

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE FARMACIA

**Programa Oficial de Doctorado en Medicina Clínica y Salud Pública
Línea de investigación Farmacogenética**



**MARCADORES GENÉTICOS RELACIONADOS CON LA
CARDIOTOXICIDAD INDUCIDA POR TRASTUZUMAB
EN CÁNCER DE MAMA Y PREDICTIVOS DE LA
EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD**

Tesis doctoral para aspirar al grado de doctor presentada por

Celia Gómez Peña

Bajo la dirección de los Doctores

Cristina Lucía Dávila Fajardo
María Isabel Blancas López-Barajas
Julio Juan Gálvez Peralta

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales

Autora: Celia Gómez Peña

ISBN: 978-84-9163-202-3

URI: <http://hdl.handle.net/10481/46427>



Universidad de Granada

Departamento de Farmacología

La doctoranda Celia Gómez Peña y los directores de la tesis Cristina Lucía Dávila Fajardo, María Isabel Blancas López-Barajas y Julio Juan Gálvez Peralta, garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por la doctoranda bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, de Diciembre de 2016

Director/es de la Tesis

Doctoranda

Fdo.: Cristina Lucía Dávila Fajardo

Fdo.: Celia Gómez Peña

Fdo.: María Isabel Blancas López-Barajas

Fdo.: Julio Juan Gálvez Peralta

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

A: Adenina

AC: Adriamicina-Ciclofosfamida

AJCC: American Joint Committee on Cancer

Arg: Arginina

ASCO: American Society of Clinical Oncology

ATM: Gen ataxia telangiectasia mutado

ATP: Adenosin trifosfato

BRCA1 y 2: Breast cancer gene 1 y 2

C: Citosina

CCDA: Citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo

CCR2 y CCR5: Receptores 2 y 5 de quimiocinas

CDI: Carcinoma ductal infiltrante

CI: Consentimiento Informado

CISH: Hibridación cromogénica in situ

DAE: Diraya Atención Especializada

DNA (ó ADN): Ácido desoxirribonucleico

ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group

EE: Enfermedad estable

EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico

ELISA: Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas

EMA: European Medicines Agency

ESMO: European Society for Medical Oncology

ErbB2: Gen que codifica para el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano

FcγR: Receptor Fc (Fragment Crystallizable Region) gamma

FcγR2A: Gen que codifica para la proteína FcγR IIA

FcγR2A: Gen que codifica para la proteína FcγR IIIA

FDA: Food and Drug Administration

FEC: Fluorouracilo-Epirubicina-Ciclofosfamida.

FEVI: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo

FISH: Hibridación in situ con fluorescencia

G: Guanina

GATA4: Factor de transcripción de la familia GATA

H: Trastuzumab

HER: Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano

HER2: Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano

HER2/neu: Sinónimo de ErbB2

His: Histidina

IC: Intervalo de confianza

ICC: Insuficiencia cardíaca congestiva

IgG: Inmunoglobulina G

IHQ: Inmunohistoquímica

Ile: Isoleucina

kD: kiloDalton

Ki-67: Antígeno asociado a proliferación celular

MAPK: Proteína quinasa activada por mitógenos

MUGA: Ventriculografía isotópica

NFQ: apagador o aceptor (quencher) no fluorescente

NK: Natural killer

NYHA: New York Heart Association

OR: Odds ratio

P: Paclitaxel

P53: Gen de la proteína anti-oncogénica supresora de tumores

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PE: Progresión de la enfermedad

Phe: Fenilalanina

PI3K: Fosfatidilinositol-3-quinasa

PRNP: Proteína priónica

PTEN: Gen homólogo de la fosfatasa y tensina

qPCR: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa

QT: Quimioterapia

RC: Respuesta completa

RcE: Receptor de estrógenos

RcP: Receptor de progesterona

RECIST: Response Evaluation Criteria In Solid Tumors

RNA_m (ó mRNA): Ácido ribonucleico mensajero

ROS: Especies reactivas de oxígeno

RP: Respuesta parcial

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

SG: Supervivencia global

SLE: Supervivencia libre de enfermedad

SLP: Supervivencia libre de progresión

SLR: Supervivencia libre de recaída

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido

T: Docetaxel

T-DM1: Trastuzumab-Emtansina

T0N1: Estadio IA de clasificación TNM

TCH: Docetaxel-Carboplatino-Trastuzumab

TH: Docetaxel-Trastuzumab

TKI: Inhibidor tirosin-quinasa

TNM: Clasificación Tumor-Gánglios-Metástasis

TRO: Tasa de respuesta objetiva

TTP: Time hasta progresión

Val: Valina

V: Vinorelbina

VIH-1: Virus de la inmunodeficiencia humana tipo I

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	5
1. CÁNCER DE MAMA	7
1.1. EPIDEMIOLOGÍA E IMPORTANCIA CLÍNICA	7
1.2. ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO	8
1.3. CLASIFICACIÓN, PARÁMETROS PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS	10
1.4. CÁNCER DE MAMA HER2 POSITIVO	15
1.4.1. Determinación del estado HER2 y utilidad clínica	17
1.4.2. Tratamiento del cáncer de mama HER2 positivo: Trastuzumab.....	18
2. CARDIOTOXICIDAD ASOCIADA A TRASTUZUMAB	23
2.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN CARDIACA	23
2.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN CARDIACA	26
2.3. FACTORES DE RIESGO DE TOXICIDAD CARDIACA	27
2.4. MONITORIZACIÓN DE LA FUNCIÓN CARDIACA	29
3. FARMACOGENÉTICA DEL TRASTUZUMAB.....	30
3.1. CONCEPTOS GENERALES	30
3.2. POLIMORFISMO DEL GEN HER2/NEU.....	32
3.3. POLIMORFISMOS DE LOS GENES FcγR.....	34
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	37
1. HIPÓTESIS.....	41
2. OBJETIVOS.....	41
2.1. OBJETIVO PRINCIPAL.....	41
2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	41

MATERIAL Y MÉTODOS	45
1. DISEÑO DEL ESTUDIO	47
2. POBLACIÓN Y PERIODO DE ESTUDIO	47
2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	47
2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	47
3. TAMAÑO DE MUESTRA.....	48
4. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES	48
4.1. VARIABLES DE RESULTADO O DEPENDIENTES.....	48
4.1.1. Relacionadas con cardiotoxicidad.....	48
4.1.2. Relacionadas con la evolución.....	49
4.1.2.1. Pacientes no metastásicas.....	49
4.1.2.2. Pacientes metastásicas.....	49
4.2. VARIABLES INDEPENDIENTES	50
4.2.1. Socio-demográficas.....	50
4.2.2. Relativas a la enfermedad	52
4.2.3. Relativas al tratamiento.....	54
4.2.4. Genéticas	55
5. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO	56
5.1. RECOGIDA DE LA MUESTRA	56
5.2. SECUENCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS.....	56
5.2.1. Tecnología TaqMan®	57
5.2.2. Detección de SNPs	58
5.3. OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN	61
5.3.1. Variables socio-demográficas y relativas a la enfermedad.....	61
5.3.2. Variables relativas al tratamiento.....	62
5.3.3. Variables relacionadas con cardiotoxicidad.....	62
5.3.4. Variables relacionadas con la evolución	63
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	63

7. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES	65
RESULTADOS.....	69
1. RESULTADOS RELACIONADOS CON LA CARDIOTOXICIDAD	71
1.1. CARACTERÍSTICAS BASALES Y FRECUENCIAS GENOTÍPICAS	71
1.2. TOXICIDAD CARDIACA: CARACTERÍSTICAS Y FACTORES DE RIESGO.....	73
1.3. ASOCIACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO HER2-ILE655VAL Y CARDIOTOXICIDAD	76
1.3.1. Resultados en población de estudio.....	76
1.3.2. Resultados metaanálisis	79
2. RESULTADOS RELACIONADOS CON LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD	82
2.1. CARACTERÍSTICAS BASALES Y FRECUENCIAS GENOTÍPICAS	82
2.1.1. Pacientes no metastásicas.....	83
2.1.2. Pacientes metastásicas	84
2.2. ASOCIACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS FcyR2A-His131Arg Y FcyR3A-Val158Phe Y EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD	85
2.2.1. Pacientes no metastásicas.....	85
2.2.1.1. Análisis de supervivencia.....	85
2.2.2. Pacientes metastásicas	90
2.2.2.1. Análisis de supervivencia.....	90
2.2.2.2. Respuesta al tratamiento en pacientes metastásicas	95
DISCUSIÓN.....	99
CONCLUSIONES	115
BIBLIOGRAFÍA.....	121
ANEXOS.....	145
Anexo I. Consentimiento Informado.....	147
Anexo II. Aprobación del Comité Ético y de Investigación Clínica	151

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Incidencia de toxicidad y mortalidad cardiaca en los ensayos de trastuzumab en adyuvancia.....	24
Tabla 2. Características basales de las pacientes. Comparación según genotipo HER2-Ile655Val.....	72
Tabla 3. Frecuencias genotípicas del polimorfismo HER2-Ile655Val de la muestra de estudio y población control de Granada.	73
Tabla 4. Características clínicas de las pacientes con cardiotoxicidad y evolución durante el tratamiento.....	74
Tabla 5. Análisis bivariante de posibles factores de riesgo cardiaco.	75
Tabla 6. Análisis del riesgo de cardiotoxicidad asociada al tratamiento con trastuzumab de las variantes genéticas del polimorfismo HER2-Ile655Val en función del modelo de herencia.....	77
Tabla 7. Análisis multivariante de variables independientes con significación estadística en el análisis bivariante, clínicamente relevantes y factores de confusión con respecto a la cardiotoxicidad. Punto inicial.....	78
Tabla 8. Análisis multivariante de variables independientes con significación estadística en el análisis bivariante, clínicamente relevantes y factores de confusión con respecto a la cardiotoxicidad. Punto final.....	79
Tabla 9. Metaanálisis de estudios publicados que relacionan el polimorfismo HER2-Ile655Val con cardiotoxicidad en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo tratadas con trastuzumab.....	81

Tabla 10. Características basales de las pacientes no metastásicas y metastásicas incluidas en el subestudio de evolución de la enfermedad.....	83
Tabla 11. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe en pacientes metastásicas y no metastásicas.	83
Tabla 12. Tipos de respuesta clínica según criterios RECIST en función de los genotipos de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe.....	96
Tabla 13. Análisis de asociación entre los genotipos de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe y la TRO.	96
Tabla 14. Estudios publicados en relación a los polimorfismos en FcγR y la respuesta a trastuzumab	109

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tasas de incidencia de cáncer de mama estandarizadas por edad en el mundo. Casos/100.000 mujeres-año. <i>GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer</i>	7
Figura 2. Indicadores del estado de HER2: mutaciones del gen y sobreexpresión de la proteína.....	16
Figura 3. Fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento del cáncer de mama HER2 positivo y agentes en investigación	19
Figura 4. Representación paso a paso del proceso del ensayo exonucleasa 5' de las sondas TaqMan® MGB que tiene lugar en cada ciclo durante la amplificación por PCR ("TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix (2X)," 2011).....	58
Figura 5. Emisión de fluorescencia VIC® debido a que el individuo es homocigoto para el alelo C.....	59
Figura 6. Emisión de fluorescencia FAM® debido a que el individuo es homocigoto para el alelo T.	59
Figura 7. Emisión de fluorescencia VIC® y FAM™ debido a que el individuo es heterocigoto (TC).	60
Figura 8. Datos de fluorescencia obtenidos en la lectura final en un grupo de muestras. Los puntos azules, próximos al eje de coordenadas, y los puntos rojos, próximos al eje de abscisas, son cada uno de los homocigotos. Los puntos verdes son los heterocigotos.....	60
Figura 9. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas.	78

Figura 10. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a los distintos genotipos del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.	79
Figura 11. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación al genotipo H/H versus H/R + R/R del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.	79
Figura 12. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a portadoras del alelo H (H/H + H/R) versus R/R del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.	80
Figura 13. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a los distintos genotipos del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe.	81
Figura 14. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación al genotipo V/V versus V/F + F/F del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe.	81
Figura 15. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a portadoras del alelo V (V/V + V/F) versus F/F del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe.	82
Figura 16. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a la combinación de los genotipos H/H y/o V/V versus el resto de los genotipos de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe.	83
Figura 17. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas.	83

Figura 18. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a los distintos genotipos del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.	84
Figura 19. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación al genotipo H/H versus H/R + R/R del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.	84
Figura 20. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a portadoras del alelo H (H/H + H/R) versus R/R del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.	85
Figura 21. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a los distintos genotipos del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe.	85
Figura 22. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación al genotipo V/V versus V/F + F/F del polimorfismo FcγR3A-Val131Phe.	86
Figura 23. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a portadoras del alelo V (V/V + V/F) versus F/F del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe.	86
Figura 24. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a la combinación de los genotipos H/H y/o V/V versus el resto de los genotipos de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe.	87

RESUMEN

El cáncer de mama es una enfermedad compleja, heterogénea y multifactorial, en la que intervienen tanto factores genéticos como no genéticos. Aproximadamente el 15-20% de estos tumores son de tipo HER2 positivo, y se denominan así porque tienen el gen HER2/neu amplificado. HER2/neu es un protooncogen que codifica para una proteína transmembrana con actividad tirosin quinasa llamada HER2. Trastuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que actúa uniéndose con alta afinidad y especificidad al dominio extracelular de esta proteína produciendo la regresión de tumores que sobreexpresan HER2. Su uso está aprobado para el tratamiento del cáncer de mama HER2 positivo y, aunque generalmente es bien tolerado, puede producir en algunos casos cardiotoxicidad como efecto adverso.

Los estudios publicados hasta la fecha relacionan la toxicidad cardiaca del trastuzumab con determinados factores de riesgo como son la obesidad, edad avanzada, diabetes mellitus o enfermedad cardiaca previa, entre otros. Sin embargo, la influencia de factores farmacogenéticos sobre la aparición de eventos cardiacos permanece aún por demostrar. En este contexto se ha propuesto el polimorfismo en el codón 655 del gen HER2/neu como un posible predictor de la cardiotoxicidad producida por trastuzumab en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo.

Por otro lado, la variabilidad en la respuesta al tratamiento con trastuzumab también ha sido estudiada bajo la influencia de dos polimorfismos en los genes que codifican para Fc γ R2A y Fc γ R3A. Estos son una familia de receptores que se unen a las inmunoglobulinas desencadenando una amplia gama de respuestas biológicas, que incluyen la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA), uno de los principales mecanismos de acción de trastuzumab. Las variantes genéticas de estos polimorfismos confieren distintas propiedades funcionales a los receptores, que

afectan a la afinidad con que se unen a ellos las inmunoglobulinas, de manera que podrían utilizarse como potenciales biomarcadores de respuesta al fármaco.

Por todo ello, el objetivo de la presente Tesis Doctoral ha sido, en primer lugar, estudiar la asociación entre el polimorfismo HER2-Ile655Val y la cardiotoxicidad producida por trastuzumab en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo, así como la influencia de otros posibles factores de riesgo, y, en segundo, realizar un subestudio para evaluar el papel de los polimorfismos Fc γ R2A-His131Arg y Fc γ R3A-Val158Phe en la evolución de la enfermedad y en la respuesta a trastuzumab.

Durante el periodo de estudio se incluyeron un total de 78 mujeres con cáncer de mama HER2 positivo en tratamiento con trastuzumab, en las que se evaluó la función cardíaca mediante la determinación de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) y la exploración clínica. Para valorar la respuesta al tratamiento y la evolución de la enfermedad se midió la tasa de respuesta objetiva (TRO), supervivencia libre de recaída (SLR), supervivencia libre de progresión (SLP) y supervivencia global (SG), en las 54 pacientes no metastásicas y 22 pacientes metastásicas que integraron el subestudio. El análisis genético de los distintos polimorfismos se llevó a cabo mediante discriminación alélica empleando la plataforma Taqman®.

Nuestros resultados mostraron una incidencia global de eventos cardíacos del 19,23%, con un total de 3 pacientes con insuficiencia cardíaca sintomática y 12 pacientes que experimentaron descensos asintomáticos de la FEVI. La toxicidad cardíaca fue, en la mayoría de los casos, reversible tras la suspensión del tratamiento. De todos los factores de riesgo estudiados, el polimorfismo HER2-Ile655Val fue el único relacionado con la toxicidad cardíaca inducida por trastuzumab, observándose una asociación estadísticamente significativa entre el genotipo I/V (Isoleucina/Valina) y la aparición de cardiotoxicidad en las pacientes de nuestro estudio ($p=0,019$, OR=4,06,

IC 95% 1,25-13,12), así como en las 344 pacientes del metaanálisis realizado combinando nuestros datos con los de estudios previos publicados ($p < 0,001$, OR=5,32, IC 95% 2,58-11,47).

En cuanto al subestudio realizado para evaluar la eficacia del tratamiento con trastuzumab, no se observó asociación entre los distintos genotipos de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe y las variables de respuesta (TRO) y de evolución de la enfermedad en el grupo de pacientes metastásicas (SLP y SG) ni en las no metastásicas (SLR y SG). Tan sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las curvas de SG de las pacientes no metastásicas con respecto al polimorfismo FcγR2A-His131Arg, con una mejor evolución en las portadoras del alelo H (Histidina).

A la vista de estos resultados, concluimos que la cardiotoxicidad producida por trastuzumab en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo podría predecirse mediante la determinación genética del polimorfismo HER2-Ile655Val, siendo el genotipo heterocigoto (I/V) un posible biomarcador farmacogenético de toxicidad cardíaca al fármaco. Sin embargo, la hipótesis de que los polimorfismos en FcγR juegan un papel importante en la CCDA mediada por trastuzumab y en consecuencia predicen la respuesta clínica en pacientes con cáncer de mama no puede confirmarse con los datos obtenidos.

INTRODUCCIÓN

1. CÁNCER DE MAMA

1.1. EPIDEMIOLOGÍA E IMPORTANCIA CLÍNICA

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente entre las mujeres de todo el mundo (1). En 2012 se diagnosticaron 1,67 millones de casos, representando el 25,1% de todos los cánceres de la mujer (2). Considerando los dos sexos, sólo le superan los cánceres de pulmón, estómago y cánceres colorrectales.

La incidencia y mortalidad por este tumor presentan una amplia variación geográfica, aumentando con el nivel económico. Más de la mitad de los casos se diagnostican en los países desarrollados: 370.000 casos al año en Europa (27,4%) y 230.000 en Norteamérica (31,3%) (3). La incidencia más baja la tienen países como Japón, Tailandia, Nigeria e India. En España la incidencia es menor que la de Estados Unidos y Canadá, Reino Unido, Países Bajos, Bélgica, Alemania, Francia y Suiza, y similar al resto de países de Europa mediterránea, Europa central, Portugal e Irlanda (4).

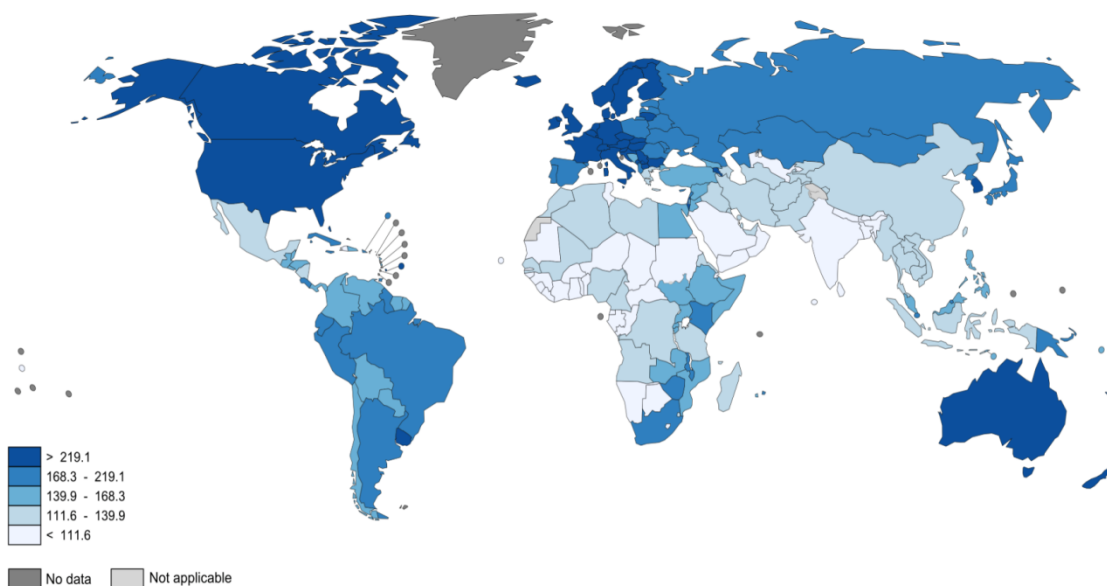


Figura 1. Tasas de incidencia de cáncer de mama estandarizadas por edad en el mundo. Casos/100.000 mujeres-año. GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer (5).

En España se diagnostican unos 26.000 casos al año, lo que representa casi el 30% de todos los tumores del sexo femenino en nuestro país. La mayoría de los casos se diagnostican entre los 35 y los 80 años, con un máximo entre los 45 y los 65 (4).

En cuanto a la mortalidad por cáncer de mama, ha tenido una evolución llamativa: en la mayor parte de los países desarrollados sufrió un importante aumento desde los años 50 hasta la década de los 80. Sin embargo, desde los años 90 esta tendencia se invierte debido al éxito de los nuevos tratamientos y al efecto de los programas de cribado sobre la mortalidad (6). En 2012 se registraron en España 6.282 fallecimientos, siendo el cáncer que más defunciones causó entre las mujeres (aunque el total de muertes disminuyó un 0,4% respecto a 2011) (7).

La supervivencia por cáncer de mama ha mejorado notablemente en los últimos 20 años (anualmente se incrementa la supervivencia por este tumor un 1,4%) (8). Cada año disponemos de mayor información para diagnosticar precozmente y tratar el cáncer de mama, lo que ha permitido que la supervivencia global a los 5 años del diagnóstico de este tumor sea del 82,8% en nuestro país, por encima de la media europea y similar a los países con las mejores cifras de supervivencia (8).

1.2. ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO

El cáncer de mama es el crecimiento desenfrenado de células malignas en el tejido mamario. Los principales factores de riesgo guardan relación con el carácter hormonal de este tumor:

- **Edad:** como en la mayoría de los tumores, el cáncer de mama aumenta exponencialmente con la edad. Sin embargo, la pendiente de incremento se ralentiza tras la menopausia, debido a la caída en el nivel de estrógenos circulantes (9, 11).

- **Factores reproductivos:** Modulan la exposición hormonal a lo largo de la vida. La menarquia temprana, la menopausia tardía y la nuliparidad o la edad tardía al primer embarazo son los principales factores reproductivos (9, 10).
- **Anticonceptivos orales:** Suponen un moderado incremento del riesgo que se atenúa al interrumpir su uso hasta desaparecer transcurridos unos 10 años (9). Debido a que las principales usuarias de anticonceptivos son mujeres jóvenes, con una incidencia basal todavía baja, el efecto global del uso de anticonceptivos es pequeño.
- **Terapia hormonal sustitutiva:** Los estudios observacionales demuestran que la terapia con estrógenos implica un pequeño incremento en el riesgo de cáncer de mama (9, 13). Este incremento desaparece tras abandonar el uso. El riesgo es mayor en usuarias de estrógenos en combinación con progesterona (13).
- **Obesidad:** En las mujeres postmenopáusicas, la principal fuente de estrógenos procede del tejido adiposo, por ello la obesidad es un factor de riesgo (9, 12).
- **Alcohol:** El consumo de alcohol aumenta la frecuencia de cáncer de mama (9, 10, 12). Entre los posibles mecanismos está un efecto carcinogénico directo del acetaldehído, principal metabolito del alcohol, así como un efecto hormonal, ya que ensayos clínicos han puesto de manifiesto que el consumo de alcohol aumenta los niveles de estrógenos circulantes (9).
- **Susceptibilidad genética:** El cáncer de mama tiene un claro componente genético. Tener un familiar de primer grado con cáncer de mama duplica el riesgo. Se estima que de un 5% a un 10% de los casos son debidos a mutaciones genéticas heredadas, de los cuales un 20-25% ocurren en los dos genes más importantes identificados por el momento: BRCA1 y BRCA2 (9, 14). Otros genes de alta penetrancia que incrementan el riesgo de cáncer de mama son p53, PTEN y ATM (9, 15-17).

