quimioterapia. La RO para los pacientes con *XRCC1* normal (aa) es del 83% (5 de 6) y del 33% para los pacientes con un cambio en algún alelo. Si se analizan por progresiones, las diferencias son del 22% para (aa), del 44% para (ag) y del 33% para los pacientes (gg). La supervivencia es de 11,2 meses para los (gg) y de 8,5 para los (aa). En el segundo trabajo<sup>24</sup> se analiza a 61 pacientes en primera línea de tratamiento con 5-FU + OXA. Aunque la respuesta global es muy baja (del 18%, lo que no refleja los resultados alcanzables actualmente en el tratamiento del CCR metastático), el análisis de las respuestas demuestra una clara superioridad para los pacientes con *XRCC1* normal (gg) o arg/arg con un 73% de RO frente al 27% para los pacientes con algún cambio. El 66% de los que no presentaron respuesta eran heterocigotos o homocigotos para (aa) o gln/gln, lo que significa un riesgo 5,2 veces mayor de fallar al tratamiento ( $p = 0,03$ ).

**Polimorfismo XPD.** El gen del *xeroderma pigmentosum* de la clase D (*XPD*) es otro miembro importante del sistema de reparación de ADN. Este gen presenta polimor-

fismos en tres posiciones, que son: C156A, llamada XPD156; Asp312Asn, llamada XPD312, y la que tiene por el momento más importancia clínica, Lys751Gln, llamada XPD751. Se trata de un cambio en un aminoácido (*single nucleotide polymorphism*). En el caso de XPD751, el genotipo Lys/Lys se considera la forma normal y por tanto debe mantener el sistema de reparación intacto. El polimorfismo consiste en el cambio de una Lys por Gln o en la sustitución de las dos Lys por Gln. Si bien la lógica indica que la presencia de un polimorfismo debería conducir a un déficit de reparación, los estudios hasta el momento son contradictorios<sup>25,26</sup>. También en este caso Lenz et al desarrollaron un estudio que incluye a 73 pacientes y en el que analizan la RO y la supervivencia con relación a los tres polimorfismos descritos<sup>27</sup>. No encuentran ninguna influencia en los polimorfismos XPD156 ni XPD 312. El análisis del polimorfismo XPD751, sin embargo, es de gran interés. Los pacientes son previamente tratados con 5-FU o CPT-11 y reciben segunda línea de tratamiento con 5-FU + OXA. En este caso la RO y la supervivencia son significativamente mejores para los pacientes con el sistema de reparación normal. Así, los pacientes Lys/Lys presentaron un 24% de respuestas frente al 10% para los demás grupos ( $p = 0,015$ ). La supervivencia fue de 17,4 meses para la forma Lys/Lys, de 12,8 para los heterocigotos y de tan sólo 3,3 meses para los homocigotos Gln/Gln ( $p = 0,002$ ).

También los resultados acumulados hasta el momento respecto a los genes implicados en la reparación del ADN, tanto *XRCC1* como *XPD (ERCC2)*, indican una clara relación entre sus polimorfismos y la respuesta al tratamiento.

## Consideraciones finales

En este capítulo hemos revisado los datos tanto conceptuales como de resultados comunicados hasta el momento. Queremos añadir para finalizar que es necesario señalar que la práctica totalidad de los estudios con resultados positivos provienen del mismo grupo de trabajo y que no se encuentran trabajos procedentes de otros grupos, por lo que es necesario confirmar estos resultados. No obstante, la experiencia acumulada hasta ahora indica que la determinación de los polimorfismos genéticos y otros marcadores, como la expresión de determinados genes, permite la selección de la combinación óptima de citostáticos para cada paciente y, por tanto, la individualización del tratamiento con quimioterapia no tan sólo en el CCR, sino en los pacientes neoplásicos en general. Es éste un camino de futuro en el que debemos poner el máximo esfuerzo para diseñar ensayos clínicos comparativos con la potencia necesaria para alcanzar conclusiones con evidencia de primer orden.

## Bibliografía

1. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, Oates JR, Clarke PA. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: the multicenter RASCAL study. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:675-84.
2. Font A, Abad A, Monzó M, Sánchez JJ, Guillot M, Manzano JL, et al. Prognostic value of *k-ras* mutations and allelic imbalance on ch-