1.3. CLASIFICACIÓN, PARÁMETROS PRONÓSTICOS Y PREDICTIVOS

Existen dos tipos principales de cáncer de mama, según el origen del clon tumoral (18):

- **Carcinoma Ductal:** se origina en las células que revisten los conductos galactóforos (conductos por donde circula la leche hacia el pezón). Es el tipo más frecuente, representando el 80% de los cánceres de mama.
- **Carcinoma lobulillar:** se origina en las células de los lobulillos mamarios, donde se produce la leche. Su incidencia es mucho menor, del 10%.
- **Otros:** Otros tipos de cáncer de mama menos frecuentes (5% aproximadamente) son el medular, el coloide, el tubular, el inflamatorio, etc.

Por otro lado, según su tendencia a la invasión en profundidad, se clasifican en:

- **“In situ”:** Se llama así a la proliferación celular maligna que ocurre en el interior del conducto mamario, sin traspasar la pared (membrana basal) del mismo, es decir, sin invasión o infiltración del tejido (estroma) que lo rodea. La incidencia de este tipo tumoral ha aumentado en los últimos años. Cabe destacar la frecuencia con la que estas formas de cáncer de mama, muy localizadas, son multicéntricas (varias lesiones en la misma mama) y bilaterales (afectación de ambas mama). No se conoce qué porcentaje de estos tipos tumorales tan localizados pasan a ser tumores invasivos. El tiempo en que esto ocurre puede ser tan largo como 6 a 10 años.
- **Infiltrante:** Se llama así a la proliferación celular maligna que traspasa la frontera natural anatómica del ducto o el lobulillo, invadiendo el tejido

circundante. Es el tipo tumoral más frecuente, suponiendo el 90% de los cánceres de mama.

Dado que la clasificación mediante el tipo histológico, (carcinoma ductal, lobulillar, in situ o infiltrante), no es suficiente para afrontar la heterogeneidad de esta neoplasia, ni para predecir su comportamiento clínico y no permite identificar los pacientes que presentarán mejores respuestas y beneficios con las diferentes modalidades terapéuticas, tiene importancia el establecimiento de otros parámetros anatomopatológicos con valor pronóstico y predictivo, como son:

- 1) **Afectación ganglionar metastásica:** Es el factor pronóstico aislado más significativo en el cáncer de mama, especialmente en los estadios precoces (19). Debido a la morbilidad de los vaciamientos axilares, la técnica del ganglio centinela, en tumores infiltrantes, menores de 3 cm, es actualmente el tratamiento de elección en estas pacientes, e implica una evaluación histológica más exhaustiva de la axila, sin incrementar excesivamente el gasto. De la afectación ganglionar metastásica y del número de ganglios afectados, depende la supervivencia libre de enfermedad y la supervivencia global de estas pacientes (20, 21).
- 2) **Tamaño tumoral:** Es el factor pronóstico más importante tras la afectación ganglionar, y es un factor predictivo de la presencia de metástasis axilares, tasas de recidiva y supervivencia, incluso dentro del grupo de tumores de menor tamaño (22, 23). Es además un ítem importante para la clasificación TNM, establecida por la American Joint Committee on Cancer (AJCC), y para la selección del tratamiento adyuvante. El tamaño tumoral y la presencia o no de metástasis axilares son factores pronósticos independientes y aditivos (24).

- 3) **Grado histológico:** La importancia del grado de diferenciación tumoral en el cáncer de mama es un hecho que ha sido demostrado en numerosos estudios (25), como factor predictivo de metástasis a distancia y peor supervivencia global en pacientes con tumores poco diferenciados, independientemente de otros factores pronósticos, como el tamaño tumoral o el status de los ganglios axilares. Algunas evidencias sugieren que además de ser un factor pronóstico, el grado de diferenciación puede ser un factor predictivo de respuesta a la quimioterapia, utilizándose para tomar decisiones de tratamiento adyuvante (24, 26). La combinación del tipo histológico y del grado, proporciona una mejor estimación del pronóstico, que el grado histológico sólo.
- 4) **Invasión de vasos linfáticos:** La invasión de vasos linfáticos mediante métodos histológicos convencionales, es un método que se correlaciona estrechamente con la afectación de los ganglios linfáticos loco-regionales y por lo tanto proporciona información pronóstica del estadio ganglionar, especialmente en paciente con tumores T1N0, en los que la infiltración vascular permite identificar a un subgrupo de pacientes con mayor probabilidad de metástasis axilares y metástasis a distancia (27). Otra aplicación importante de la afectación vascular linfática en el carcinoma infiltrante de mama es que resulta un potente predictor de recurrencia local tras tratamiento quirúrgico conservador y tras mastectomía (28).
- 5) **Expresión de receptores hormonales (estrógeno y progesterona):** Se determinan mediante tinciones de inmunohistoquímica y son un poderoso factor pronóstico y predictivo de respuesta a la hormonoterapia, y a la quimioterapia. El 70%-80% de carcinomas muestra positividad para receptores de estrógeno, siendo negativos en los carcinomas apocrinos, medulares, metaplásicos y en más del 90% de los carcinomas poco

diferenciados (grado 3). La ausencia de receptores hormonales se ha asociado a mayor tasa de recurrencias, menor supervivencia global, mayor riesgo de diseminación a distancia y metástasis cerebrales en el grupo de enfermas sin afectación ganglionar.

- 6) **Sobreexpresión de HER2/neu:** Su presencia indica un peor pronóstico en pacientes con afectación ganglionar y es un importante factor predictivo de respuesta a la quimioterapia con antraciclinas y al tratamiento con el anticuerpo anti HER-2/neu, trastuzumab.
- 7) **Índice de proliferación celular (Ki-67):** Valores altos se correlacionan con mal pronóstico, asociándose a tumores de alto grado histológico, afectación ganglionar o ausencia de receptores hormonales (29). Para medirlo se puede utilizar el índice mitótico que ha demostrado una elevada correlación pronóstica (30).

Sin embargo, aún utilizando estas variables, la capacidad para predecir el comportamiento del tumor, así como nuestro conocimiento de la biología del mismo siguen siendo muy limitados. Por ello, actualmente se asume que, la diversidad clínica y pronóstica de los carcinomas de mama que son semejantes y homogéneos en cuanto a sus factores pronósticos clásicos, se establece a nivel molecular, al expresar distintos genes que les confieren variabilidad biológica y pronóstica (31).

Durante los últimos años, el estudio de estos genes ha hecho posible, por una parte, comprender el comportamiento biológico del cáncer de mama y, por otra, individualizar el pronóstico y el tratamiento de algunos pacientes (31, 32).

Recientemente, el avance de las tecnologías de análisis genómico está incorporando como factor pronóstico las características genéticas de los tumores, en

función de las cuales se ha establecido una nueva clasificación en cinco subtipos (31, 33):

- **Luminal A y B:** son los subtipos con mejor pronóstico y se caracterizan por expresar el gen del receptor estrogénico (RcE), genes asociados y queratinas de bajo peso molecular, de forma semejante al epitelio luminal de los conductos mamarios. Al expresar receptores de estrógenos, estos tumores pueden tratarse con tamoxifeno o inhibidores de la aromatasa pero muestran una baja respuesta a la quimioterapia neoadyuvante.
- **HER2-positivo:** muestra expresión aumentada de genes asociados a HER2/neu y suele asociarse a otros marcadores de mal pronóstico, tales como alto grado histológico, baja expresión de RcE y RcP, y alteraciones de otros genes como topoisomerasa II alfa, GATA4, genes de angiogénesis y proteólisis. Además suele presentar mala respuesta a la quimioterapia convencional y es particularmente resistente a la terapia hormonal. Sin embargo, los tratamientos basados en el anticuerpo monoclonal recombinante trastuzumab, producen una mejoría significativa de las pacientes.
- **Basal:** se caracteriza por la sobreexpresión de citoqueratinas características de la capa basal y la expresión de genes relacionados con la proliferación celular. Estos tumores suelen presentar mutaciones en el gen oncosupresor p53, sobreexpresan el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y se caracterizan por la ausencia de expresión de RcE y de genes relacionados y del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2). Este subtipo se asocia a la mutación BRCA1 y presenta el comportamiento más agresivo a pesar de su alta sensibilidad a la quimioterapia.

- **Normal (Normal breast-like):** muestra una fuerte expresión de genes normalmente expresados en el tejido adiposo y baja expresión de genes epiteliales luminales.

1.4. CÁNCER DE MAMA HER2 POSITIVO

Al igual que ocurre en otras neoplasias, el cáncer de mama aparece por la sucesión de cambios genéticos en las vías de regulación, diferenciación y muerte celular. Los genes que codifican los receptores de factores de crecimiento son unos de los que se alteran en el proceso de carcinogénesis, siendo su amplificación una de las alteraciones celulares más conocidas, y en particular la del gen ErbB2 o HER2/neu, que es un oncogén que codifica para la proteína HER2.

Aproximadamente el 15-20% de las pacientes con cáncer de mama son HER2 positivo (34), es decir, tienen el gen HER2/neu amplificado. Este gen se localiza en el brazo largo del cromosoma 17, está compuesto por 31 exones y su expresión está aumentada en ciertos tipos de tumores como gliomas y adenocarcinomas gástricos. HER2/neu codifica para la proteína HER2, que es una glucoproteína transmembrana de 185 kD con actividad de receptor tirosinquinasa que pertenece a la familia de los EGFR (receptores del factor de crecimiento epidérmico) junto con HER1 (también conocido como EGFR), HER3 y HER4. Estos receptores, que funcionan como homodímeros o heterodímeros, activan múltiples vías celulares tales como la de la proteína quinasa activada por mitógenos p42 y p44 (p42/p44 MAPK) y la vías de fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), estimulando el crecimiento, la supervivencia y la diferenciación celular (35). A diferencia de otros miembros de la familia, HER2 no está activado por un ligando específico y siempre está en un estado conformacional listo para interactuar con otros receptores EGFR activados por ligando (36), particularmente HER3 (37).

La sobreexpresión de HER2/neu produce un aumento en los niveles de RNAm de HER2 y la sobreexpresión del receptor HER2 en la superficie celular, de manera que los niveles de proteína HER2 son superiores en la superficie de las células HER2 positivas que en el epitelio mamario normal (Figura 2).

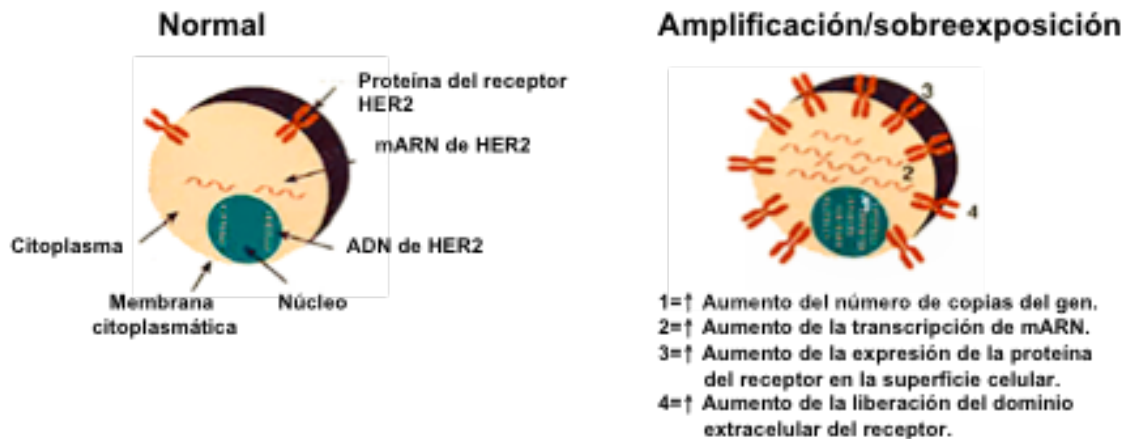


Figura 2. Indicadores del estado de HER2: mutaciones del gen y sobreexpresión de la proteína. Adaptada del libro "Tratado del cáncer de mama"(38)

Como consecuencia de la expresión de la proteína HER2 se producen una serie de efectos que desencadenan la carcinogénesis:

- Formación de heterodímeros que contienen HER2 y manifiestan una cascada de señales aumentada, debido a una mayor estabilidad respecto a otros heterodímeros, a una menor disociación de los ligandos y a una menor tasa de endocitosis.
- Incremento de las señales como consecuencia del aumento de la recuperación del EGFR en la superficie celular.
- Formación de homodímeros HER2 constitutivamente activos, que ponen en marcha cascadas de señales.

- Activación y supresión de rutas de transducción de señales que intervienen en el desarrollo y crecimiento tumoral.

En definitiva, los tumores HER2 positivos se relacionan con la sobreexpresión de genes relacionados con una mayor agresividad biológica, una mayor resistencia a los tratamientos convencionales de quimioterapia y un mayor riesgo de recurrencia que aquellos que son HER2 negativos (34). Sin embargo, la aparición del anticuerpo monoclonal trastuzumab supuso una revolución en el tratamiento del cáncer de mama con sobreexpresión de HER2 que hasta entonces tenía un mal pronóstico (39).

1.4.1. Determinación del estado HER2 y utilidad clínica

La determinación de la amplificación del receptor HER2 en tumores de mama es indispensable hoy en día por su implicación pronóstica y la existencia de tratamientos específicos, que modifican sensiblemente la supervivencia. Existen varias formas de determinar el estado de HER2 (40):

- **Técnicas de inmunohistoquímica (IHQ):** Determinan la sobreexpresión de la proteína HER2 usando anticuerpos dirigidos específicamente contra un epitopo de la proteína HER2 en el tejido tumoral. Es la técnica más utilizada debido a su alta sensibilidad y especificidad. Se consideran positivos los tumores con una tinción más intensa, valorando el observador según una escala semicuantitativa que va de 0 (ausencia de detección) a 3 (expresión intensa). Se considera que HER2 es positivo cuando el valor es 3+, es negativo si 0 ó 1+ y dudoso en caso de 2+.
- **Técnicas de hibridación in situ con fluorescencia (FISH):** Consiste en la detección de la amplificación del gen HER2/neu. Permite evaluar directamente el número de copias del gen mediante la utilización de

sondas de DNA complementario marcadas para detectar las secuencias específicas por hibridación y comparándolo con un control, necesiéndose un ratio mayor de 2 para que se considere positiva. Es una técnica con una elevada sensibilidad y especificidad, superior a la IHQ, pero por el contrario más costosa. Con ella se obtienen resultados cuantitativos y objetivos y permite discriminar la positividad en los casos de IHQ 2+.

- **Técnicas de hibridación cromogénica in situ (CISH):** Son similares a las del FISH, pero usando una sonda marcada con peroxidasa en lugar de una tinción fluorescente. Esta prueba identifica cambios en colores (no fluorescencia) y no requiere un microscopio especial, lo que podría hacer que esta prueba sea menos costosa. Actualmente no se usan tanto como la IHQ o FISH.
- **Otras técnicas,** que no se utilizan en clínica, son el western blot, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la determinación mediante ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) del dominio extracelular de HER2.

1.4.2. Tratamiento del cáncer de mama HER2 positivo: Trastuzumab

Actualmente existen cuatro agentes aprobados por la FDA (Food and Drug Administration) y la EMA (Agencia Europea de Medicamentos) para el tratamiento del carcinoma de mama HER2 positivo: trastuzumab (41), lapatinib (42), pertuzumab (43) y trastuzumab emtansina (T-DM1) (44) (Figura 3).

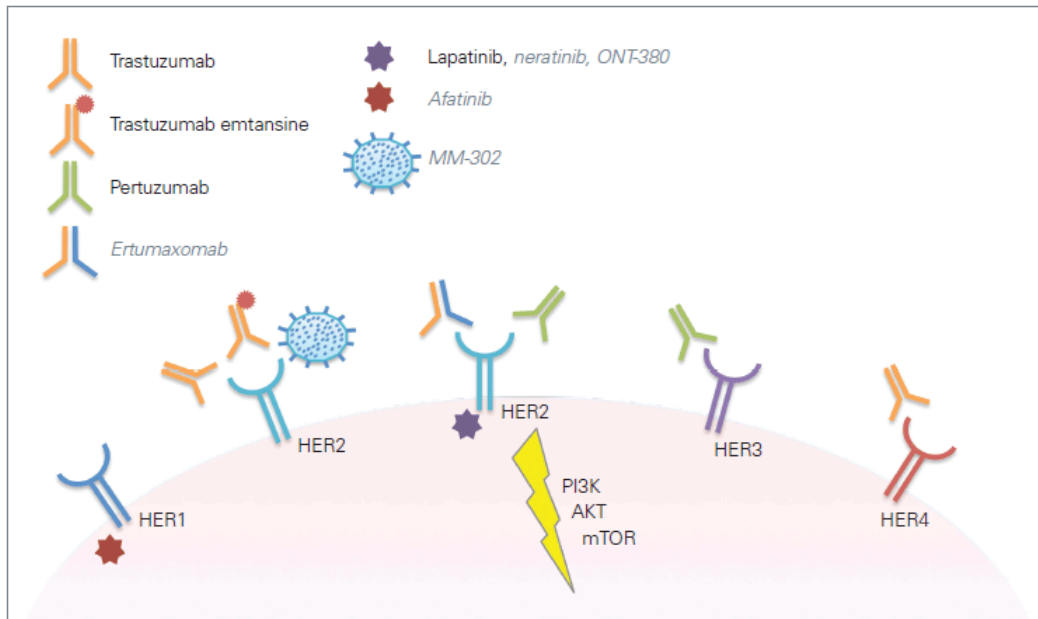


Figura 3. Fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento del cáncer de mama HER2 positivo y agentes en investigación (en gris). (45)

El primer fármaco aprobado para el tratamiento del cáncer de mama HER2 positivo fue trastuzumab (41). Trastuzumab es un anticuerpo recombinante, monoclonal, humanizado IgG1 dirigido contra HER2 que actúa uniéndose con alta afinidad y especificidad al subdominio IV, una región yuxtamembrana del dominio extracelular de HER2. Esta unión produce una inhibición de la vía de señalización de HER2 independiente del ligando y previene la proteólisis de su dominio extracelular, un mecanismo de activación de HER2. Además también está implicado en otros mecanismos que incluyen la activación de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, que produce lisis celular, la prevención de la señalización de proliferación, la inhibición de la progresión del ciclo celular, la prevención de la escisión de HER2 y el desprendimiento del dominio extracelular, y también produce efectos antiangiogénicos (46, 47).

Actualmente su uso está aprobado para el tratamiento del cáncer de mama metastásico que sobreexpresa HER2, en monoterapia o en combinación con taxanos

o inhibidores de la aromatasas, y como tratamiento adyuvante en el cáncer de mama temprano tras cirugía, quimioterapia o radioterapia (41).

La aprobación del trastuzumab como primera línea de tratamiento en cáncer de mama metastásico se basó en un estudio fase III que comparó la combinación de trastuzumab con paclitaxel o el esquema adriamicina-ciclofosfamida versus quimioterapia sola (34). Los resultados del estudio demostraron una mayor tasa de respuesta global (hasta 50%), un aumento significativo del tiempo hasta la progresión (TTP: 4,6 vs 7,4 meses) y una mayor supervivencia global (SG: 20,3 vs 25,1 meses) que la quimioterapia en solitario. En un ensayo posterior con un diseño semejante, pero con docetaxel, se obtuvieron resultados similares (48). Los resultados confirmaron que la combinación de trastuzumab con docetaxel incrementó la tasa de respuesta un 61% versus 34%, mejoró el tiempo a la progresión (11,7 vs 6,1 meses) y la supervivencia global (31 vs 23 meses). Más recientemente, diversos estudios en fase II y III han confirmado la actividad de trastuzumab en combinación con otros agentes quimioterapéuticos como docetaxel, capecitabina, gemcitabina, vinorelbina y agentes de platino (49-53). Basados en estos resultados, desde el año 2002, el trastuzumab combinado con quimioterapia fue el tratamiento estándar.

En cuanto a cáncer de mama precoz, también hay numerosos estudios que han demostrado que la adición de trastuzumab a la quimioterapia neoadyuvante mejora sustancialmente la supervivencia global y reduce el riesgo de recurrencia en un 33% (54). Del mismo modo, el tratamiento con trastuzumab en adyuvancia mejora considerablemente la supervivencia libre de enfermedad en un 38% y la SG en un 34% y reduce sustancialmente el riesgo de recurrencia local y a distancia (55).

Posteriormente, en año 2008 se comercializa el primer inhibidor tirosin-quinasa (TKI) aprobado para tratar el cáncer de mama: Lapatinib (42). Este nuevo fármaco actúa con un mecanismo de acción distinto a trastuzumab, se une de forma reversible

y competitiva al sitio de unión del ATP en el dominio tirosin-quinasa intracelular del receptor HER2 y EGFR, con lo que se inhibe la cascada de señalización (56, 57).

La aprobación de lapatinib combinado con capecitabina en cáncer de mama localmente avanzado o metastásico con progresión a antraciclinas, taxanos y trastuzumab fue resultado del estudio fase III que mostró que la combinación redujo un 51% el riesgo de progresión, y aumentó la mediana de tiempo a la progresión (8,4 vs 4,4 meses) y la tasa de respuesta (22% vs 14%) (59). Los resultados previos impulsaron el estudio de lapatinib en primera línea de tratamiento. El estudio NCIC CTG MA.31 evaluó la combinación de lapatinib o trastuzumab más un taxano en primera línea. Tras un seguimiento de 21,5 meses, demostró una supervivencia libre de progresión (SLP) de 9 meses para las pacientes tratadas con lapatinib y de 11,3 meses para aquéllas tratadas con trastuzumab (59). Los resultados de este estudio confirman que trastuzumab sigue siendo el tratamiento de elección en primera línea.

Recientemente han sido aprobados dos nuevos fármacos para el cáncer de mama HER2 positivo: Pertuzumab (43) y Trastuzumab-Emtansina (T-DM1) (44). El primero es un anticuerpo monoclonal humanizado que se une a un diferente epítipo del dominio extracelular del receptor HER2 (epítipo II) (60) respecto al trastuzumab, evitando de esta manera la dimerización de HER2 y HER3 y bloqueando la activación de las vías de señalización. Pertuzumab fue aprobado por la FDA en el año 2012 como tratamiento de primera línea del cáncer de mama metastásico en combinación con trastuzumab y docetaxel, basados en los datos iniciales del estudio CLEOPATRA (61). Éste fue un estudio fase III que evaluó la combinación de trastuzumab, pertuzumab y docetaxel en comparación con docetaxel y trastuzumab. Los resultados demostraron un intervalo libre de progresión de 18,5 meses en el brazo de pertuzumab versus 12,4 en el brazo control. Más tarde, la actualización de este estudio confirmó el beneficio en SLP y un beneficio en SG de 56,5 meses versus 40,8

meses en el grupo con el bloqueo dual HER2 respecto al grupo control. Basados en estos resultados, actualmente la recomendación internacional para el tratamiento del cáncer de mama HER2 positivo metastásico en primera línea es doble bloqueo de HER2 con trastuzumab y pertuzumab combinados con docetaxel tanto en neoadyuvancia como enfermedad avanzada o metastásica.

El T-DM1 es el primer inmunocóncugado anticuerpo-fármaco que resulta de la combinación de trastuzumab y DM1 (un derivado de emtansina 1, potente inhibidor de microtúbulos). El T-DM1 conserva el mecanismo de acción de trastuzumab e incorpora la entrega intracelular del citotóxico específicamente en células con sobreexpresión de HER2, lo que mejora el índice terapéutico y minimiza la exposición de tejidos normales. El estudio fase III EMILIA evaluó el papel del T-DM1 en pacientes previamente tratadas con trastuzumab y taxanos (62). Las pacientes se aleatorizaron a recibir T-DM1 versus la combinación de lapatinib + capecitabina. Los hallazgos del estudio mostraron un incremento en la SG de 30,9 meses versus 25,1 meses a favor de T-DM1. Con esta información, la FDA aprobó el fármaco en febrero de 2013 para ser empleado tras progresión a trastuzumab y taxanos. Actualmente, se considera al T-DM1 como la segunda línea de tratamiento de acuerdo con las recomendaciones de ASCO (American Society of Clinical Oncology) y ESMO (European Society for Medical Oncology).

En definitiva, desde la introducción de la terapia dirigida contra HER2, el pronóstico del cáncer de mama HER2 positivo ha mejorado de forma significativa, siendo trastuzumab uno de los pilares fundamentales en el tratamiento de esta enfermedad (39).

2. CARDIOTOXICIDAD ASOCIADA A TRASTUZUMAB

2.1. EPIDEMIOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN CARDIACA

Los avances en los tratamientos del cáncer de mama han llevado, afortunadamente, a una mejora de la supervivencia. Sin embargo, al prolongar la vida de las pacientes las toxicidades tardías derivadas de la terapia se han vuelto más significativas. Uno de los efectos adversos más importantes son las complicaciones cardíacas que, en casos graves, pueden tener consecuencias devastadoras.

La cardiotoxicidad de la terapia del cáncer de mama es más frecuente tras el tratamiento con antraciclinas y trastuzumab (63-66), requiriendo en determinados casos la interrupción del tratamiento.

Durante el ensayo pivotal de trastuzumab en cáncer de mama metastásico las alteraciones cardíacas se produjeron en un 27% de las pacientes tratadas de forma concurrente con trastuzumab y antraciclinas, en un 13% de las tratadas con trastuzumab y paclitaxel y en un 5% con trastuzumab en monoterapia (34). La incidencia de insuficiencia cardíaca clase III o IV según la New York Heart Association (NYHA) fue más alta entre las pacientes que recibieron antraciclinas más trastuzumab, produciéndose en un 16%, frente al 3% de las pacientes que recibieron solo antraciclinas; y en un 2% de las pacientes que recibieron paclitaxel más trastuzumab frente al 1% con paclitaxel en monoterapia. Debido a que la combinación de trastuzumab más antraciclinas resultó en altas tasas inaceptables de toxicidad cardíaca, estos agentes no se administran generalmente de forma simultánea.

Estos hallazgos propiciaron el diseño de nuevos ensayos clínicos en adyuvancia en los que se evaluó la administración secuencial de antraciclinas y trastuzumab (49-50, 67-70). En ellos se excluyeron aquellas pacientes con insuficiencia cardíaca, se limitó la dosis acumulada de antraciclinas a 300mg/m² y se

llevó a cabo una estrecha monitorización de la función cardiaca. Estos estudios arrojaron nuevos datos de incidencia de toxicidad y mortalidad cardiaca (Tabla 1).

Toxicidad cardiaca en los ensayos randomizados de trastuzumab en adyuvancia					
Ensayo	Tratamiento	Seguimiento cardiaco	Asintomática FEV _I ≥ 10%	ICC III/IV	Muertes cardiacas
<i>NSABP B-31</i> (67,68)	AC→P AC→PH	MUGA 3 sem antes de la última dosis de AC, 6 y 9 m desde la randomización y 3 m después de la última dosis de trastuzumab	17 % 34 %	0,8 % 4,1 %	1 0
<i>NCCTG N9831</i> (69)	AC→P AC→P→H AC→PH	MUGA o ecocordio 3 sem antes de la última dosis de AC, 6, 9 y 18 m desde la randomización y 3 m después de de la última dosis de trastuzumab		0,3 % 2,8 % 3,3 %	1 1 0
<i>HERA</i> (70)	QT QT→H (1 año) QT→H (2 años)	MUGA o ecocordio en las 3-4 sem previas a la randomización y 3, 6, 12, 18, 24, 30 36 y 60 m desde la randomización.	0,9 % 4,1 % 7,2 %	0,1 % 0,8 % 0,1%	1 0 0
<i>BCIRG-006</i> (50)	AC→T AC→TH TCH	Después de última dosis de AC, después del fin de la QT y a los 3, 12, 36 m de la randomización. Basal, a las 6 sem, 4,5 m, 13,5 m y 37,5 m de la randomización.	11,2 % 18,6 % 9,4 %	0,7 % 2 % 0,4 %	0 0 0
<i>FinHer</i> (49)	T→FEC V→FEC T+H→FEC V+H→FEC	MUGA o ecocordio 3 sem antes de la QT, después del FEC y a los 12 y 36 m del fin de QT	10,5 % 6,8 %	1,7 % 0,9%	0 0

AC: doxorubicina + ciclofosfamida; P: paclitaxel; H: trastuzumab; QT: quimioterapia; T: docetaxel; C: carboplatino; V: vinorelbina; FEC: fluorouracilo + epirubicina + ciclofosfamida. MUGA: ventriculografía isotópica.

Tabla 1. Incidencia de toxicidad y mortalidad cardiaca en los ensayos de trastuzumab en adyuvancia.

La incidencia de cardiotoxicidad grave (NYHA clase III o IV) en los ensayos adyuvantes fue modesta: 0,1 al 4,1% en pacientes tratadas con trastuzumab. Las tasas más altas de cardiotoxicidad ocurrieron en los ensayos NSABP B31 y NCCTG N9831 (67-69). En ellos se comparó doxorubicina-ciclofosfamida seguido de paclitaxel cada 3 semanas (AC→P) frente al mismo régimen más trastuzumab durante 52 semanas con inicio en la primera dosis de paclitaxel (AC→PH), y se añadió un tercer brazo en el estudio NCCTG N9831 que iniciaba trastuzumab tras finalizar paclitaxel (AC→P→H). Tras realizar un análisis conjunto de los resultados de ambos estudios, los autores concluyeron que un 14,2% de las pacientes manifestaron disminuciones asintomáticas de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI), y un total de 18,9% tuvo que suspender trastuzumab debido a problemas cardíacos (71). Este análisis, además, excluyó aquellas pacientes que ya habían desarrollado cardiotoxicidad tras los 4 ciclos de tratamiento con antraciclinas (6,7%), por lo que la tasa absoluta de cardiotoxicidad en el análisis por intención de tratar hubiera sido presumiblemente mayor.

El estudio HERA (70) evaluó el tratamiento con trastuzumab durante 1 año frente a 2 años y frente a observación en pacientes que habían completado terapia locoregional con al menos 4 ciclos de quimioterapia estándar neoadyuvante o adyuvante. La tasa de toxicidad cardíaca fue muy baja al limitar la inclusión a mujeres con una FEVI tras la quimioterapia $\geq 55\%$, y la incidencia acumulada de cualquier tipo de evento cardíaco no se vio incrementada a partir de los 12 meses de tratamiento con trastuzumab.

En el ensayo BCIRG-006 (50) se comparó doxorubicina y ciclofosfamida adyuvante seguida de docetaxel (AC→T) con el mismo régimen con trastuzumab añadido a docetaxel (AC→TH) y con otro esquema de docetaxel, carboplatino, y trastuzumab (TCH) administrados de forma simultánea. Los resultados mostraron que

la eliminación de antraciclinas redujo notablemente las tasas de insuficiencia cardiaca desde un 2% a un 0,4%, así como la incidencia de descensos asintomáticos de la FEVI de un 18,6% a un 9,4%.

Por último, el estudio FinHer (49), un ensayo finlandés con un número más reducido de pacientes, trató a mujeres con cáncer de mama precoz con 3 ciclos de docetaxel o vinorelbina, seguidos de 3 ciclos de 5-fluorouracilo, epirubicina y ciclofosfamida. Un subgrupo de 232 pacientes con cáncer de mama HER2 positivo fueron asignadas al azar a recibir 9 infusiones semanales adicionales de trastuzumab. Los resultados no mostraron asociación entre el tratamiento con trastuzumab y la disminución de la FEVI o la aparición de insuficiencia cardiaca, siendo la incidencia de eventos cardiacos mayor en el brazo control.

2.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA DISFUNCIÓN CARDIACA

La fisiopatología de la disfunción cardiaca asociada a trastuzumab no está del todo clara, se han propuesto distintos mecanismos que podrían explicarla. Por un lado, trastuzumab, como anticuerpo monoclonal, podría iniciar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA) y citotoxicidad dependiente del complemento, lo que podría afectar a los cardiomiocitos, incrementando la toxicidad cardiaca (72, 73). Por otro lado, hay diferentes argumentos que apoyan el papel del HER2 en la aparición de cardiotoxicidad (74). La vía de señalización de HER2 es fundamental para el desarrollo y la función cardiaca (75) debido a que el receptor HER2 se expresa también en las células cardiacas y tiene un papel esencial en la proliferación, crecimiento y supervivencia del cardiomiocito. Por ello, la integridad de este receptor es fundamental para prevenir el desarrollo de una cardiomiopatía. Se han observado modelos de ratones que carecen de HER2 y presentan múltiples características de miocardiopatía dilatada, incluyendo dilatación de cavidades, adelgazamiento de la

pared, y disminución de la contractilidad (76). En ausencia de la función de HER2, los cardiomiocitos no son capaces de activar las vías de supervivencia y se acumulan especies reactivas de oxígeno (ROS) que dan lugar a la disfunción cardíaca (77). Del mismo modo, las células madre cardíacas parecen perder su capacidad de diferenciación cardiogénica y formación de redes microvasculares (78). Esta hipótesis es consistente con el aumento de la toxicidad cardíaca que se observa cuando trastuzumab se utiliza en asociación con antraciclinas. De hecho, los cardiomiocitos HER2 deficientes son más susceptibles al daño inducido por antraciclinas (76, 79).

A diferencia de la toxicidad cardíaca inducida por antraciclinas, el efecto de trastuzumab sobre la función cardíaca se clasifica como cardiotoxicidad tipo II y es clínica y mecánicamente distinta (80). La cardiotoxicidad tipo II no es dependiente de la dosis, es altamente reversible y responde a la retirada del fármaco y a la administración de tratamiento estándar para la insuficiencia cardíaca (81). De hecho, las pacientes con frecuencia pueden volver a tratarse con trastuzumab tras la recuperación de los parámetros cardíacos. Esta reversibilidad del efecto cardiotóxico se debe a que trastuzumab no causa alteraciones ultraestructurales en las proteínas contráctiles, como ocurre con las antraciclinas, sino una hibernación o aturdimiento miocárdico.

Clínicamente estos efectos cardíacos se pueden manifestar de forma asintomática como descensos de la FEVI, o bien de forma sintomática, como insuficiencia cardíaca congestiva, que puede llevar a la muerte (82).

2.3. FACTORES DE RIESGO DE TOXICIDAD CARDIACA

Diferentes estudios han sugerido múltiples factores de riesgo de cardiotoxicidad inducida por trastuzumab, aunque ninguno puede predecir completamente su aparición.

El primer factor de riesgo de toxicidad cardíaca asociada a trastuzumab que se puso de manifiesto durante el ensayo pivotal fue la administración concomitante con antraciclinas. Posteriormente se observó que la administración secuencial de ambos agentes reducía considerablemente este riesgo. Sin embargo, incluso administrados secuencialmente, la **exposición previa a antraciclinas** también parece aumentar el riesgo de cardiotoxicidad inducida por trastuzumab (83-85) comparado con regímenes libres de antraciclinas como docetaxel, carboplatino y trastuzumab (50). Se cree que la administración de trastuzumab podría empeorar los daños cardíacos relacionados con el tratamiento previo con antraciclinas además de causar daños específicos derivados del bloqueo HER2 y de la inhibición de la reparación de los cardiomiocitos (84). Asimismo, **la duración del tratamiento con trastuzumab** también se ha explorado como un factor de riesgo potencial obvio para el desarrollo de cardiotoxicidad (86, 87). Las guías de práctica clínica actuales recomiendan 52 semanas de tratamiento puesto que se ha demostrado que la prolongación de la terapia a 2 años frente a 1 no ofrece ningún beneficio clínico adicional pero sí produce un aumento de la toxicidad cardíaca.

Otros factores de riesgo de enfermedad cardíaca comunes a la población en general son el **tabaquismo** y la **obesidad** (88). La **edad avanzada** también se ha asociado con un mayor riesgo de cardiotoxicidad inducida por trastuzumab (68, 69) ya que la prevalencia de enfermedades cardiovasculares y otras comorbilidades aumenta con la edad. Así, varias comorbilidades asociadas con la edad avanzada, identificadas como factores de riesgo de toxicidad cardíaca, incluyen **diabetes mellitus** (89), **uso de medicación antihipertensiva** (69) y la historia previa de **enfermedades cardíacas** (89). Sin embargo, también se ha visto que pacientes sin antecedentes de enfermedad cardíaca diagnosticada pueden tener disfunción ventricular izquierda subyacente durante el tratamiento con trastuzumab (69, 85). Por ello la presencia de **FEVIs basales bajas** al inicio del tratamiento se ha identificado como otro factor de riesgo para el desarrollo de cardiotoxicidad.

Estos perfiles demográficos son instrumentos útiles a la hora de evaluar el riesgo de desarrollar toxicidad cardíaca tras el tratamiento con trastuzumab. Sin embargo, sería poco práctico y desventajoso desde el punto de vista médico limitar el uso de este agente altamente eficaz a pacientes jóvenes y sin comorbilidades. Además, es importante destacar que un número significativo de efectos adversos cardíacos se producen en pacientes sin factores de riesgo evidentes. Por tanto, la necesidad de herramientas más sofisticadas para estratificar el riesgo de cardiotoxicidad asociada a trastuzumab es cada vez mayor.

La predicción incompleta por factores demográficos y clínicos nos habla de una predisposición a la susceptibilidad cardíaca que bien puede ser determinada genéticamente. Por todo ello el establecimiento de perfiles farmacogenéticos que determinen qué pacientes tendrán un mayor riesgo de desarrollar cardiotoxicidad se postula como un medio prometedor para maximizar el beneficio de la terapia con trastuzumab y minimizar el daño cardiotóxico.

2.4. MONITORIZACIÓN DE LA FUNCIÓN CARDIACA

El objetivo de la monitorización de la función cardíaca durante la administración de trastuzumab es detectar una disfunción cardíaca temprana, antes del desarrollo de los síntomas clínicos de insuficiencia cardíaca. Los métodos actuales para la detección de cardiotoxicidad se basan en la evaluación de la FEVI tanto por ecocardiografía como por ventriculografía isotópica (MUGA).

La ficha técnica de trastuzumab recomienda monitorizar la FEVI antes del inicio y en intervalos de 3 meses mientras dure el tratamiento con trastuzumab, en combinación con la evaluación clínica de los síntomas de insuficiencia cardíaca (41). En el tratamiento adyuvante se recomienda además evaluar la FEVI cada 6 meses durante al menos 2 años después de la finalización de la terapia. En el tratamiento del

cáncer metastásico, sin embargo, puede ser más apropiada la evaluación de la FEVI en función de los síntomas teniendo en cuenta la relación riesgo-beneficio.

En caso de disfunción cardíaca significativa la medición de la FEVI debe repetirse en intervalos de 3 semanas. Trastuzumab se debe evitar, o al menos administrar con precaución, en pacientes con FEVIs basales por debajo del 50% y se debe suspender en presencia de insuficiencia cardíaca sintomática. En los casos en que la FEVI disminuya más de 15% del valor basal o más de 10% por debajo por debajo del límite inferior de la normalidad (50-55%), el tratamiento debe mantenerse durante al menos 4 semanas. En caso de tener que suspender el tratamiento, trastuzumab puede ser reiniciado si la FEVI vuelve a la normalidad tras 4-8 semanas, después de una rigurosa evaluación del riesgo-beneficio (90).

Estas técnicas de medida de la función cardíaca tienen la limitación de que el daño miocárdico debe ocurrir antes de que se observen cambios en la FEVI, por lo que hacen de esta medida una herramienta poco sensible. Sumado a esto, las definiciones de cardiotoxicidad en base a la FEVI o a la sintomatología varían de un estudio a otro, lo que puede hacer difícil las comparaciones. Por tanto, en la actualidad se están desarrollando nuevas técnicas avanzadas de imagen así como biomarcadores séricos con el fin de mejorar la detección de cardiotoxicidad inducida por trastuzumab (91, 92).

3. FARMACOGENÉTICA DEL TRASTUZUMAB

3.1. CONCEPTOS GENERALES

La farmacogenética es la ciencia que estudia el efecto de la variabilidad genética de un individuo en su respuesta a determinados fármacos (93). El objetivo se centra en conseguir prescribir al paciente el medicamento adecuado según su perfil

genético para conseguir un buen efecto terapéutico con el menor efecto tóxico posible. Entender el funcionamiento del genoma y la influencia que tiene en la efectividad de ciertos fármacos es clave para prescribir y crear fármacos personalizados que tengan una gran eficacia y efectos secundarios mínimos (94).

Estas variaciones genéticas, definidas por la existencia en una población de múltiples alelos de un gen, se denominan polimorfismos genéticos. Es decir, un polimorfismo es una variación en la secuencia de un lugar determinado del DNA entre los individuos de una población. Los polimorfismos se distinguen terminológicamente de las mutaciones por su frecuencia. Para que verdaderamente pueda considerarse un polimorfismo, la variación debe aparecer en al menos el 1% de la población. Un polimorfismo puede consistir en:

- La sustitución de una única base nitrogenada de una secuencia del genoma, lo que da origen a lo que se conoce como SNP (Single Nucleotide Polymorphism o polimorfismo de un solo nucleótido).
- La inserción o deleción de una base en el DNA.
- La inserción o deleción de un conjunto de bases, en número de cientos a miles.
- La inserción o deleción, repetidas veces, de una o más bases, constituyendo los microsatélites.

La variabilidad fenotípica de cada individuo, así como la susceptibilidad o la resistencia individual a distintas enfermedades radica principalmente en los SNPs, y en menor grado en inserciones, deleciones, secuencias repetidas y/o rearrreglos cromosómicos. La mayoría de los SNPs están presentes en regiones no codificantes y por tanto no tienen efecto sobre el fenotipo. Sin embargo, cuando se presentan en

regiones codificantes van a dar lugar a cambios en la secuencia de aminoácidos. Estos cambios pueden ser:

- Silenciosos (synonymous): hay un cambio en una de las bases de forma que el triplete de nucleótidos se modifica, pero sigue codificando para el mismo aminoácido.
- En sentido equivocado (missense): El cambio en una de las bases da lugar a un triplete que codifica para un aminoácido diferente.
- Sin sentido (nonsense): el nuevo triplete que se forma determina la señal de fin de la cadena de aminoácidos.

Existen aproximadamente 10 millones de SNPs (95) y la gran mayoría tienen dos alelos los cuales están representados por una sustitución de base por otra. En las poblaciones, este tipo de alelos se clasifican en alelo principal o “salvaje” y alelo raro o mutante, según la frecuencia en la que se observen. Debido a que los humanos son diploides, un individuo puede tener uno de tres genotipos: homocigoto para el alelo más frecuente, heterocigoto, u homocigoto para el alelo menos frecuente.

3.2. POLIMORFISMO DEL GEN HER2/NEU

El gen HER2/neu es sometido a mutaciones somáticas y a polimorfismos genéticos (96). El más investigado, en cuanto a clínica se refiere, es el que se localiza a nivel del codón 655, en el segundo exón. Se trata de un SNP en sentido equivocado, que consiste en un cambio de un nucleótido de adenina (A) por una guanina (G), codificando así a dos aminoácidos diferentes: isoleucina (ATC/Ile) o valina (GTC/Val) (97, 98). Los resultados de estudios in vitro sugieren que este SNP puede alterar la función del gen HER2/neu (97), que concierne al dominio transmembrana de la proteína HER2.

En 2005 una comunicación presentada en el congreso de la American Society of Clinical Oncology (ASCO) (99) que estudiaba este SNP en 56 mujeres con cáncer de mama que recibían tratamiento con trastuzumab encontró que 5 de ellas desarrollaron cardiotoxicidad y presentaban el genotipo HER2-655 Ile/Val (I/V) ($p=0,008$). Sin embargo los autores no ofrecieron un posible modelo genético que explicara estos resultados a nivel biológico. En 2007, Beauclair et al. (100) realizaron otro estudio en 61 pacientes con cáncer de mama en tratamiento con trastuzumab. Los resultados mostraron que todos los casos de cardiotoxicidad (8,2%) se manifestaron en los pacientes heterocigotos I/V ($p<0,0058$) y ningún caso en los grupos de pacientes que presentaban genotipos Ile/Ile (I/I) o Val/Val (V/V). En este mismo estudio se llevaron a cabo también ensayos “in vitro” que mostraron que las células tumorales que expresaban el alelo V presentaban una mayor capacidad de crecimiento y mayor sensibilidad a trastuzumab. De esta manera explicaron que la presencia del alelo podría conducir a cardiomiocitos particularmente dependientes de la señalización HER2 y altamente sensibles a trastuzumab. Sin embargo, ninguna paciente con genotipo homocigoto V/V presentó cardiotoxicidad por lo que esta hipótesis no pudo ser corroborada por los resultados. Más recientemente, en 2013, dos artículos vuelven a relacionar al polimorfismo HER2-Ile655Val con la aparición de cardiotoxicidad. El grupo de Lemieux et al. (101) estudió a 73 pacientes con cáncer de mama en tratamiento con trastuzumab y observó que aquellos que portaban el genotipo I/V presentaban mayor riesgo de cardiotoxicidad comparada con los portadores del genotipo I/I ($p=0,01$). Al igual que en el estudio de Beauclair (100), no hubo pacientes con genotipo V/V que presentaran cardiotoxicidad. En otro trabajo publicado por Roca et al. (102) se estudió el papel predictivo de diferentes polimorfismos, incluyendo a HER2-Ile655Val, con la aparición de cardiotoxicidad inducida por trastuzumab en 132 mujeres que fueron tratadas con el fármaco. Las pacientes con genotipo I/V presentaron mayor cardiotoxicidad que las que presentaron

genotipo I/I. De la misma manera que en los estudios previos, ningún paciente con genotipo V/V presentó cardiotoxicidad.

3.3. POLIMORFISMOS DE LOS GENES $Fc\gamma R$

Los receptores específicos para inmunoglobulinas, llamados receptores Fc, son proteínas que se encuentran en la superficie de ciertos tipos celulares, incluyendo linfocitos B, células Natural Killer (NK), macrófagos, neutrófilos y mastocitos. Tras la interacción de estos receptores con las inmunoglobulinas se inicia una amplia gama de respuestas biológicas, que incluyen la fagocitosis, la CCDA y la liberación de mediadores de la inflamación. Existen varias clases de receptores Fc, dependiendo del tipo de inmunoglobulina que reconocen. Los receptores que unen Inmunoglobulina G (IgG) se conocen como receptores Fc gamma ($Fc\gamma R$) y se distinguen en tres grupos: $Fc\gamma R1$, $Fc\gamma R2$ y $Fc\gamma R3$ (103). Cada grupo de estos receptores es codificado por varios genes y a su vez estos presentan distintos polimorfismos, lo que se puede traducir en varias isoformas con afinidad, estructura y respuestas biológicas diferentes. Dado que trastuzumab es un anticuerpo monoclonal con estructura IgG y que por tanto su mecanismo de acción es, entre otros, la estimulación de la respuesta inmune biológica, los polimorfismos en los genes $Fc\gamma R$ son potenciales biomarcadores de respuesta al fármaco.

En este sentido se han identificado dos SNPs en los genes $Fc\gamma R2A$ y $Fc\gamma R3A$, que se localizan en el brazo largo del cromosoma 1, y están separados aproximadamente por 35 kb. El primero de ellos se localiza en el codón 131 de $Fc\gamma R2A$ y consiste en la sustitución de una adenina (A) por una guanina (G) dando como resultado el aminoácido histidina (CAT/His) o arginina (CGT/Arg). El segundo afecta a $Fc\gamma R3A$ y supone un cambio de una citosina (C) por una adenina (A), que da lugar a una valina (CAA/Val) o una fenilalanina (AAA/Phe) en la posición 158. Ambos

SNPs están relacionados con la afinidad con la que se unen las IgGs a sus receptores (104-106), siendo los genotipos Fc γ R2A-131 His/His (H/H) y Fc γ R3A-158 Val/Val (V/V) los que se han asociado con mejores respuestas clínicas en diversos estudios realizados con rituximab en linfoma folicular y linfoma difuso de células grandes, y cetuximab en cáncer colorrectal metastásico (107-110).