- romosome 18q in patients with resected colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2001;44:549-57.
3. Jen J, Kim H, Piantadosi S, Liu ZF, Levitt RC, Sistonen P, et al. Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994;331:213-21.
4. Ogunbiyi OA, Goodfellow PJ, Herfarth K, Gagliardi G, Swanson PE, Birnbaum EH, et al. Confirmation that chromosome 18q allelic loss in colorectal cancer is a prognostic indicator. *J Clin Oncol* 1998; 16:427-33.
5. Martínez-López E, Abad A, Font A, Monzó M, Ojanguren I, Pifarre A. Allelic loss on chromosome 18q as a prognostic marker in stage II colorectal cancer. *Gastroenterology* 1998;114:1180-7.
6. Zhou W, Goodman SN, Galizia G, Lieto E, Ferraraccio F, Pignatelli C, et al. Counting alleles to predict recurrence of early-stage colorectal cancers. *Lancet* 2002;359:219-25.
7. Villafranca E, Okruzhnov Y, Domínguez MA, García-Foncillas J, Azinovic I, Martínez E, et al. Polymorphisms of the repeat sequences in the enhancer region of the thymidylate Synthase gene promoter may predict downstaging after preoperative chemoradiation in rectal cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:1779-86.
8. Edler D, Glimelius B, Hallström M, Jakobsen A, Johnston PG, Magnusson I, et al. Thymidylate synthase expression in colorectal cancer: a prognostic and predictive marker of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2002;20:1721-8.
9. Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Groshen S, Cohen H, et al. Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach: a predictor for primary tumor response and overall survival. *J Clin Oncol* 1996;14:176-82.
10. 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;15:3223-9.
11. Lenz HJ, Hayashi K, Salonga D, Danenberg KD, Danenberg PV, Metzger R, et al. P53 point mutation and thymidylate synthase messenger mRNA levels in disseminated colorectal cancer: an analysis of response and survival. *Clin Cancer Res* 1998;4:1243-50.
12. Danenberg K, Salonga D, Park MJ, Leichman CG, Johnson M, Diasio R, et al. Dihydropyrimidine dehydrogenase and thymidylate synthase gene expression identify a high percentage of colorectal tumors responding to fluorouracil. *Proc Am Asc Clin Oncol* 1998; 17:258.
13. 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 Can Res* 2001;7:1149-53.
14. Metzger R, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Lenz HJ, Hayashi K, et al. *ERCC1* mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 1998;16:309-16.
15. Shirota 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;19:4298-304.
16. Horie N, Aiba H, Oguro K, Hojo H, Takeishi K. Functional analysis and DNA polymorphism of the tandemly repeated sequences in the 5-terminal regulatory region of the human gene for thymidylate synthase. *Cell Struc Funct* 1995;20:191-7.
17. Pullarkat ST, Ghaderi V, Ingles SA, Xiong Y, Chen P, Stoehlmacher J, et al. Human thymidylate synthase gene polymorphism determines response to 5-FU chemotherapy. *Proc Am Asc Clin Oncol* 2000;19:942.
18. Pullarkat ST, Stoehlmacher J, Ghaderi V, Xiong YP, Ingles SA, Sherrod A, et al. Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and toxicity of 5-FU chemotherapy. *Pharmacogenomics J* 2001;1:65-70.
19. Marsh S, McKay JA, Cassidy J, and McLeod HL. Polymorphism in the thymidylate synthase promoter enhancer region in colorectal cancer. *Int J Oncol* 2001;19:383-6.
20. Park DJ, Stoehlmacher J, Zhang W, Groshen S, Lenz H, et al. Human thymidylate synthase polymorphism determines response to capecitabine chemotherapy in advanced colorectal cancer. *Proc Am Asc Clin Oncol* 2001;20:514.
21. Abad A, Margeli M, Martínez E, Barnadas A, Guillot M, Font A, et

- al. Loss of predictive value of thymidylate synthase gene polymorphism for 5-FU based polychemotherapy response. Proc Am Asc Clin Oncol 2001;20:3284.
22. Ando Y, Saka H, Ando M, Sawa T, Muro K, Ueoka H, et al. Polymorphisms of UDP-glucuronosyltransferase gene and irinotecan toxicity: a pharmacogenetic analysis. Cancer Res 2000;60:6921-6.
23. Stoecklacher J, Ghaderi V, Groshen S, Tsao-Wei D, Lenz HJ. The role of the *XRCC1* gene in platinum based treatment of advanced colorectal cancer. Proc Am Asc Cancer Res 2001;42:3750.
24. Stoecklacher J, Ghaderi V, Iobal S, Groshen S, Tsao-Wei D, Park D, et al. A polymorphism of the *XRCC1* gene predicts for response to platinum based treatment in advanced colorectal cancer. Anticancer Res 2001;21:3075-9.
25. Lunn RM, Helzlsouer KJ, Parshad R, Umbach DM, Harris EL, Sanford KK, et al. A *XPB* polymorphism effects on DNA repair proficiency. Carcinogenesis 2000;21:551-5.
26. Spitz MR, Wu X, Wang Y, Wang LE, Shete S, Amos CI, et al. Modulation of nucleotide excision repair capacity by *XPB* polymorphisms in lung cancer patients. Cancer Res 2000;61:1354-7.
27. Park DJ, Stoecklacher J, Zhang W, Tsao-Wei DD, Groshen S, Lenz HJ. A *xeroderma pigmentosum group D* gene polymorphism predicts clinical outcome to platinum-based chemotherapy in patients



with advanced colorectal cancer. Cancer Res 2001;61: 8654-8