El primer estudio que puso de manifiesto la influencia de estos SNPs en la CCDA mediada por trastuzumab fue el llevado a cabo por Musolino et al. (111) en 2008. En él se incluyeron 54 pacientes con cáncer de mama metastásico HER2 positivo, encontrándose que aquellos pacientes con genotipo Fc γ R2A-131 H/H y/o Fc γ R3A-158 V/V presentaban mejor tasa de respuesta y supervivencia libre de progresión (SLP) comparada con aquellas que presentaban otros genotipos ($p=0,01$). Posteriormente Tamura et al. (112) publicaron en 2011 un estudio que incluyó a 15 pacientes en tratamiento con trastuzumab en neoadyuvancia y 35 pacientes con trastuzumab en tratamiento metastásico. Los resultados mostraron nuevamente que los pacientes con genotipo Fc γ R2A-131 H/H presentan una SLP mayor que aquellos con otro genotipo ($p=0,034$). Sin embargo el polimorfismo en Fc γ R3A-158 no se asoció con la respuesta.

Recientemente Hurvitz et al. (113) han publicado el estudio con mayor número de pacientes que examina el efecto de los polimorfismos en Fc γ Rs. Los resultados, que incluyeron a más de 1200 pacientes, no mostraron asociación estadísticamente significativa que relacionara la respuesta a trastuzumab con los SNPs en Fc γ R2A y 3A.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

En la actualidad, existe una amplia evidencia científica, basada en los resultados de los ensayos clínicos y metaanálisis disponibles, acerca de la elección del tratamiento del cáncer de mama HER2 positivo. Sin embargo, no se dispone de biomarcadores que seleccionen de forma individual qué paciente responderá o no al tratamiento y cuál desarrollará efectos secundarios con el mismo fármaco.

El tratamiento con trastuzumab produce, como efecto adverso más relevante, cardiotoxicidad. La incidencia de toxicidad cardiaca grave (NYHA III/IV o insuficiencia cardiaca sintomática) asociada al tratamiento con trastuzumab se estima entre el 0,1% (70) y 4,1% (68) de los pacientes, y una mayor proporción de pacientes (4,3-18,9%) (71) tiene que suspender el tratamiento debido a problemas cardiacos.

Los estudios publicados hasta la fecha relacionan la cardiotoxicidad del trastuzumab con mutaciones o alteraciones en la expresión de determinados genes, el más importante de ellos es el gen HER2/neu (99-102). El polimorfismo en el codón 655 (I>V) de dicho gen parece estar implicado en el desarrollo de toxicidad cardiaca tras el tratamiento con trastuzumab.

Por otro lado, se sabe que sólo el 25-30% de los pacientes con cáncer de mama HER2 positivo en estadio metastásico responderán al tratamiento con trastuzumab (111) y que únicamente el 30% de los pacientes tratados en neoadyuvancia con trastuzumab alcanzarán respuesta completa (112). Este hecho se ha relacionado con la presencia de dos polimorfismos genéticos en los genes que codifican para el receptor Fc de las Inmunoglobulinas G: FcγR2A-131 y FcγR3A-158. Los diferentes genotipos de dichos polimorfismos determinan una mayor o menor afinidad con la que se unen las inmunoglobulinas a su receptor y, por tanto, una respuesta inmune variable. Dado que trastuzumab es un anticuerpo monoclonal con estructura IgG, la respuesta al fármaco puede verse afectada por la presencia de estos polimorfismos.

Por todo ello, se hace necesario identificar y validar robustos biomarcadores predictores de cardiotoxicidad y de respuesta a la terapia con trastuzumab en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo.

1. HIPÓTESIS

La identificación de marcadores genéticos en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo permite predecir y prevenir la cardiotoxicidad asociada al tratamiento con trastuzumab así como predecir la evolución y/o progresión del tumor, aumentando la seguridad de la farmacoterapia y optimizando el uso racional del medicamento.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO PRINCIPAL

- Estudiar la posible asociación entre cardiotoxicidad y el polimorfismo HER2-Ile655Val en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo en tratamiento con trastuzumab.

2.2. OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Determinar el tipo de toxicidad cardíaca producida por trastuzumab en la población de estudio y analizar sus características.
- Medir el impacto de determinadas variables que puedan postularse como factores de riesgo para la aparición de cardiotoxicidad tras el tratamiento con trastuzumab.
- Determinar la influencia del polimorfismo HER2-Ile655Val en la cardiotoxicidad asociada al tratamiento con trastuzumab en la población de estudio.
- Realizar un metaanálisis con los estudios publicados hasta la fecha para determinar la influencia del polimorfismo HER2-Ile655Val en la cardiotoxicidad asociada al tratamiento con trastuzumab en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo.

- Estudiar la influencia de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe en la evolución de la enfermedad y en la respuesta a trastuzumab.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio observacional retrospectivo.

2. POBLACIÓN Y PERIODO DE ESTUDIO

El estudio se realizó en pacientes diagnosticadas de cáncer de mama HER2 positivo en tratamiento con trastuzumab en el Hospital Universitario San Cecilio de Granada y el Hospital Torrecárdenas de Almería desde Enero de 2012 a Diciembre de 2013.

2.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes con diagnóstico de cáncer de mama HER2 positivo.
- Tratamiento con trastuzumab.
- Sexo femenino.
- Edad \geq 18 años.

2.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Pacientes con neoplasia primaria o metástasis de otro origen, salvo carcinoma de cérvix estadio I resecado o tumores cutáneos resecados sin afectación ganglionar.
- Incapacidad o negativa a participar en el estudio o a cumplimentar la hoja de Consentimiento Informado (CI).

3. TAMAÑO DE MUESTRA

Basándonos en estudios previos (100), en los que se analizó el porcentaje de pacientes con cardiotoxicidad con presencia del genotipo I/V del polimorfismo HER2 Ile655Val, este fue del 100,00% frente al 28,57% de los pacientes que no presentaron cardiotoxicidad. Con esto datos se calcula el tamaño de muestra del estudio considerando una potencia del 80,00% para detectar diferencias en el contraste de la hipótesis nula $H_0:p_1=p_2$ mediante una prueba chi cuadrado bilateral para dos muestras independientes, teniendo en cuenta que el nivel de significación es del 5%, y asumiendo que la proporción de I/V en el grupo de mujeres con cardiotoxicidad es del 100,00% y en el grupo de no cardiotoxicidad es del 28,57%, y que la proporción de pacientes con cardiotoxicidad respecto el total es del 19,00%, será necesario incluir 4 pacientes con cardiotoxicidad y 18 pacientes sin cardiotoxicidad, totalizando 22 pacientes. Teniendo en cuenta que el porcentaje esperado de abandonos es del 10,00% sería necesario reclutar 5 pacientes con cardiotoxicidad y 20 pacientes sin cardiotoxicidad, totalizando 25 pacientes en el estudio.

4. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

4.1. VARIABLES DE RESULTADO O DEPENDIENTES

4.1.1. Relacionadas con cardiotoxicidad

- Cardiotoxicidad: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No. Se mide en función de varios parámetros:
 - Cuando aparezca de forma asintomática: A través de la FEVI, que es una variable cuantitativa continua. Se considerará que existe toxicidad cardiaca cuando:
 - $FEVI \leq 44 \%$.

- FEVI = 45-49 % y haya un descenso ≥ 10 % con respecto a la FEVI basal.
 - Haya un descenso de la FEVI ≥ 15 % con respecto a la FEVI basal.
- Cuando aparezca de forma sintomática: cuando exista clínica de insuficiencia cardiaca.

4.1.2. Relacionadas con la evolución

4.1.2.1. Pacientes no metastásicas

- Supervivencia libre de recaída (SLR): Variable cuantitativa discreta. Tiempo transcurrido desde la cirugía hasta la fecha de recaída local o recaída como enfermedad metastásica o hasta la fecha última de seguimiento.
- Supervivencia global (SG): Variable cuantitativa discreta. Tiempo transcurrido desde la cirugía hasta la fecha de muerte por cualquier causa o hasta la fecha última de seguimiento.

4.1.2.2. Pacientes metastásicas

- Supervivencia libre de progresión (SLP): Variable cuantitativa discreta. Tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento con trastuzumab para la enfermedad metastásica hasta la progresión de la enfermedad o hasta la fecha última de seguimiento.
- SG: Variable cuantitativa discreta. Tiempo transcurrido desde el inicio del tratamiento con trastuzumab para la enfermedad metastásica hasta la muerte por cualquier causa o hasta la fecha última de seguimiento.

- Respuesta al tratamiento: Evalúa la reducción del tamaño tumoral en base a los criterios de evaluación de la respuesta en tumores sólidos: Response Evaluation Criteria In Solid Tumors (RECIST) (114). Variable categórica nominal que toma los siguientes valores:
 - Respuesta completa (RC): cuando desaparecen la enfermedad medible y la evaluable, sin que aparezcan nuevas lesiones, con ausencia de síntomas y normalización de marcadores, durante al menos 4 semanas.
 - Respuesta parcial (RP): cuando la suma de los diámetros de las lesiones diana se reduce al menos un 30%, con ausencia de nuevas lesiones y ausencia de progresión en las lesiones.
 - Enfermedad estable (EE): Cuando la suma de los diámetros de las lesiones diana disminuye menos del 30% o incrementa en menos del 20%.
 - Progresión de la enfermedad (PE): cuando la suma de los diámetros de las lesiones diana aumenta un 20% o se produce un incremento absoluto de al menos 5mm, o aparecen nuevas metástasis o progresan las lesiones no diana.
- Tasa de respuesta objetiva (TRO): Variable cuantitativa continua. Porcentaje de pacientes con reducción del tamaño tumoral en una cantidad predefinida y durante un periodo de tiempo mínimo. Se define como la suma de RC y RP.

4.2. VARIABLES INDEPENDIENTES

4.2.1. Socio-demográficas

- Edad al diagnóstico: Variable cuantitativa continua medida en años.

- Estadío menopáusico basal: Variable categórica nominal que toma los valores premenopáusia/menopáusia.
- Antecedentes personales oncológicos: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Antecedentes familiares oncológicos: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Antecedentes personales cardíacos: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Antecedentes familiares cardíacos: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Hipercolesterolemia: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Hipertensión: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Obesidad: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Diabetes mellitus: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Tabaco: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No
- FEVI basal: Variable cuantitativa continua.
- ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) (115): Escala que valora la calidad de vida de un paciente oncológico mediante la evolución de las capacidades del paciente en su vida diaria. Variable categórica ordinal que toma los siguientes valores:
 - ECOG 0: El paciente se encuentra totalmente asintomático y es capaz de realizar un trabajo y actividades normales de la vida diaria.

- ECOG 1: El paciente presenta síntomas que le impiden realizar trabajos arduos, aunque se desempeña normalmente en sus actividades cotidianas y en trabajos ligeros. El paciente sólo permanece en la cama durante las horas de sueño nocturno.
- ECOG 2: El paciente no es capaz de desempeñar ningún trabajo, se encuentra con síntomas que le obligan a permanecer en la cama durante varias horas al día, además de las de la noche, pero que no superan el 50% del día. El individuo satisface la mayoría de sus necesidades personales solo.
- ECOG 3: El paciente necesita estar encamado más de la mitad del día por la presencia de síntomas. Necesita ayuda para la mayoría de las actividades de la vida diaria como por ejemplo el vestirse.
- ECOG 4: El paciente permanece encamado el 100% del día y necesita ayuda para todas las actividades de la vida diaria, como por ejemplo la higiene corporal, la movilización en la cama e incluso la alimentación.

4.2.2. Relativas a la enfermedad

- Tipo histopatológico: Variable categórica nominal que toma los valores:
 - Carcinoma ductal infiltrante (CDI).
 - Carcinoma lobulillar.
 - Otros: Los distintos a los anteriores: medular, el coloide, el tubular, etc.
- Afectación ganglionar: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Estadio tumoral: Describe el grado de extensión de un tumor, según la clasificación TNM de la AJCC (116), mediante la medida o extensión del tumor

(T), la extensión a ganglios cercanos o regionales (N), y la diseminación a distancia o metástasis (M). Variable categórica ordinal que toma los siguientes valores:

- Estadio 0: Tis N0 M0
 - Estadio I: T1N0 M0
 - Estadio IIA: T0 N1 M0, T1 N1 M0, T2 N0 M0
 - Estadio IIB: T2 N1 M0, T3 N0 M0
 - Estadio IIIA: T0 N2 M0, T1 N2 M0, T2 N2 M0, T3 N1 M0, T3 N2 M0
 - Estadio IIIB: T4 cualquier N M0, cualquier T N3 M0
 - Estadio IV: cualquier T cualquier N M1
- Grado histológico: Variable categórica ordinal que toma los siguientes valores:
- Grado 1: Bien diferenciado (Grado bajo)
 - Grado 2: Moderadamente diferenciado (Grado intermedio)
 - Grado 3: Mal diferenciado (Grado alto)
- Invasión linfovascular/perineural: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Expresión de receptores estrogénicos (RcE): Variable categórica nominal que toma los valores positivo (+)/ negativo (-).
- Expresión de receptores de progesterona (RcP): Variable categórica nominal que toma los valores positivo (+)/ negativo (-).
- Grado de expresión HER2: Variable categórica nominal que toma los valores positivo (+)/doble positivo(++)/triple positivo(+++).

- Tasa de proliferación tumoral: Variable categórica nominal que toma los valores:
 - Alta: Expresión del antígeno Ki67 > 14%.
 - Baja: Expresión del antígeno Ki67 ≤ 14%.

- Diseminación de la enfermedad: Variable categórica nominal que toma los siguientes valores:
 - Recaída local: Piel +/- ganglios regionales. (aquí van todas las no metastásicas)
 - Metástasis viscerales.
 - Metástasis no viscerales: Ganglionar, local y ósea.

4.2.3. Relativas al tratamiento

- Antraciclinas en neoadyuvancia: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No. Tratamiento que se administra como primer paso para reducir el tamaño del tumor antes de la cirugía.

- Antraciclinas en adyuvancia: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No. Tratamiento adicional que se administra después de la cirugía para disminuir el riesgo de recurrencia de la enfermedad, previo al tratamiento con trastuzumab.

- Taxanos en neoadyuvancia: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No. Tratamiento que se administra como primer paso para reducir el tamaño del tumor antes de la cirugía.

- Taxanos en adyuvancia: Variable categórica nominal que toma los valores Si/No. Tratamiento adicional que se administra después de la cirugía para disminuir el

riesgo de recurrencia de la enfermedad, de forma concomitante con trastuzumab.

4.2.4. Genéticas

- SNP HER2-Ile655Val (rs1136201). Variable categórica nominal que toma los valores:
 - I/I: Isoleucina/Isoleucina. Otras denominaciones: Ile/Ile, ATC/ATC, A/A.
 - I/V: Isoleucina/Valina. Otras denominaciones: Ile/Ile, ATC/GTC, A/G.
 - V/V: Valina/Valina. Otras denominaciones: Val/Val, GTC/GTC, G/G.

- SNP FcγR2A-His131Arg (rs1801274). Variable categórica nominal que toma los valores:
 - H/H: Histidina/Histidina. Otras denominaciones: His/His, CAT/CAT, A/A.
 - H/R: Histidina/Arginina. Otras denominaciones: His/Arg, CAT/CGT, A/G.
 - R/R: Arginina/Arginina. Otras denominaciones: Arg/Arg, CGT/CGT, G/G.

- SNP FcγR3A-Val158Phe (rs396991). Variable categórica nominal que toma los valores:
 - V/V: Valina/Valina. Otras denominaciones: Val/Val, CAA/CAA, C/C.
 - V/F: Valina/Fenilalanina. Otras denominaciones: Val/Phe, CAA/AAA, C/A.
 - F/F: Fenilalanina/Fenilalanina. Otras denominaciones: Phe/Phe, AAA/AAA, A/A.

5. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

5.1. RECOGIDA DE LA MUESTRA

En primer lugar se realizó una búsqueda selectiva de las pacientes que habían estado en tratamiento con trastuzumab en el periodo de estudio. Se obtuvo un listado a través del programa informático de dispensación de fármacos citostáticos de Farmatools® (Dominion) y se procedió a la localización de aquellas pacientes que cumplieran los criterios de inclusión, para realizar la toma de muestra.

Se informó a las pacientes de los objetivos del estudio así como de las pruebas a realizar y se solicitó un Consentimiento Informado (Anexo I).

A continuación se recogieron tres muestras de saliva de cada paciente con la ayuda de un hisopo, para la posterior obtención, procesamiento y caracterización del DNA en el laboratorio de farmacogenética del centro de investigación GENYO (Centro de Genómica e Investigació Oncológica: Pfizer – Universidad de Granada – Junta de Andalucía).

5.2. SECUENCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS

La secuenciación de los distintos polimorfismos se realizó mediante la técnica de PCR-real time (RT-PCR) o cuantitativa (qPCR), con sondas específicas de hibridación de la marca comercial Life Technologies™ (Foster City, CA), llamadas sondas TaqMan® MGB, empleando la plataforma de genotipado de polimorfismo (SNP) Taqman® (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Esta tecnología nos permite hacer una discriminación alélica de SNP, indicándonos el porcentaje de cada alelo en la muestra. La discriminación alélica se hizo mediante la lectura de la fluorescencia llevada a cabo con el sistema de detección ABI PRISM 7500 Sequence

Detection Systems, usando el software para discriminación alélica 2.3 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

5.2.1. Tecnología TaqMan®

La tecnología de las sondas TaqMan® se basa en aprovechar la actividad exonucleasa 5'→3' de la enzima *Thermus aquaticus* DNA polimerasa (Taq DNA Polimerasa) para que degrade la sonda de hibridación durante la amplificación por PCR, y en la detección de fluorescencia específica emitida por varias sondas diseñadas para el polimorfismo a estudiar.

Las sondas TaqMan® son oligonucleótidos con una longitud media de 20 a 30 pares de bases y están diseñadas para que se hibriden por complementariedad de bases con el centro del amplicón o producto de PCR, generado por la extensión de los cebadores, que contiene el polimorfismo de interés. La sonda intacta tiene unido en su extremo 5' un fluorocromo donador (reporter) cuya emisión de fluorescencia está inhibida por la proximidad de una molécula unida al extremo 3' llamada apantallador, inhibidor, apagador o aceptor (quencher) no fluorescente (NFQ).

Durante la amplificación por PCR, si la Taq DNA polimerasa se encuentra con la sonda unida a la hebra de DNA que se está extendiendo, la hidroliza mediante su actividad exonucleasa 5'→3'. La hidrólisis de la sonda hibridada libera el reporter unido a su extremo 5' que, al alejarse del quencher que lo inhibía por proximidad, emite fluorescencia específica del tipo de fluorocromo (Figura 4). La fluorescencia emitida por el reporter liberado es directamente proporcional a la cantidad de amplicón producido. El incremento de fluorescencia se monitoriza al final de la reacción (PCR de tiempo final) o durante la reacción, en cada uno de los ciclos (qPCR).

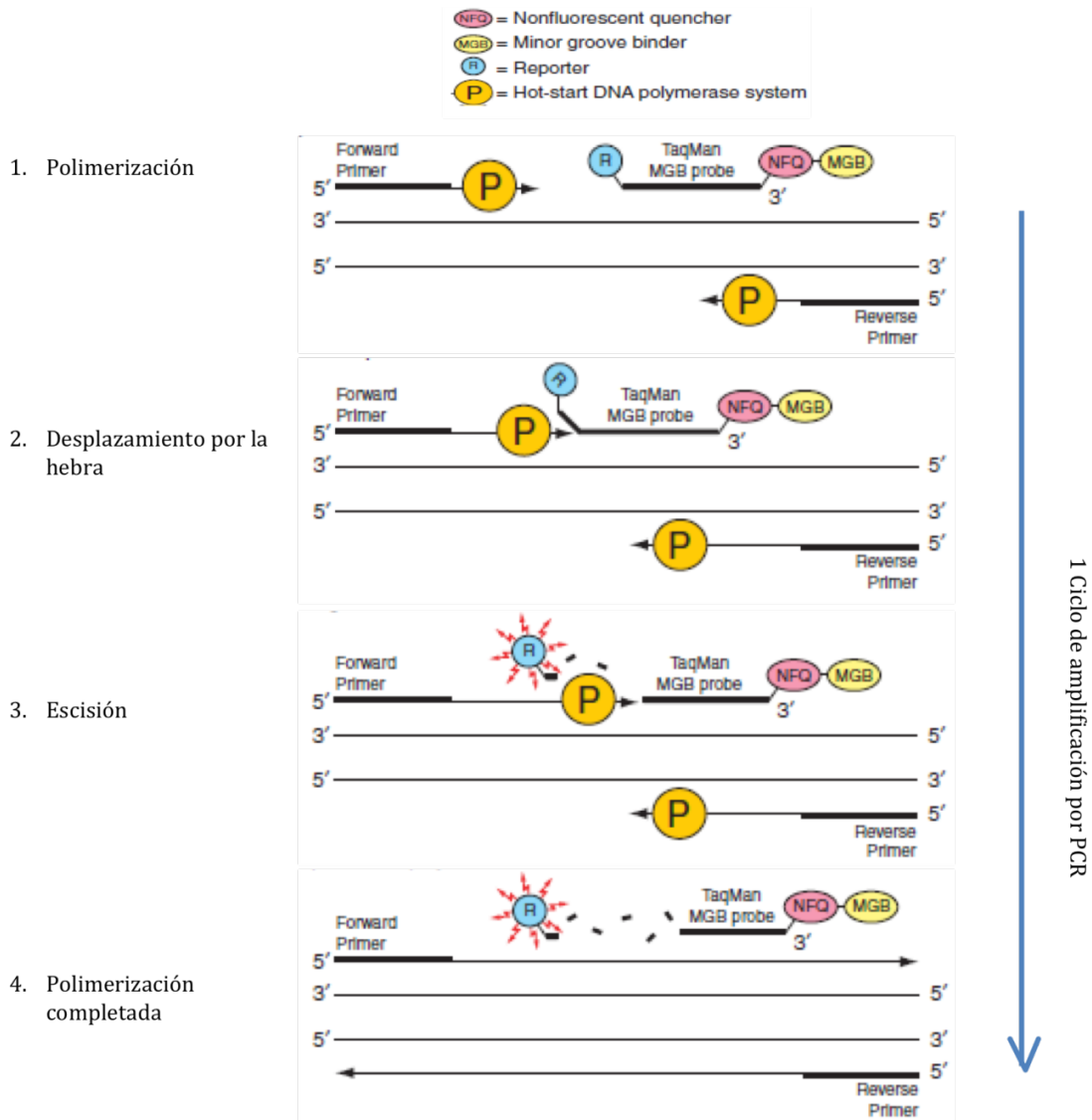


Figura 4. Representación paso a paso del proceso del ensayo exonucleasa 5' de las sondas TaqMan® MGB que tiene lugar en cada ciclo durante la amplificación por PCR ("TaqMan® Fast Universal PCR Master Mix (2X)," 2011).

5.2.2. Detección de SNPs

La tecnología TaqMan se puede emplear para el genotipado de SNPs. Este ensayo, denominado TaqMan® SNP Genotyping Assay por Life Technologies™, utiliza la actividad exonucleasa 5'→3' de la Taq DNA polimerasa, junto con dos sondas TaqMan® para discriminar entre los dos alelos de un SNP. Estas sondas TaqMan® son complementarias a cada uno de los dos alelos de un SNP. Cada una tiene un

reporter en el extremo 5' que emite fluorescencias, cuando está libre, con diferente espectro de excitación y emisión (FAM® dye o VIC® dye), y un quencher no fluorescente (NFQ) en su extremo 3'. Durante la fase de amplificación por PCR, la Taq DNA polimerasa degrada las sondas hibridadas con el DNA, produciéndose la emisión de fluorescencia específica a una de las sondas o a ambas, según el alelo encontrado (Figuras 5, 6 y 7).

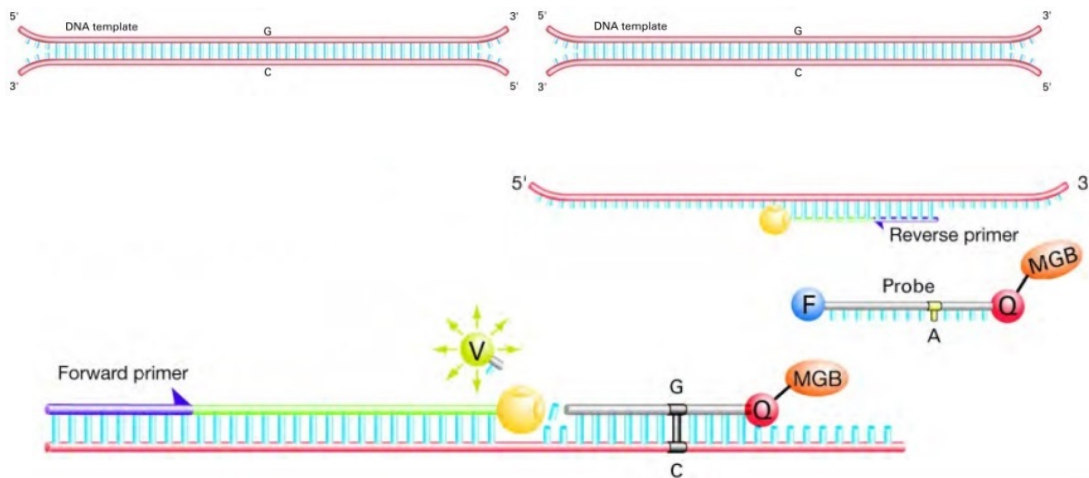


Figura 5. Emisión de fluorescencia VIC® debido a que el individuo es homocigoto para el alelo C.

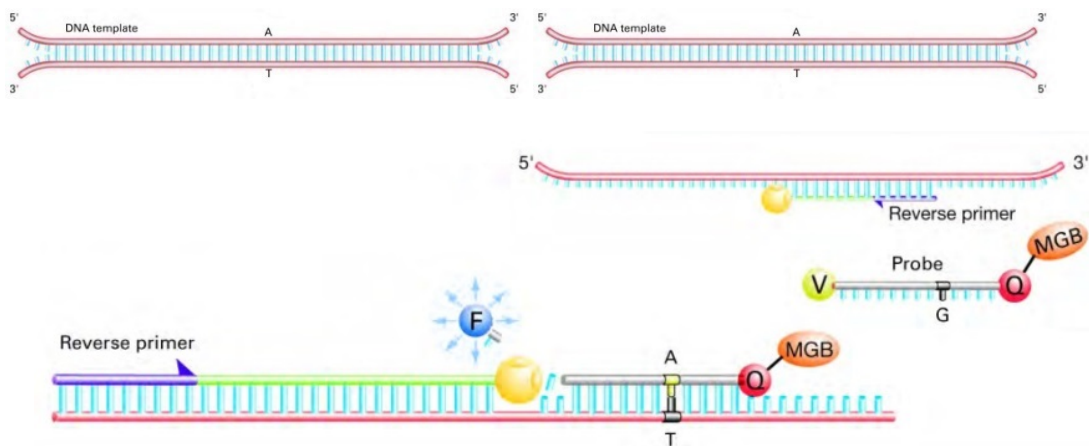


Figura 6. Emisión de fluorescencia FAM® debido a que el individuo es homocigoto para el alelo T.

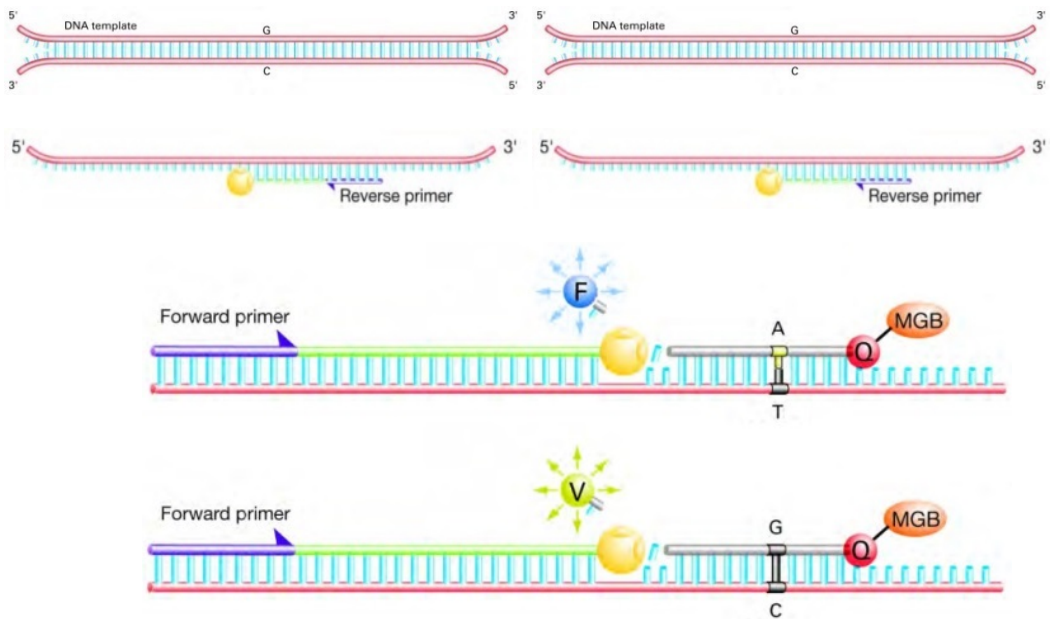


Figura 7. Emisión de fluorescencia VIC® y FAM™ debido a que el individuo es heterocigoto (TC).

Finalmente se lleva a cabo la lectura de la fluorescencia mediante un sistema de detección que representa distintos puntos en una gráfica y permite realizar la discriminación alélica (Figura 8).

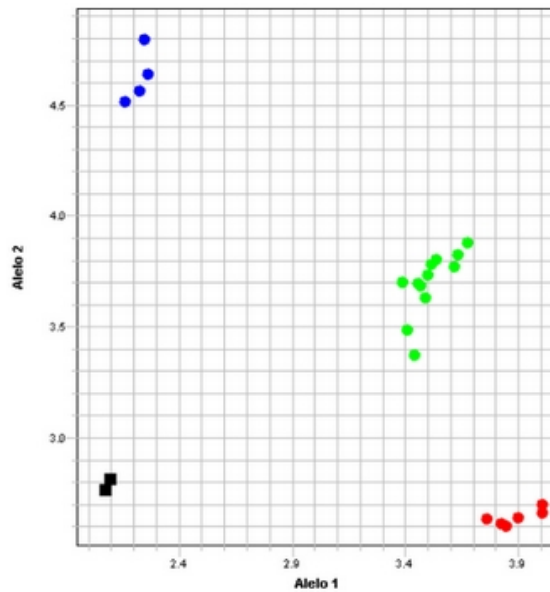


Figura 8. Datos de fluorescencia obtenidos en la lectura final en un grupo de muestras. Los puntos azules, próximos al eje de coordenadas, y los puntos rojos, próximos al eje de abscisas, son cada uno de los homocigotos. Los puntos verdes son los heterocigotos.

5.3. OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN

5.3.1. Variables socio-demográficas y relativas a la enfermedad

Los datos socio-demográficos y los relativos a la enfermedad se obtuvieron de las historias clínicas de las pacientes. Para ello utilizamos los programas informáticos de historia clínica electrónica Archinet® y DAE® (Diraya de Atención Especializada), a través de los cuales podemos consultar los distintos procesos que hay abiertos en los diferentes servicios del hospital.

Los informes consultados fueron principalmente los de los servicios de Oncología, Cirugía General y Anatomía patológica. Los apartados más importantes a revisar y la información más relevante que se obtuvo fue:

- Datos generales de las pacientes: nombre, sexo, edad, fecha de nacimiento, número de historia, etc.
- Hoja de historia clínica de oncología: donde se revisó los antecedentes personales y familiares, los resultados de la exploración, las pruebas complementarias y el diagnóstico.
- Informe de anatomía patológica: donde se recogieron datos relativos al tumor como el tipo histopatológico, estadio tumoral, grado histológico, afectación ganglionar, RcE, RcP, grado de expresión HER2, invasión linfocelular/perineural, expresión del antígeno Ki67, etc.
- Hoja de evolución de consulta de oncología: donde se hacen constar los datos de las distintas revisiones en consulta de las pacientes.
- Informe de cirugía y hoja quirúrgica: mediante los cuales se obtuvo la fecha y el tipo de intervención para la extirpación del tumor.

Asimismo se consultó con el clínico todas aquellas dudas o cuestiones que requirieran alguna aclaración de la historia clínica del paciente.

5.3.2. Variables relativas al tratamiento

Para la recogida de datos referentes al tratamiento se consultó tanto el módulo de pacientes ambulantes del programa informático de dispensación de fármacos citostáticos de Farmatools® (Dominion), como la hoja de tratamiento citostático disponible en el programa de historia clínica electrónica Archinet®, donde se registra el tratamiento prescrito por el oncólogo, fecha de inicio, número de ciclos, posología, etc.

Una vez recogidos todos estos datos, se registraron en una base de datos Excel para su posterior procesamiento.

5.3.3. Variables relacionadas con cardiotoxicidad

La variable cardiotoxicidad es una variable compleja compuesta por dos subvariables: la cardiotoxicidad asintomática, medida a través de la FEVI y la cardiotoxicidad sintomática, medida a través de la aparición de Insuficiencia cardiaca. Estas dos medidas se evaluaron durante un año desde el inicio del tratamiento con trastuzumab, estando recogidas en la historia clínica electrónica (Archinet®):

- FEVI: Se determinó al inicio del tratamiento (basal) y a los 3, 6, 9 y 12 meses a través de ecocardiografía o MUGA. Las pacientes debían tener al menos la medida de FEVI basal y dos medidas más para poder ser incluidas en el estudio. En caso de que el dato de FEVI basal apareciese informado como “Normal” se consideraba igual al dato más alto recogido durante el año de tratamiento y siempre por encima del 55%.

- Insuficiencia cardiaca: La presencia de sintomatología de insuficiencia cardiaca se evaluó en las distintas revisiones oncológicas recogidas en las hojas de evolución de consulta y en determinados casos en las hojas de interconsulta a cardiología.

5.3.4. Variables relacionadas con la evolución

Las variables relacionadas con la evolución de la enfermedad se recogieron de los programas de historia clínica electrónica Archinet® y DAE®. En ellos se consultó la hoja de evolución de consulta de oncología y los informes de pruebas complementarias (radiodiagnóstico, anatomía patológica, análisis, etc.) desde la inclusión de las pacientes en el estudio hasta la fecha última de seguimiento.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En primer lugar se realizó un análisis descriptivo de las características basales de los sujetos de estudio. Se calcularon medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas, y frecuencias absolutas y relativas para las cualitativas. Asimismo, se compararon las distribuciones de frecuencias (porcentajes) de las características basales de las pacientes según el genotipo del polimorfismo HER2-Ile655Val.

Para evaluar la homogeneidad en la distribución de los genotipos se calculó el HWE (117) para los distintos polimorfismos, mediante el test de chi-cuadrado de Pearson, considerando un nivel de significación de $p < 0,050$. El principio de HWE determina qué frecuencias deben observarse en la población para cada genotipo en función de las frecuencias de los alelos. En condiciones habituales, si la transmisión de los alelos de los progenitores a los descendientes es independiente y no ocurren

fenómenos distorsionadores, como la aparición frecuente de nuevas mutaciones o la selección de alelos, la probabilidad de observar una combinación de alelos concreta (un genotipo) depende del producto de las probabilidades (frecuencias) de cada alelo.

Previo al análisis bivalente, se realizó el test de Shapiro Wilks para comprobar la normalidad de las variables continuas, y determinar la utilización de test paramétricos o no paramétricos. Para contrastar posibles diferencias entre los grupos de pacientes, según presenten cardiotoxicidad o no, respecto a las características basales, se utilizó el test chi-cuadrado de Pearson o Fisher para las variables cualitativas y el test t de Student para las cuantitativas previa comprobación de la normalidad en los grupos.

A continuación, se realizó un análisis de regresión logística para los diferentes modelos genéticos con el fin de evaluar la asociación entre toxicidad cardiaca y los distintos genotipos del polimorfismo HER2-Ile655Val en nuestra muestra de pacientes. Se calcularon Odds Ratios (ORs) y los correspondientes intervalos de confianza (IC 95%), considerando un nivel de significación de $p < 0,050$.

Posteriormente se realizó un modelo de regresión logística multivariante para analizar las variables que se relacionan con la presencia de cardiotoxicidad, considerando como variables independientes del modelo el genotipo HER2-655 I/V, además de las variables con significación estadística en el análisis bivalente (considerando un valor de $p < 0,100$), las clínicamente relevantes y posibles factores de confusión. Se utilizó el método hacia atrás por pasos, que comienza incluyendo en el modelo todas las variables independientes seleccionadas y luego procede a eliminarlas una a una. En cada paso sucesivo se van extrayendo las variables sin significación estadística ($p > 0,050$) por orden de mayor a menor valor de p. La eliminación de variables se detiene cuando sólo quedan variables estadísticamente significativas ($p < 0,050$).

Para llevar a cabo el metanálisis, en Septiembre de 2014 se realizó una búsqueda sistemática de la literatura en PubMed utilizando como términos MESH: Trastuzumab, Cardiac toxicity, Polymorphism, HER2. Los artículos encontrados fueron revisados para determinar su relevancia en relación con los determinantes genéticos de cardiotoxicidad inducida por trastuzumab. Los estudios que relacionaban el polimorfismo HER2-Ile655Val con cardiotoxicidad fueron seleccionados y evaluados exhaustivamente para su inclusión, excluyendo las revisiones y los abstracts. Se realizó la prueba de heterogeneidad de los diferentes estudios con el test de Breslow-Day (118), utilizando un nivel de significación de $p < 0,050$. Se calcularon las ORs combinadas e IC 95% mediante el test exacto de Fisher y modelos de efecto fijo.

En cuanto a la evolución de la enfermedad, la asociación de los polimorfismos Fc γ R2A-Arg131His y Fc γ R3A-Val158Phe con las variables SLR, SLP, y SG, se evaluó utilizando el método de Kaplan-Meier y la prueba de log-rank, considerando un nivel de significación de $p < 0,050$. La variable de respuesta al tratamiento, TRO, se analizó para cada polimorfismo utilizando el test exacto de Fisher.

Todos los análisis se realizaron con el programa SPSS v. 21 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, EE.UU.), software SNPstats (Instituto Catalán de Oncología, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, España), y el entorno estadístico R commander versión 3.2.

7. ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

El estudio se llevó a cabo tras la aprobación por el Comité Ético y de Investigación Clínica del Hospital Universitario San Cecilio (Anexo II), de acuerdo con los requerimientos expresados en la:

- Ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica.

- Orden ministerial SAS/3470/2009, por la que se publican las directrices sobre estudios postautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano.
- Declaración de Helsinki (revisión de Seúl, Octubre de 2008). Ésta define los principios que deben ser respetados escrupulosamente por todas las personas implicadas en esta investigación.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustó a lo dispuesto en la:

- Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

A cada sujeto que se le propuso entrar en el estudio se le entregó un documento escrito denominado "Consentimiento informado - Información al paciente" (Anexo I), que contenía la información relevante y necesaria para que el paciente pudiera decidir acerca de su participación en el estudio.

Se informó al paciente sobre la naturaleza voluntaria de su participación y se le explicó que no suponía ningún cambio ni en su tratamiento ni en su atención médica respecto a los que recibiría de no participar. El investigador contestó a sus dudas y preguntas y, de acuerdo con la normativa vigente, obtuvo el CI.

RESULTADOS

1. RESULTADOS RELACIONADOS CON LA CARDIOTOXICIDAD

1.1. CARACTERÍSTICAS BASALES Y FRECUENCIAS GENOTÍPICAS

Durante el periodo de estudio se incluyeron un total de 78 pacientes con cáncer de mama HER2-positivo que recibieron tratamiento con trastuzumab a una dosis inicial de 8mg/kg de peso seguido de 6mg/kg cada 3 semanas. Las características basales se detallan en la Tabla 2.

Características basales de las pacientes en función de HER2-Ile655Val				
Variables	Pacientes (n=78)	Genotipos		
		I/I (n=50)	I/V (n=26)	V/V (n=2)
Socio-demográficas				
Edad al diagnóstico (media ± DE)	51,72 ± 12,26	51,86 ± 13,46	50,65 ± 9,9	62 ± 1,41
Postmenopáusia [n (%)]	42 (53,85)	26 (52,00)	14 (53,80)	2 (100,00)
Ant. Oncológicos [n (%)]	12 (15,38)	8 (16,00)	4 (4,00)	0 (0,00)
Ant. familiares oncológicos [n (%)]	39 (50,00)	24 (48,00)	15 (57,70)	0 (0,00)
Ant. cardiacos [n (%)]	10 (12,82)	6 (12,00)	4 (15,38)	0 (0,00)
Ant. familiares cardiacos [n (%)]	10 (12,82)	5 (10,0)	5 (19,23)	0 (0,00)
Hipercolesterolemia [n (%)]	14 (17,95)	10 (20,00)	4 (15,38)	0 (0,00)
Hipertensión [n (%)]	25 (32,05)	15 (30,00)	10 (38,46)	0 (0,00)
Obesidad [n (%)]	16 (20,51)	10 (20,00)	6 (23,08)	0 (0,00)
Diabetes Mellitus [n (%)]	7 (8,97)	3 (6,00)	4 (15,38)	0 (0,00)
Tabaco [n (%)]	18 (23,08)	9 (18,00)	8 (30,77)	1 (50,00)
FEVI basal (media ± DE)	62,04 ± 6,50	61,75 ± 5,65	62,67 ± 8,15	61,00 ± 2,83
Relativas a la enfermedad				
Tipo histopatológico [n (%)]				
CDI	72 (92,30)	44 (88,00)	26 (100,00)	2 (100,00)
C. lobulillar	3 (3,85)	3 (6,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Otros	3 (3,85)	3 (6,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Expresión de RcE [n (%)]	48 (61,54)	33 (66,00)	13 (50,00)	2 (100,00)
Expresión de RcP [n (%)]	41 (52,56)	28 (56,00)	12 (46,15)	1 (50,00)
Grado de expresión HER2 [n (%)]				
+	2 (2,57)	1 (2,22)	1 (4,00)	0 (0,00)
++	12 (15,38)	9 (20,00)	3 (12,00)	0 (0,00)
+++	58 (74,36)	35 (77,78)	21 (84,00)	2 (100,00)
Afectación ganglionar [n (%)]	36 (46,15)	21 (42,00)	14 (53,85)	1 (50,00)
Estadio tumoral [n (%)]				
I	24 (30,77)	19 (38,00)	4 (15,38)	1 (50,00)
IIa	13 (16,67)	9 (18,00)	4 (15,38)	0 (0,00)
IIb	10 (12,82)	6 (12,00)	4 (15,38)	0 (0,00)

Illa	12 (15,38)	7 (14,00)	5 (19,23)	0 (0,00)
IIIb	1 (1,28)	0 (0,00)	1 (3,85)	0 (0,00)
IIIc	1 (1,28)	1 (2,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
IV	17 (21,79)	8 (16,00)	8 (30,77)	1 (50,00)
Grado histológico [n (%)]				
1	4 (5,13)	2 (6,45)	2 (8,00)	0 (0,00)
2	33 (42,31)	18 (58,06)	13 (52,00)	2 (100,00)
3	21 (26,92)	11 (35,48)	10 (40,00)	0 (0,00)
Relativas al tratamiento				
Antraciclinas neoadyuvancia [n (%)]	32 (41,03)	18 (36,00)	13 (50,00)	1 (50,00)
Antraciclinas adyuvancia [n (%)]	30 (38,46)	21 (42,00)	9 (34,62)	0 (0,00)
Taxanos neoadyuvancia [n (%)]	27 (34,62)	15 (30,00)	11 (42,31)	1 (50,00)
Taxanos adyuvancia [n (%)]	33 (42,31)	20 (40,00)	12 (46,15)	1 (50,00)

Tabla 2. Características basales de las pacientes. Comparación según genotipo HER2-Ile655Val.

La edad media de las pacientes fue de 51,72 ($\pm 12,26$) años y más de la mitad de las pacientes (53,85%) eran postmenopáusicas. Cabe destacar que, previamente al inicio del tratamiento con trastuzumab, el 32,05% de las pacientes presentaba hipertensión arterial y un 12,82%, enfermedad cardíaca. En cuanto a la FEVI basal, hubo 6 pacientes (7,69%) cuyo ecocardiograma inicial se informó como “normal”, por lo que se consideraron como FEVIs basales los datos más altos recogidos durante el año de tratamiento.

En cuanto a las características de la enfermedad, un 92,30% tenían tumores de tipo ductal infiltrante, con un 61,54% y 52,56% de expresión de RcE y RcP, respectivamente.

De las pacientes estudiadas, 50 (64,10%) presentaron el genotipo I/I, 26 (33,33%) el genotipo I/V, y 2 (2,57%) el genotipo V/V para el polimorfismo HER2-Ile655Val. La distribución de los genotipos fue homogénea, cumpliéndose el principio de HWE ($p=0,519$).

Por otro lado, se calcularon las frecuencias genotípicas de la muestra de estudio y se compararon con las presentes en una muestra de otra población control (población sana) de Granada (Tabla 3).

Frecuencias genotípicas polimorfismo HER2-Ile655Val					
Genotipo	Recuento Muestra	Recuento Granada	Frecuencias Muestra	Frecuencias Granada	p-valor
I/I	50	62	0,64	0,65	0,644
I/V	26	29	0,33	0,30	
V/V	2	5	0,03	0,05	
Total	78	96			

Tabla 3. Frecuencias genotípicas del polimorfismo HER2-Ile655Val de la muestra de estudio y población control de Granada.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias genotípicas de la muestra de estudio y la población control de individuos sanos de Granada.

1.2. TOXICIDAD CARDIACA: CARACTERÍSTICAS Y FACTORES DE RIESGO

De las 78 pacientes incluidas en el estudio, 15 desarrollaron cardiotoxicidad asociada al tratamiento con trastuzumab, es decir, un 19,23%. De ellas, 3 pacientes (3,85%) desarrollaron insuficiencia cardíaca sintomática, y el resto, 12 pacientes (15,38%), experimentaron descensos asintomáticos en la FEVI.

De entre las pacientes que tuvieron descensos asintomáticos de la FEVI, 2 tuvieron una FEVI \leq 44%, 6 tuvieron FEVIs entre 44 y 49% y descensos \geq 10% con respecto a la FEVI basal, y en las 4 restantes hubo descensos de \geq 15 % con respecto a la FEVI basal.

De las 3 pacientes con insuficiencia cardiaca sintomática, todas recibieron trastuzumab en adyuvancia, 1 de ellas en monoterapia, otra en tratamiento concomitante con un taxano y la última con antraciclinas de forma secuencial.

En el caso de las 12 pacientes que desarrollaron disfunción cardiaca asintomática: 3 de ellas recibieron trastuzumab en neoadyuvancia, todas con antraciclinas y taxanos de forma secuencial; 7 de ellas recibieron trastuzumab en adyuvancia, 3 de ellas con antraciclinas y taxanos de forma secuencial, 1 con antraciclinas de forma concomitante, 2 con antraciclinas de forma secuencial, y 1 con trastuzumab en monoterapia; y 2 pacientes recibieron trastuzumab junto con taxanos, vinorelbina, capecitabina, y otros agentes quimioterápicos para el tratamiento de la enfermedad metastásica. Las características clínicas de las pacientes que desarrollaron cardiotoxicidad y su evolución en el tiempo se recogen en la tabla 4.

Tipos de cardiotoxicidad y características							
Cardiotoxicidad	Estadio tumoral	FEVI basal (%)	Tiempo hasta recaída (meses)	FEVI más baja (%)	Tiempo hasta recuperación (meses)	Interrupción Trastuzumab	Recaída tras reiniciar tratamiento
Sintomática	IIA	65	9	54	1	Sí	Sí
	IIB	53	9	53	No recupera	Sí	No reinicia
	IIIA	75	6	52	3	Sí	No
Asintomática	IIA	74	12	60	No recupera	Sí	No reinicia
	IIA	65	3	45	3	Sí	Sí
	IIIA	55*	6	42	2	Sí	Sí
	IV	52,4	6	41,6	1	Sí	No
	IV	53,6	6	44,3	2	Sí	No
	IIA	53	3	46,1	3	No	-
	IA	70	3	49	3	Sí	No
	IIB	78,7	3	62	3	No	-
	IA	71	12	59	2	No	-
	IA	60	6	50	2	No	-
	IA	64	9	49	1	Sí	No
	IIA	61,1	3	44,5	1	Sí	No

*FEVI basal informado como normal. Se consideró el dato más alto durante el año de tratamiento.

Tabla 4. Características clínicas de las pacientes con cardiotoxicidad y evolución durante el tratamiento.

De las 15 pacientes que presentaron cardiotoxicidad, ésta supuso la suspensión del tratamiento en 11 de ellas (73,33%), que constituyeron el 14,10% de los casos respecto al total de pacientes. Todas las pacientes excepto dos recuperaron la función cardiaca. El tratamiento con trastuzumab se reinició tras la normalización de parámetros en 9 de ellas, mientras que en las 2 restantes se suspendió de forma definitiva. Tras la reintroducción del fármaco, en aquellas pacientes en que había sido suspendido y recuperaron la función cardiaca, tres de ellas experimentaron una nueva recaída. La media del tiempo para la aparición de toxicidad cardíaca fue de 6 meses.

A continuación, se realizó un análisis bivalente con las variables independientes que pudieran tener relación con el desarrollo de toxicidad cardiaca, para determinar posibles factores de riesgo de cardiotoxicidad. Los resultados de este análisis se detallan en la Tabla 5.

Análisis bivalente de factores de riesgo cardiacos					
Variable	Pacientes (n=78)	Cardiotoxicidad (n=15)	No cardiotoxicidad (n=63)	OR (IC 95%)	p-valor
Edad	51,72 ± 12,26	53,87 ± 6,87	51,21 ± 13,22		0,281
Postmenopáusia	42	10	32	1,94 (0,59-6,32)	0,268
Enfermedad cardiaca previa	10	1	9	0,43 (0,05-3,67)	0,677*
Hipercolesterolemia	14	2	12	0,65 (0,13-3,29)	1,000*
Hipertensión	25	7	18	2,19 (0,69-6,92)	0,222*
Obesidad	16	6	10	3,53 (1,03-12,14)	0,069*
Diabetes	7	3	4	3,69 (0,73-18,64)	0,125*
Tabaco	18	4	14	1,27 (0,35-4,62)	0,739*
FEVI basal	62,04 ± 6,50	63,39 ± 8,90	61,72 ± 5,83		0,498
Antraciclinas en neoadyuvancia	32	4	28	0,46 (0,13-1,58)	0,208
Antraciclinas en adyuvancia	30	8	22	2,13 (0,68-6,65)	0,188
Taxanos en neoadyuvancia	27	4	23	0,63 (0,18-2,22)	0,472
Taxanos en adyuvancia	33	9	24	2,44 (0,77-7,71)	0,123

*p-valor calculado por test exacto de Fisher.

Tabla 5. Análisis bivalente de posibles factores de riesgo cardiaco.

Al analizar por separado la influencia de factores predisponentes para presentar disfunción cardíaca y la aparición de cardiotoxicidad, no se halló significación estadística para hipercolesterolemia, enfermedad cardíaca previa, hipertensión arterial, tabaco, estadio menopáusico y diabetes. Se observó una tendencia a presentar mayor edad en el grupo de pacientes con toxicidad ($53,87 \pm 6,87$ años frente a $51,21 \pm 13,22$ años), aunque tampoco fue significativo ($p=0,281$). Tan solo la variable obesidad influyó de forma significativa ($p<0,100$) en el desarrollo de cardiotoxicidad. De las pacientes afectadas de cardiotoxicidad, más de tres cuartas partes (12/15) habían recibido tratamiento previo con antraciclinas, 8 en adyuvancia y 4 en neoadyuvancia, si bien no supuso significación estadística ($p=0,208$ y $p=0,108$, respectivamente), al igual que tampoco se observaron diferencias en cuanto a la administración de taxanos en (neo)adyuvancia ($p=0,472$ y $p=0,123$). En cuanto a la variable FEVI basal, se observaron valores superiores al inicio del tratamiento en el grupo que presentó cardiotoxicidad, por lo que tampoco influyó significativamente ($p=0,498$).

1.3. ASOCIACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO HER2-ILE655VAL Y CARDIOTOXICIDAD

1.3.1. Resultados en población de estudio

Para evaluar el efecto del SNP HER2-Ile655Val sobre la toxicidad cardíaca se estudió la asociación bajo la estructura de cuatro posibles modelos de herencia: codominante, dominante, recesivo y sobredominante (Tabla 6).

Asociación entre HER2-Ile655Val y cardiotoxicidad					
Modelo	Genotipo	Cardiotoxicidad [n (%)]	No cardiotoxicidad [n (%)]	OR (IC 95%)	p-valor
Codominante	I/I	6 (40,00)	44 (69,84)	1,00 (Referencia)	0,024
	I/V	9 (60,00)	17 (26,98)	3,88 (1,20-12,57)	
	V/V	0 (0,00)	2 (3,17)	NA	
Dominante	I/I	6 (40,00)	44 (69,84)	1,00 (Referencia)	0,036
	I/V + V/V	9 (60,00)	19 (30,16)	3,47 (1,09–11,13)	
Recesivo	I/I + I/V	15 (100,00)	61 (96,83)	1,00 (Referencia)	1,000
	V/V	0 (0,00)	2 (3,17)	NA	
Sobredominante	I/I + V/V	6 (40)	46 (73,02)	1,0 (Referencia)	0,019
	I/V	9 (60)	17 (26,98)	4,06 (1,25-13,12)	

NA: No aplicable

Tabla 6. Análisis del riesgo de cardiotoxicidad asociada al tratamiento con trastuzumab de las variantes genéticas del polimorfismo HER2-Ile655Val en función del modelo de herencia.

El modelo codominante, que considera que cada genotipo proporciona un riesgo de cardiotoxicidad diferente y no aditivo, corresponde a la comparación de los genotipos heterocigoto y homocigoto portadores del alelo menos frecuente (I/V y V/V) con el genotipo homocigoto del alelo más frecuente (I/I). Así, se compararon I/V y V/V por separado respecto a I/I y se obtuvo una OR para cardiotoxicidad de 3,88 (IC 95% 1,20-12,57, p=0,024) para los portadores del genotipo I/V.

El modelo dominante supone que una única copia del alelo menos frecuente (V) es suficiente para modificar el riesgo y que ser portador de 2 copias lo modifica en igual magnitud, es decir, que tanto los portadores del genotipo I/V como los del V/V tienen el mismo riesgo. Por tanto, se compara la sumatoria de los genotipos heterocigoto y homocigoto portadores del alelo menos frecuente (I/V + V/V) con el genotipo homocigoto del alelo más frecuente (I/I). Para este modelo de herencia se obtuvo una OR de 3,47 (IC 95% 1,09-11,13, p=0,036).

En el caso del modelo recesivo, donde son necesarias 2 copias del alelo menos frecuente (V) para modificar el riesgo, los heterocigotos y los homocigotos del

alelo de mayor frecuencia (I/V y I/I) tienen el mismo riesgo. De esta forma, el genotipo V/V se compara con la combinación I/I + I/V. Al no haber ningún caso de cardiotoxicidad para el genotipo V/V no se pudo calcular OR, para este modelo.

Finalmente, para el modelo sobredominante, donde los individuos homocigotos para el genotipo más frecuente (I/I) y el genotipo variante (V/V) tienen el mismo riesgo, se compararon el heterocigoto (I/V) frente a la suma de los homocigotos (I/I + V/V), obteniéndose una OR de 4,06 (IC 95% 1,25-13,12, p=0,019).

Dados los resultados obtenidos, el genotipo que se asocia con un mayor riesgo de desarrollar cardiotoxicidad tras el tratamiento con trastuzumab es el I/V.

A continuación, se realizó un modelo de regresión logística multivariante para analizar la influencia de las distintas variables que tuvieron significación estadística en el análisis bivariante (genotipo HER2-655 I/V, obesidad) además de las clínicamente relevantes y posibles factores de confusión (diabetes, estadio menopáusico, hipertensión, FEVI basal, tratamiento con antraciclinas y con taxanos), en la variable resultado o dependiente cardiotoxicidad. Los resultados se detallan en la Tabla 7:

Análisis multivariante de variables relacionadas con cardiotoxicidad		
Variable	OR (IC 95%)	p-valor
Genotipo HER2-655 I/V	3,87 (1,09-13,77)	0,037
Obesidad	3,71 (0,83-16,62)	0,086
Diabetes	1,91 (0,28-12,95)	0,508
Estadio menopáusico	1,59 (0,41-6,21)	0,502
Hipertensión	1,10 (0,27-4,45)	0,895
FEVI basal	1,04 (0,94-1,15)	0,446
Tratamiento con antraciclinas	1,10 (0,21-5,81)	0,907
Tratamiento con taxanos	0,70 (0,15-3,20)	0,643

Tabla 7. Análisis multivariante de variables independientes con significación estadística en el análisis bivariante, clínicamente relevantes y factores de confusión con respecto a la cardiotoxicidad. Punto inicial.

En el análisis de regresión logística, sólo se obtuvieron resultados estadísticamente significativos ($p < 0,050$) para las odds ratio de la variable Genotipo Her2-655 I/V (OR: 3,87, IC 95%: 1,09-13,77, $p = 0,037$), y se observó una tendencia para la obesidad (OR: 3,71, IC 95%: 0,83-16,62, $p = 0,086$). Por último, se fueron sacando del modelo por este orden las variables: tratamiento con antraciclinas, hipertensión, tratamiento con taxanos, diabetes, estadio menopáusico y FEVI basal, permaneciendo tan sólo como única variable con significación estadística el genotipo HER2-655 I/V (Tabla 8).

Análisis multivariante de variables relacionadas con cardiotoxicidad		
Variable	OR (IC 95%)	p-valor
Genotipo HER2-655 I/V	4,06 (1,25-13,12)	0,019

Tabla 8. Análisis multivariante de variables independientes con significación estadística en el análisis bivalente, clínicamente relevantes y factores de confusión con respecto a la cardiotoxicidad. Punto final.

1.3.2. Resultados metaanálisis

Se realizó una búsqueda bibliográfica de estudios publicados previamente en el análisis de asociación del polimorfismo HER2-Ile655Val con la cardiotoxicidad desarrollada tras el tratamiento con trastuzumab. Se encontraron 4 entradas con las características seleccionadas de las cuales 3 cumplían los criterios de inclusión en el metaanálisis.

El primer trabajo fue publicado en 2007 por Beauclair et al. (99). En este estudio se evaluaron 61 pacientes con cáncer de mama HER2 positivo que habían recibido tratamiento con trastuzumab. Tras una mediana de seguimiento de 22,4 meses se observó toxicidad cardiaca en 5 pacientes con genotipo I/V ($p = 0,0058$).

En segundo lugar encontramos el estudio de Lemieux et al. (100) en el que se genotiparon 73 pacientes con cáncer de mama. Los resultados obtenidos fueron similares, un total de 10 pacientes desarrollaron cardiotoxicidad, 4 tenían genotipo I/I y 6 genotipo I/V ($p=0,01$).

Por último, el estudio más recientemente publicado, realizado en un mayor número de pacientes es el de Roca et al. (101). En él se estudió el papel predictivo de diferentes polimorfismos, incluyendo a HER2-Ile655Val, con la aparición de cardiotoxicidad inducida por trastuzumab en 132 mujeres que fueron tratadas con el fármaco. Se observó cardiotoxicidad en 13 pacientes, 9 con genotipo I/V y 4 con genotipo I/I ($p=0,015$).

Para llevar a cabo el metaanálisis, primero se realizó la prueba de heterogeneidad de Breslow-Day. Los resultados no fueron estadísticamente significativos ($p=0,500$), lo que indica una clara homogeneidad en la distribución de alelos en los diferentes estudios.

A continuación se evaluó la asociación del SNP HER2-Ile655Val con la cardiotoxicidad en los diferentes estudios encontrados, bajo los modelos codominante y sobredominante, dado que los resultados obtenidos en nuestra muestra parecen explicarse mejor mediante este último modelo de herencia. Los resultados obtenidos del metaanálisis muestran una OR combinada para cardiotoxicidad de 5,35 (2,55-11,73; $p<0,001$) para los heterocigotos I/V, tomando el genotipo I/I como referencia (modelo codominante), y una OR de 5,32 (2,58-11,47; $p<0,001$) considerando el modelo sobredominante (I/V vs I/I + V/V) (tabla 9).

Metaanálisis de estudios que asocian polimorfismo HER2-Ile655Val y cardiotoxicidad					
Estudio	Genotipo	Cardiotoxicidad [n (%)]	No cardiotoxicidad [n (%)]	OR (IC 95%)	p-valor
<i>Gómez Peña et al.</i> (119) (nuestro estudio) 78 pacientes	I/I	6 (40,00)	44 (69,84)	1,00 (Referencia)	
	I/V	9 (60,00)	17 (26,98)	3,80 (1,12-13,63)	0,031
	V/V	0 (0,00)	2 (3,17)	NA	1,000
	I/I + V/V	6 (40,00)	46 (73,02)	1,00 (Referencia)	
	I/V	9 (60,00)	17 (26,98)	3,98 (1,08-15,84)	0,030
<i>Beauclair et al.</i> (100) 61 pacientes	I/I	0 (0,00)	36 (64,29)	1,00 (Referencia)	
	I/V	5 (100,00)	16 (28,57)	NA	0,005
	V/V	0 (0,00)	4 (7,43)	NA	1,000
	I/I + V/V	0 (0,00)	40 (71,43)	1,00 (Referencia)	
	I/V	5 (100,00)	16 (28,57)	NA	0,003
<i>Lemieux et al.</i> (101) 73 pacientes	I/I	4 (40,00)	48 (76,19)	1,00 (Referencia)	
	I/V	6 (60,00)	12 (19,05)	5,80 (1,21-25,33)	0,015
	V/V	0 (0,00)	3 (4,76)	NA	1,000
	I/I + V/V	4 (40,00)	51 (80,95)	1,00 (Referencia)	
	I/V	6 (60,00)	12 (19,05)	6,16 (1,24-34,71)	0,012
<i>Roca et al.</i> (102) 132 pacientes	I/I	4 (30,77)	75 (53,96)	1,00 (Referencia)	
	I/V	9 (69,23)	39 (32,77)	4,27 (1,22-15,85)	0,031
	V/V	0 (0,00)	5 (4,20)	NA	1,000
	I/I + V/V	4 (30,77)	80 (67,23)	1,00 (Referencia)	
	I/V	9 (69,23)	39 (32,77)	4,56 (1,18-21,54)	0,014
Metaanálisis (119) (Pooled) 344 pacientes	I/I	14 (32,56)	203 (67,44)	1,00 (Referencia)	
	I/V	29 (67,44)	84 (27,91)	5,35 (2,55- 11,73)	<0,001
	V/V	0 (0,00)	14 (4,65)	NA	1,000
	I/I + V/V	14 (32,44)	217 (72,09)	1,00 (Referencia)	
	I/V	29 (67,44)	84 (27,91)	5,32 (2,58- 11,47)	<0,001

Tabla 9. Metaanálisis de estudios publicados que relacionan el polimorfismo HER2-Ile655Val con cardiotoxicidad en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo tratadas con trastuzumab.

2. RESULTADOS RELACIONADOS CON LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

2.1. CARACTERÍSTICAS BASALES Y FRECUENCIAS GENOTÍPICAS

Para llevar a cabo este objetivo, se realizó un subestudio con una parte de las pacientes incluidas en el estudio de cardiotoxicidad que incluyó a 54 pacientes que recibieron trastuzumab para el tratamiento del cáncer de mama HER2 positivo no metastásico y 22 pacientes que recibieron el fármaco para el tratamiento de la enfermedad metastásica. Las características basales se recogen en la Tabla 10.

Características basales de las pacientes relacionadas con la evolución		
Variables	No metastásicas (n=54)	Metastásicas (n=22)
Edad al diagnóstico (media \pm DE)	50,80 \pm 12,68	53,59 \pm 11,59
Estadio menopáusico [n (%)]		
Premenopáusicas	26 (48,15)	9 (40,91)
Postmenopáusicas	27 (50,00)	13 (59,09)
ECOG [n (%)]		
0	41 (75,93)	13 (59,09)
1	13 (24,07)	8 (36,36)
2	0 (0,00)	1 (4,55)
Estadio tumoral [n (%)]		
I	22 (40,74)	-
IIa	11 (20,37)	-
IIb	8 (14,81)	-
IIIa	11 (20,37)	-
IIIb	1 (1,85)	-
IIIc	1 (1,85)	-
IV	-	22 (100,00)
Grado histológico [n (%)]		
1	4 (7,41)	1 (4,55)
2	25 (46,30)	13 (59,09)
3	16 (29,63)	6 (27,27)
Expresión de RcE [n (%)]		
Positivo	28 (51,85)	17 (77,27)
Negativo	26 (48,15)	5 (22,73)
Expresión de RcP [n (%)]		
Positivo	22 (40,74)	16 (72,73)
Negativo	32 (59,26)	6 (27,27)

Tasa de proliferación tumoral [n (%)]		
Alta: Ki67 > 14%	42 (77,78)	14 (63,64)
Baja: Ki67 ≤ 14%	4 (7,41)	2 (9,09)
Afectación ganglionar [n (%)]		
Sí	19 (35,19)	16 (72,73)
No	34 (62,96)	6 (27,27)
Invasión linfovascular/perineural [n (%)]		
Sí	10 (18,52)	4 (18,18)
No	26 (48,15)	4 (18,18)
Localización de metástasis [n (%)]		
Locorreregionales	-	2 (9,09)
Viscerales	-	11 (50,00)
No viscerales	-	9 (40,91)

Tabla 10. Características basales de las pacientes no metastásicas y metastásicas incluidas en el subestudio de evolución de la enfermedad.

Las frecuencias genotípicas obtenidas para los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe se detallan en la siguiente tabla (Tabla 11).

Frecuencias genotípicas					
FcγR2A-His131Arg			FcγR3A-Val158Phe		
Genotipo	No metastásicas	Metastásicas	Genotipo	No metastásicas	Metastásicas
H/H	13 (24,07%)	7 (31,82%)	V/V	5 (9,25%)	1 (4,55%)
H/R	32 (59,26%)	9 (40,91%)	V/F	35 (64,81%)	14 (63,64%)
R/R	9 (16,67%)	6 (27,27%)	F/F	14 (25,96%)	7 (31,82%)
Total	54	22	Total	54	22

Tabla 11. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe en pacientes metastásicas y no metastásicas.

2.1.1. Pacientes no metastásicas

En el grupo de pacientes no metastásicas se incluyeron un total de 54 pacientes que recibieron tratamiento adyuvante con trastuzumab durante un año. De ellas, 51 no habían recaído nunca y 3 habían tenido una recaída local que fue

resecada completamente. Además del tratamiento con trastuzumab, las pacientes habían recibido previamente tratamiento con antraciclinas (90,74%) y conjuntamente con taxanos (72,22 %) en neoadyuvancia o en adyuvancia.

La edad media de las pacientes fue de 50,80 (\pm 12,68) años. El 75,93% tenían un ECOG de 0 y la tasa de proliferación tumoral fue alta en el 77,78%.

La distribución de los genotipos del polimorfismo Fc γ R2A-His131Arg (Tabla 11) fue de 13 (24,07%) pacientes homocigotos para el alelo H, 32 (59,26%) heterocigotos H/R y 9 (16,67%) homocigotos para el alelo R. En el caso del polimorfismo Fc γ R3A-Val158-Phe, 5 pacientes (9,26%) presentaron genotipo V/V, 35 (64,81%) genotipo V/F y 14 (25,93%) genotipo F/F. En el primer caso se cumplió el HWE ($p=0,159$) pero no ocurrió así en el segundo ($p=0,014$).

2.1.2. Pacientes metastásicas

En este grupo se incluyeron 22 pacientes que habían recibido tratamiento con trastuzumab para la enfermedad avanzada o metastásica, 17 (77,27%) en primera línea y 5 (22,73%) en segunda línea tras otros regímenes de quimioterapia. Del total de las pacientes, 16 tenían estadio IV al diagnóstico, es decir, debutaron con enfermedad metastásica, mientras que 6 procedían del grupo de no metastásicas que tuvieron progresión de la enfermedad. Estas 6 pacientes habían recibido previamente tratamiento con trastuzumab en adyuvancia.

La edad media de las pacientes fue de 53,59 (\pm 11,59) años. La mayoría (59,09%) eran postmenopáusicas y tenían un ECOG de 0. La localización de las metástasis fue visceral en el 50% de las pacientes, no visceral en el 40,91% de los casos y locorregional en el 9,09%.

En cuanto a la distribución genotípica de los polimorfismos (Tabla 11), ésta fue de 7 pacientes (31,82%) homocigotos H/H, 9 pacientes (40,91%) heterocigotos H/R y 6 pacientes (27,27%) homocigotos R/R para FcγR2A-His131Arg; y 1 pacientes (4,55%) V/V, 14 pacientes (63,64%) V/F y 7 pacientes (31,82%) V/V para el FcγR3A-Val158-Phe. Ambos polimorfismos se encontraban en HWE ($p=0,398$, $p=0,079$, respectivamente).

2.2. ASOCIACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS FcγR2A-His131Arg Y FcγR3A-Val158Phe Y EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

2.2.1. Pacientes no metastásicas

2.2.1.1. Análisis de supervivencia

Se llevó a cabo un análisis de SLR y de SG en las 54 pacientes que integran esta cohorte. Tras una mediana de seguimiento de 45,97 meses las medianas de SLR y SG no se alcanzaron (Figura 9).

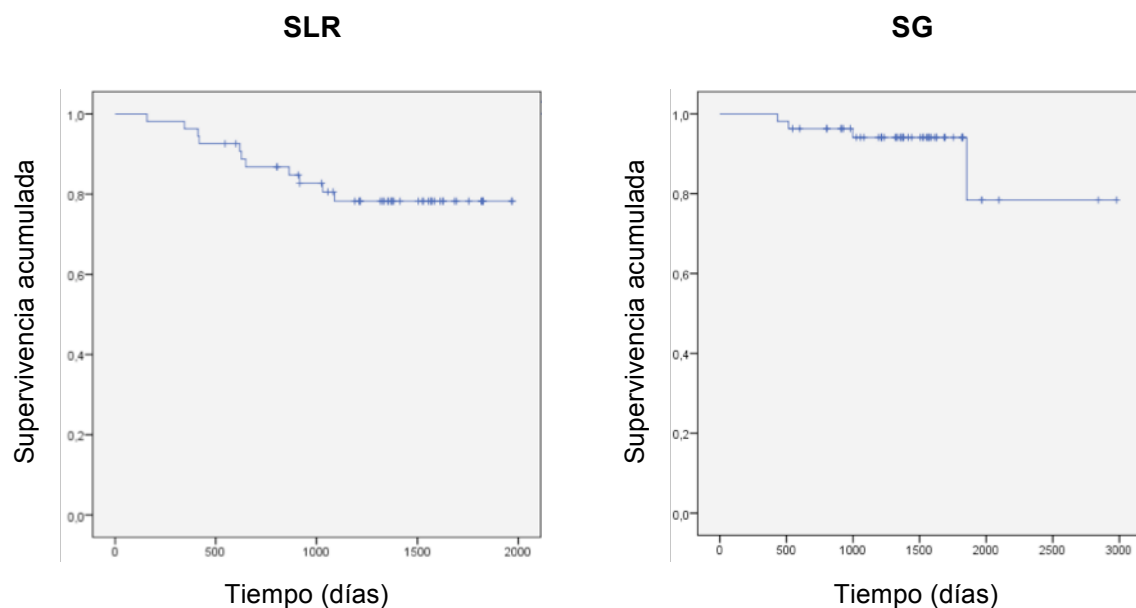


Figura 9. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas.

Se calcularon las curvas de SLR y SG para los distintos genotipos H/H, H/R y R/R (Figura 10) del polimorfismo FcγR2A-His131Arg para observar las posibles diferencias entre sí. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la SLR ($p=0,157$) pero sí para la SG ($p=0,015$).

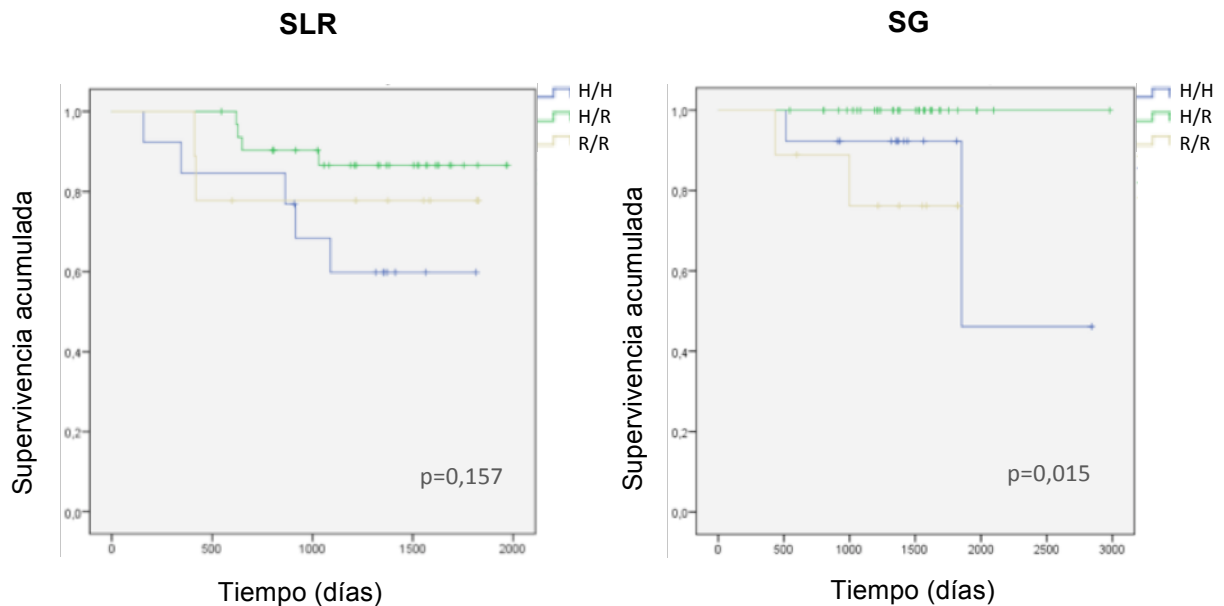


Figura 10. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a los distintos genotipos del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.

A continuación se exploró la SLR y SG en función de tener el genotipo H/H frente no tenerlo (H/R + R/R) (Figura 11), no encontrando significación estadística para ninguna de las curvas de SLR ni de SG. Sin embargo, al estudiar a las portadoras del alelo H (H/H + H/R) frente a las de genotipo R/R (Figura 12), sí se observan diferencias estadísticamente significativas para la SG ($p=0,016$), indicando una peor evolución en el grupo de pacientes R/R, o dicho de otro modo, una mejor SG en las portadoras del alelo H.

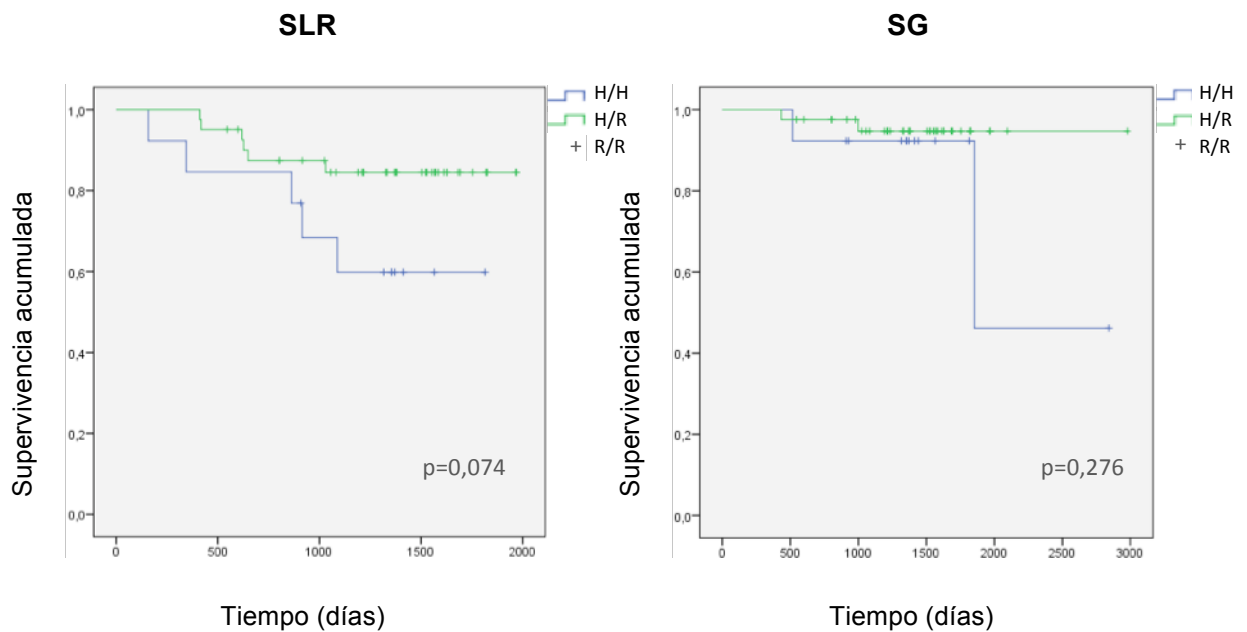


Figura 11. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación al genotipo H/H versus H/R + R/R del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.

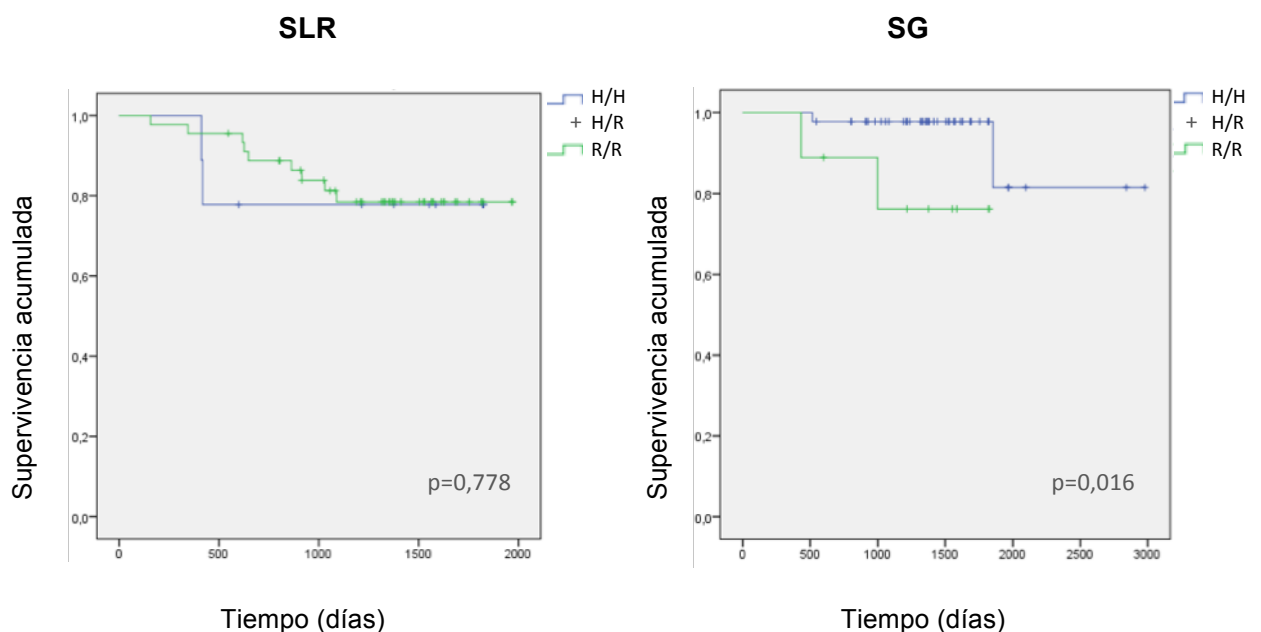


Figura 12. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a portadoras del alelo H (H/H + H/R) versus R/R del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.

De igual forma, se estudió la SLR y SG para el polimorfismo FcγR3A-Val158Phe, comparando por un lado los distintos genotipos V/V, V/F y F/F entre sí (Figura 13) y, por otro, los genotipos V/V versus V/F + F/F (Figura 14). Los resultados

no encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los casos, pero las curvas de supervivencia parecen mostrar una mejor evolución en el grupo de pacientes con genotipo V/V al no producirse, en este grupo de pacientes, ningún evento hasta la fecha última de seguimiento.

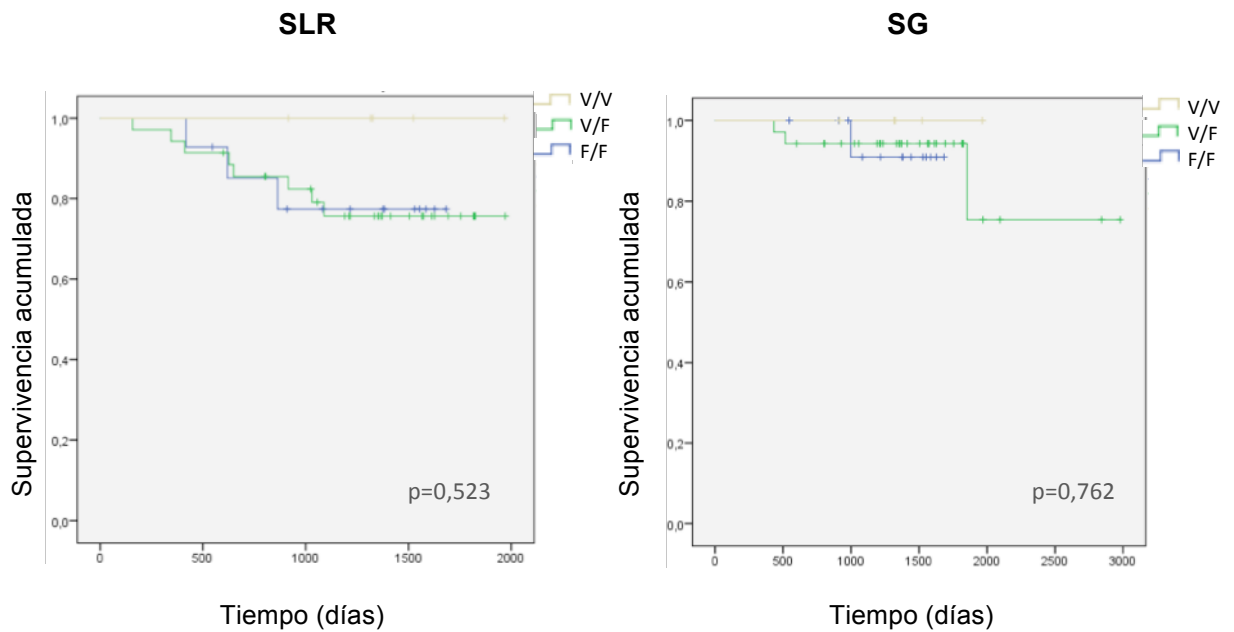


Figura 13. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a los distintos genotipos del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe

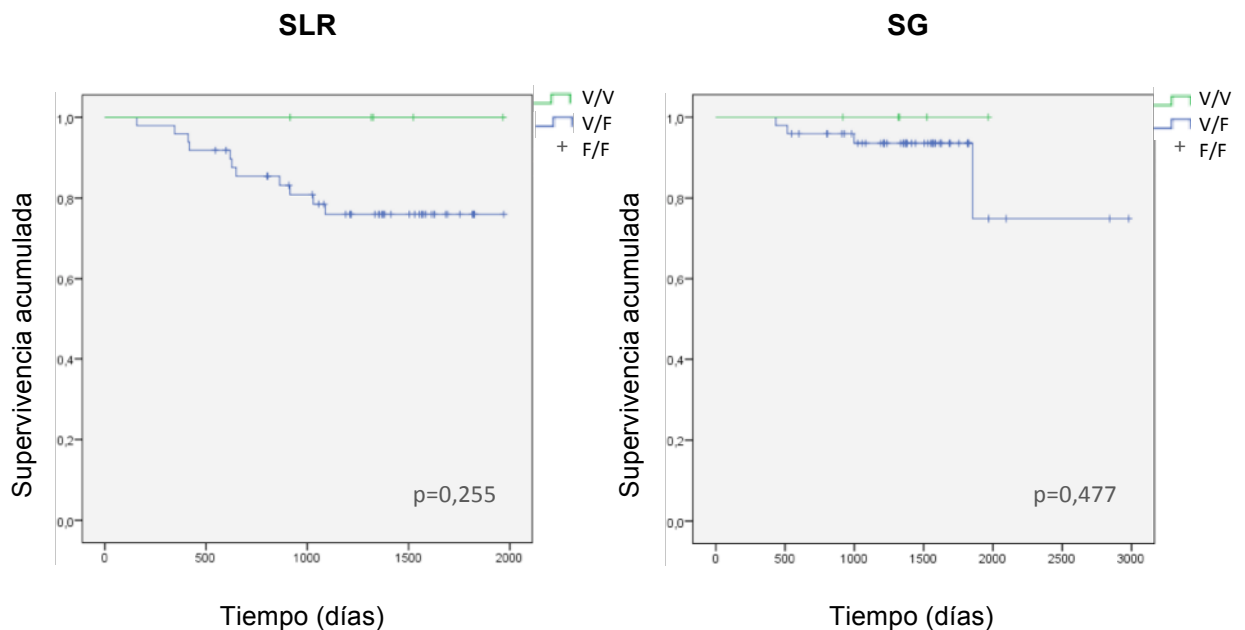


Figura 14. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación al genotipo V/V versus V/F + F/F del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe.

Por otro lado, al comparar, en este polimorfismo, la SLR y SG para las portadoras del alelo V (V/V + V/F) frente a las pacientes con genotipo F/Fno encontramos diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los casos, con curvas de supervivencia muy similares entre sí (Figura 15).

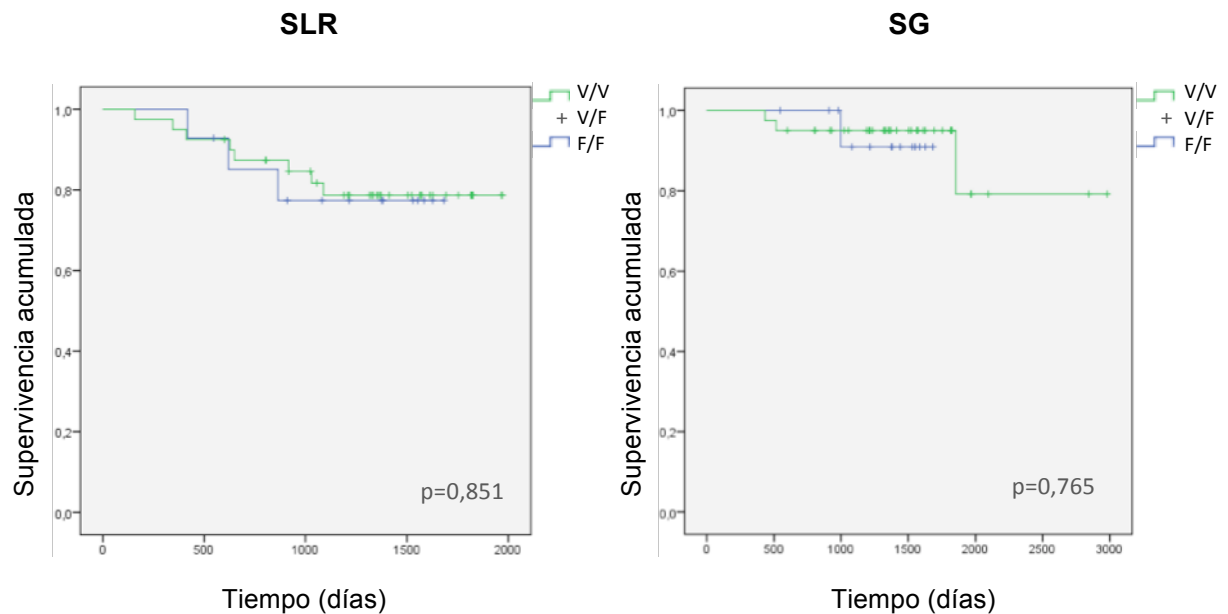


Figura 15. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a portadoras del alelo V (V/V + V/F) versus F/F del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe.

Finalmente, se hizo un análisis de SLR y SG para ambos polimorfismos combinados, comparando los genotipos H/H y/o V/V frente al resto (Figura 16). En este caso las curvas tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas (SLR: $p=0,305$, SG: $p=0,547$).

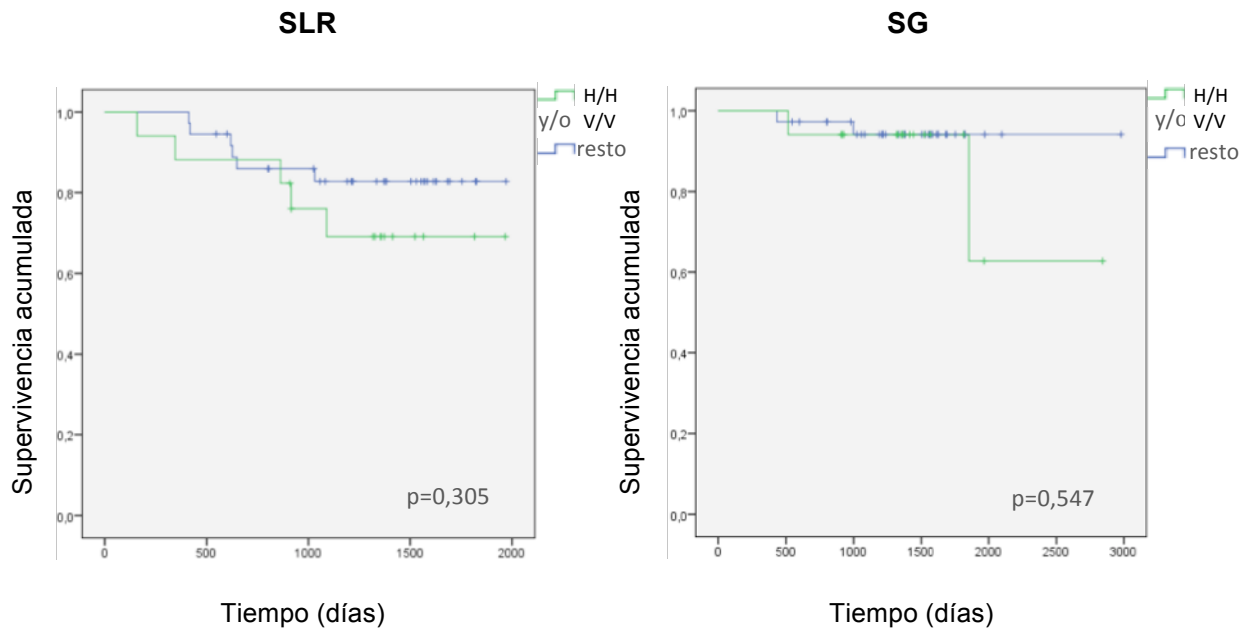


Figura 16. Curvas de Kaplan-Meier de SLR y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes no metastásicas en relación a la combinación de los genotipos H/H y/o V/V versus el resto de los genotipos de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe.

2.2.2. Pacientes metastásicas

2.2.2.1. Análisis de supervivencia

En primer lugar se realizó un análisis de supervivencia para estimar la SLP y SG durante el tratamiento con trastuzumab. Tras una mediana de seguimiento de 48,53 meses, las medianas de SLP y SG fueron de 16,2 meses y 68,9 meses, respectivamente (Figura 15).

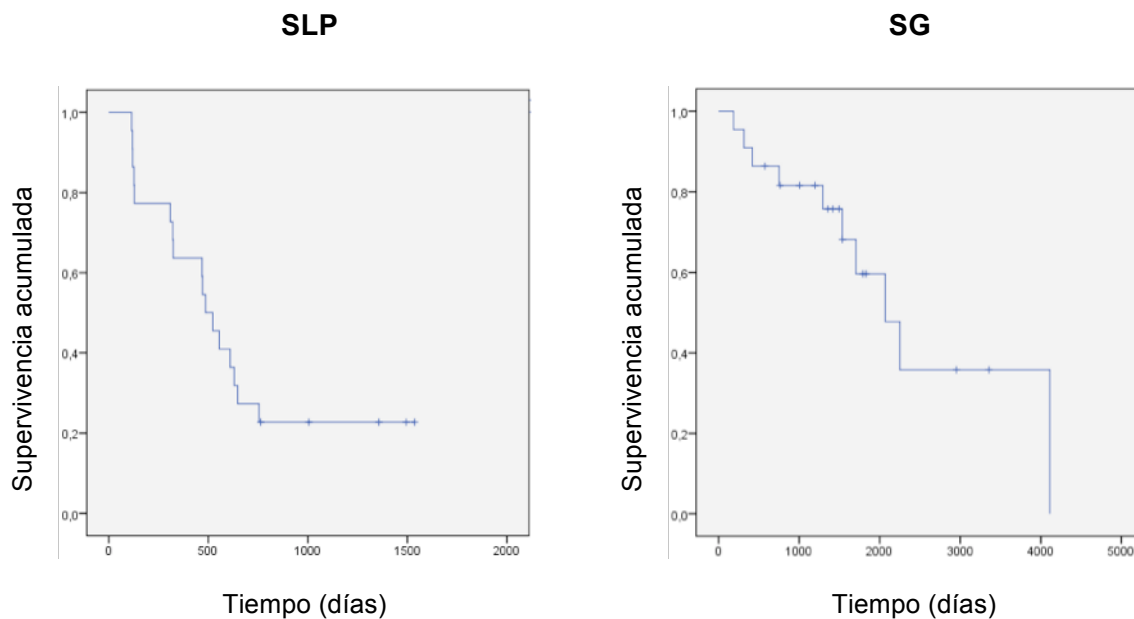


Figura 17. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas.

Posteriormente se calculó la SLP y SG estimada para los distintos genotipos H/H, H/R y R/R (Figura 18), para el genotipo H/H frente a los genotipos H/R + R/R (Figura 19), y para las portadoras del alelo H (H/H + H/R) frente al genotipo R/R (Figura 20), del polimorfismo FcγR2A-His131Arg. En ningún caso se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en las curvas de SLP y SG, aunque parece observarse una peor evolución de la SLP en el grupo de pacientes con alelo H (Figura 20). En el caso de la SG, la curva correspondiente al genotipo H/H (Figura 19) finaliza antes de alcanzar la mediana de supervivencia.

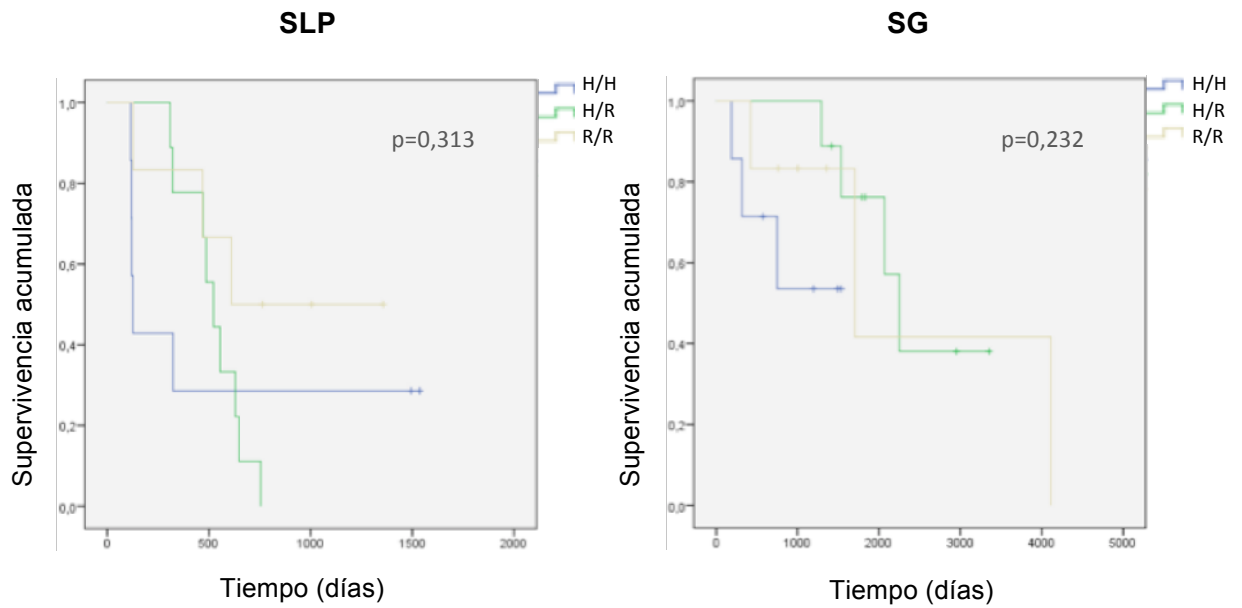


Figura 18. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a los distintos genotipos del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.

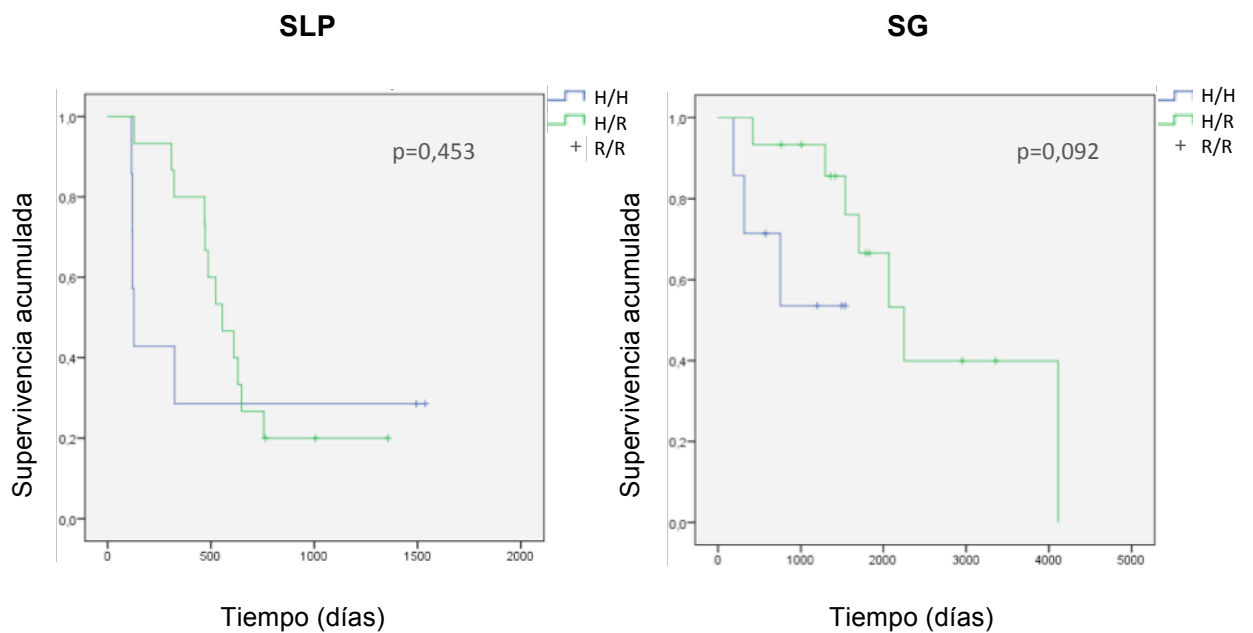


Figura 19. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación al genotipo H/H versus H/R + R/R del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.

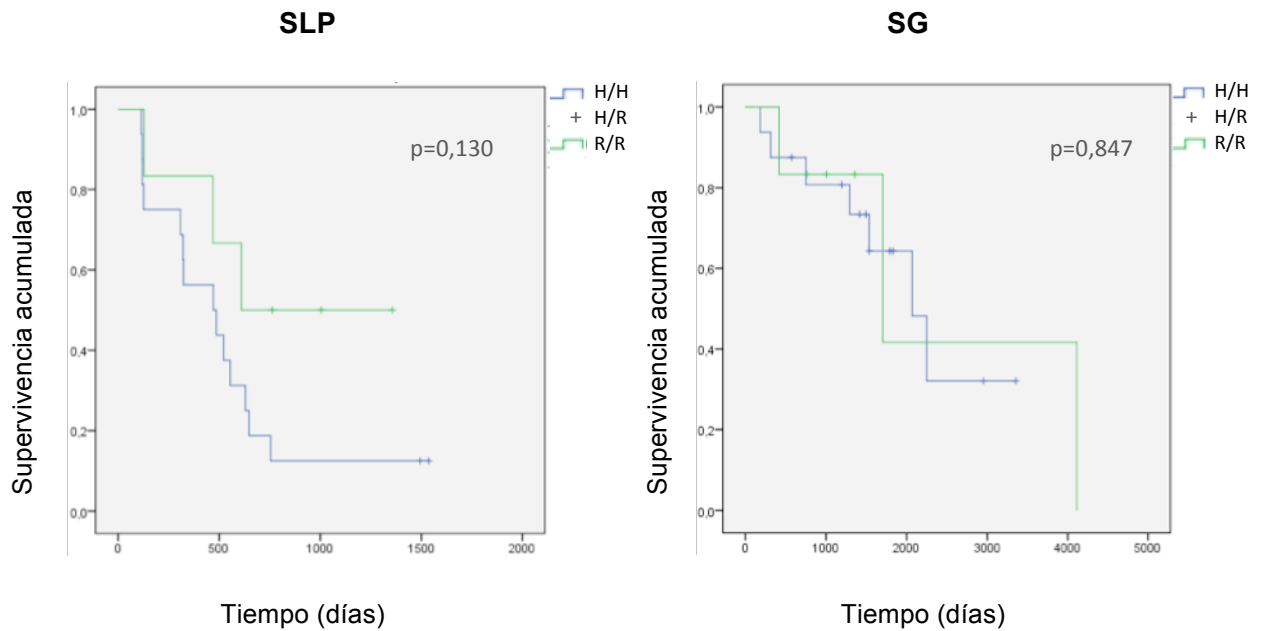


Figura 20. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a portadoras del alelo H (H/H + H/R) versus R/R del polimorfismo FcγR2A-His131Arg.

En el caso del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe, se calcularon las curvas de SLP y SG para los genotipos V/V, V/F y F/F (Figura 21), para el genotipo V/V frente a V/F + F/F (Figura 22), y para las portadoras del alelo V (V/V y V/F) frente al genotipo F/F (Figura 23). En este caso tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las curvas.

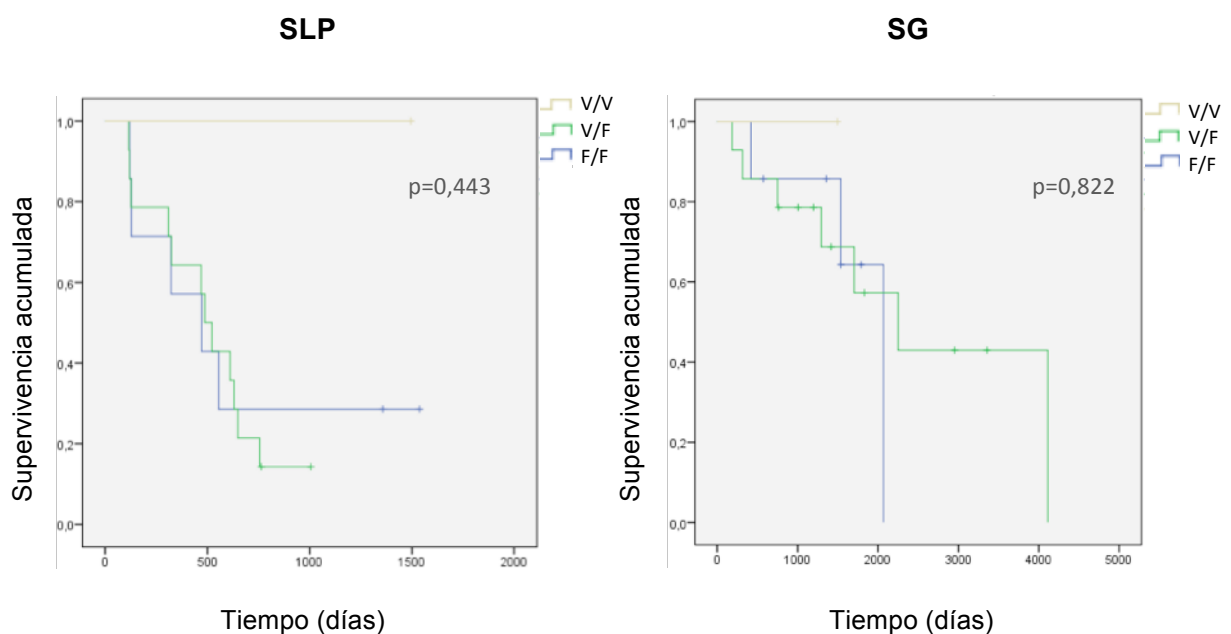


Figura 21. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a los distintos genotipos del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe.

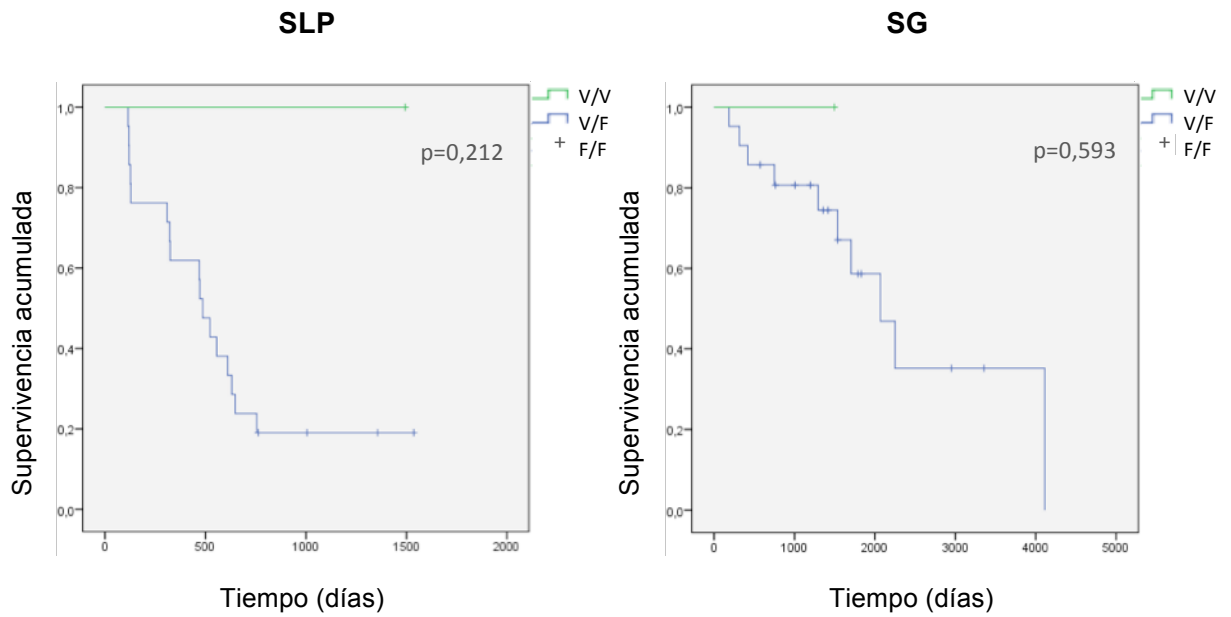


Figura 22. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación al genotipo V/V versus V/F + F/F del polimorfismo FcγR3A-Val131Phe.

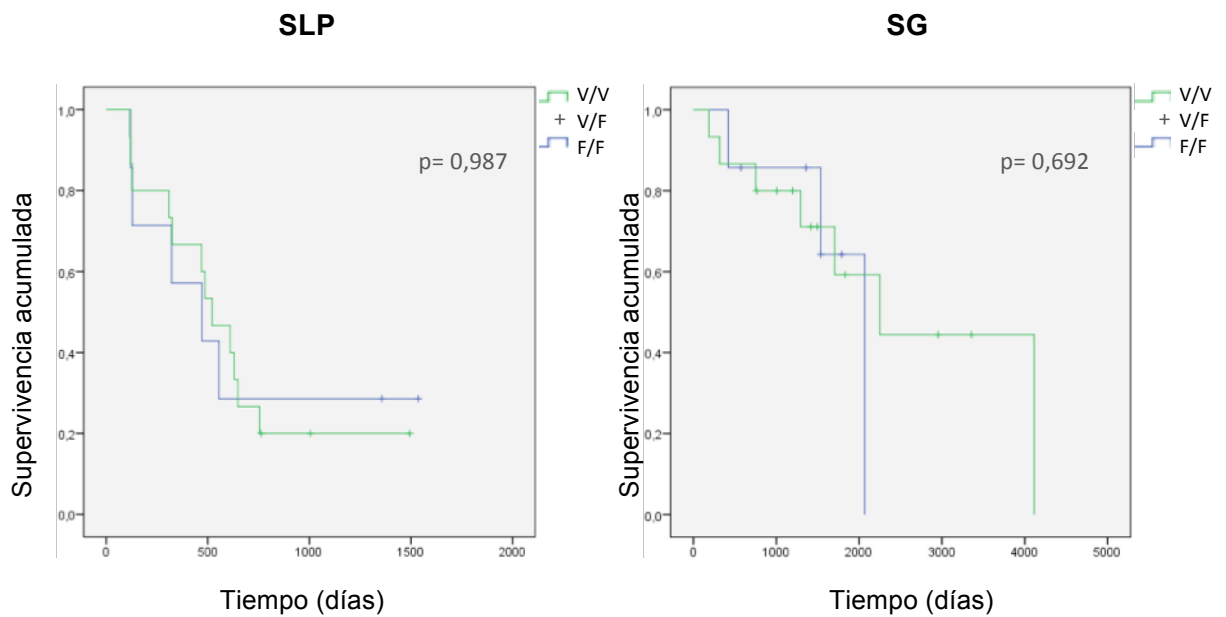


Figura 23. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a portadoras del alelo V (V/V + V/F) versus F/F del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe.

Por último, se hizo un análisis de SLP y SG para ambos polimorfismos combinados comparando los genotipos H/H y/o R/R frente al resto (Figura 24). Los resultados obtenidos fueron idénticos a los del análisis de SLP y SG para el genotipo H/H versus H/R + R/R (Figura 19), ya que tan sólo hay una paciente con genotipo V/V para el polimorfismo FcγR3A-Val158Phe y además tenía genotipo H/H para el polimorfismo FcγR2A-His131Arg. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los dos casos.

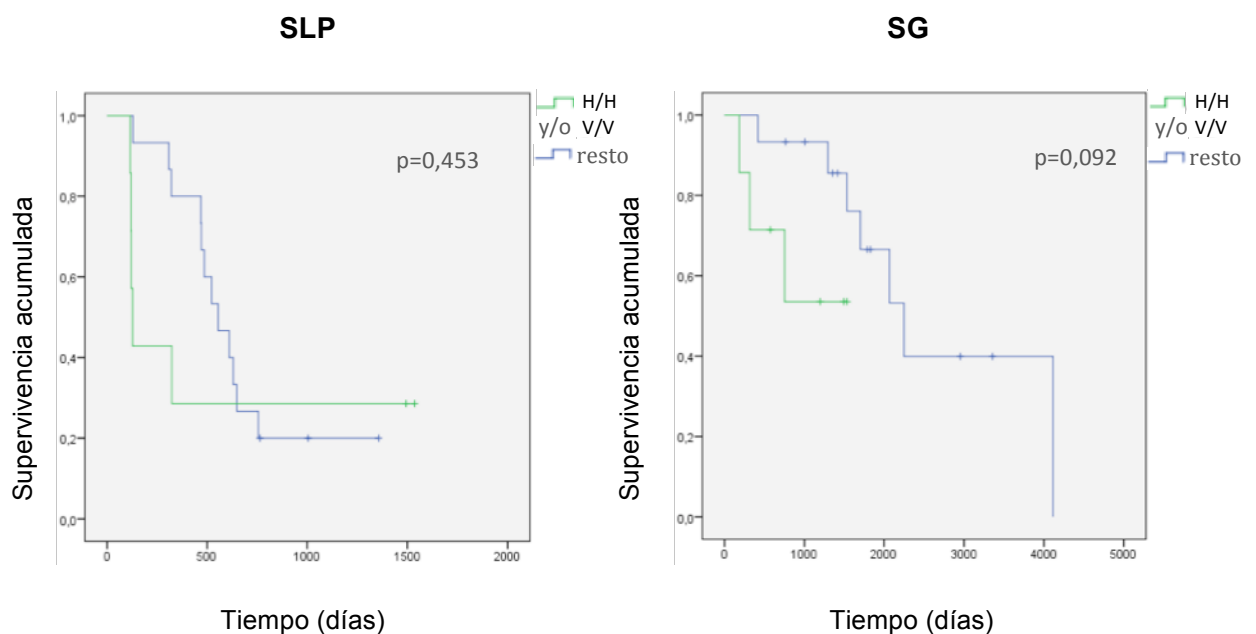


Figura 24. Curvas de Kaplan-Meier de SLP y SG para el tratamiento con trastuzumab en pacientes metastásicas en relación a la combinación de los genotipos H/H y/o V/V versus el resto de los genotipos de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe.

2.2.2.2. Respuesta al tratamiento en pacientes metastásicas

Para evaluar la respuesta clínica al tratamiento con trastuzumab, se clasificó a las pacientes en según el tipo de respuesta obtenida de acuerdo a los criterios RECIST. Así, de las 22 pacientes metastásicas, 7 tuvieron RC, 7 RP, 4 EE y 4 PE. Se obtuvo una TRO global (RC + RP) del 63,64%. Los tipos de respuesta en función de los polimorfismos en FcγR2A- y FcγR3A-158 se detallan en la Tabla 12.

Respuesta clínica a trastuzumab en función de los polimorfismos en FcγR									
FcγR2A-His131Arg					FcγR3A-Val158Phe				
Genotipo	RC [n (%)]	RP [n (%)]	EE [n (%)]	PE [n (%)]	Genotipo	RC [n (%)]	RP [n (%)]	EE [n (%)]	PE [n (%)]
H/H	2 (28,57)	1 (14,29)	0 (28,57)	4 (57,14)	V/V	1 (100,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
H/R	4 (44,44)	1 (11,11)	4 (44,44)	0 (0,00)	V/F	4 (28,57)	5 (35,71)	2 (14,29)	3 (21,43)
R/R	1 (16,67)	5 (83,33)	0 (0,00)	0 (0,00)	F/F	2 (28,57)	2 (28,57)	2 (28,57)	1 (14,28)
Total	7 (31,82)	7 (31,82)	4 (18,18)	4 (18,18)	Total	7 (31,82)	7 (31,82)	4 (18,18)	4 (18,18)

Tabla 12. Tipos de respuesta clínica según criterios RECIST en función de los genotipos de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe.

A continuación, se analizó la asociación entre la TRO con los distintos genotipos de los polimorfismos en FcγR. Los resultados obtenidos no mostraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los casos (Tabla 13).

Asociación entre polimorfismos en FcγR y TRO			
Genotipos	TRO (RC + RP) [n (%)]	EE + PE [n (%)]	p-valor
FcγR2A-His131Arg			
H/H	3 (42,86)	4 (57,14)	*0,080 **0,343
H/R	5 (55,56)	4 (4,44)	
R/R	6 (100,00)	0 (0,00)	
FcγR3A-Val158Phe			
V/V	1 (100,00)	0 (0,00)	***1,000 ****1,000
V/F	9 (64,29)	5 (35,71)	
F/F	4 (57,14)	3 (42,86)	
FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe			
H/H y/o V/V	3 (42,86)	4 (57,14)	0,343
Resto	11 (73,33)	4 (26,67)	
*Comparación H/H vs H/R vs R/R **Comparación: H/H vs H/R + R/R.***Comparación V/V vs V/F vs F/F. ****Comparación V/V vs V/F + F/F			

Tabla 13. Análisis de asociación entre los genotipos de los polimorfismos FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe y la TRO.

DISCUSIÓN

Trastuzumab es un estándar en el tratamiento actual del cáncer de mama HER2 positivo (120, 121). Aunque generalmente es bien tolerado, la preocupación sobre su principal efecto adverso, la cardiotoxicidad, ha llevado a un esfuerzo para identificar a las pacientes en riesgo de padecer eventos cardíacos relacionados con el tratamiento. Hasta la fecha, existe cierta controversia sobre los factores de riesgo descritos en los pacientes incluidos en ensayos clínicos, que además son por lo general menores de 70 años y con un estado de salud óptimo. Por ello, se ha llevado a cabo este estudio, con el fin de evaluar el perfil de seguridad cardíaca y estudiar posibles factores de riesgo cardíaco asociados al tratamiento con trastuzumab, entre ellos el polimorfismo del codón 655 del gen HER2/neu.

Se observó una incidencia global de eventos cardíacos del 19,23%. Del total de las pacientes, un 3,85% desarrolló la toxicidad cardíaca sintomática, mientras que un 14,10% tuvo que suspender el tratamiento con trastuzumab debido a problemas cardíacos. Estas tasas de cardiotoxicidad son similares a las descritas en los ensayos clínicos con trastuzumab en adyuvancia, en los cuales la incidencia de toxicidad cardíaca grave (NYHA III/IV o insuficiencia cardíaca sintomática) ocurre entre el 0,1% (70) y 4,1% (68) de los pacientes, y entre un 4,3% y 18,9% (71) tiene que suspender el tratamiento debido a eventos cardíacos. Sin embargo, es complicado hacer una comparación directa entre la incidencia de toxicidad cardíaca de nuestro estudio y la observada en los cinco grandes ensayos de trastuzumab en adyuvancia (49, 50, 67-70). Por un lado, la propia definición de disfunción cardíaca difiere de unos estudios a otros, considerándose como insuficiencia cardíaca grado III/IV (50, 67, 68, 70), insuficiencia cardíaca sintomática (49, 69) y muerte cardíaca (67-70), indistintamente. Además, en estos ensayos se excluyó a pacientes con antecedentes de insuficiencia cardíaca o presencia de factores de riesgo como arteriopatía coronaria o valvulopatías, entre otros, por lo que la tasa de cardiotoxicidad mediada por trastuzumab podría estar infravalorada con respecto a la observada en la práctica clínica, que se estima entre el

12% y el 31,1% (122-125). Por otro lado, hay que tener en cuenta que la forma en que se mide la función cardíaca es mediante dos técnicas utilizadas por igual en la práctica habitual: MUGA y ecocardiografía. Esto es una limitación no sólo de nuestro estudio, sino también de los ensayos clínicos con trastuzumab, que puede dar lugar a diferencias en las distintas medidas de los valores de la FEVI. Otra limitación de nuestro estudio, derivada de la práctica clínica habitual, es el hecho de que un 7,69% de los casos no dispusiera del valor de FEVI basal previo al inicio de trastuzumab, lo que obligó a tomar como referencia el valor más alto alcanzado durante el año de tratamiento.

En la bibliografía se han identificado distintos factores que se asocian a un mayor riesgo de desarrollar cardiotoxicidad durante el tratamiento con trastuzumab. Uno de los más estudiados es el uso previo de antraciclinas, que administradas de forma secuencial con trastuzumab se ha visto que puede incrementar considerablemente la incidencia acumulada de toxicidad cardíaca (83-85). El ensayo BCIRG-006 mostró diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la proporción de pacientes que tuvieron descensos en la FEVI y recibieron antraciclinas frente a las que no las recibieron (18,6% vs 9,4%, $p < 0,001$). En nuestro estudio, la mayoría de las pacientes habían recibido antraciclinas en neoayuvancia o adyuvancia, y de ellas tan sólo un 19,35% manifestaron toxicidad cardíaca tras el tratamiento con trastuzumab, por lo que no se encontró significación estadística. Algo parecido ocurre con la administración previa o concomitante con taxanos, no se halló una incidencia mayor de cardiotoxicidad en ninguno de los dos casos. En cuanto a los demás factores de riesgo descritos en los ensayos clínicos con trastuzumab existe cierta controversia. En el estudio NSABP-31 (67, 68) y en el NCCTG N9831 (69), la edad, FEVI basal de 50-54% y el uso de medicación antihipertensiva resultaron ser factores predisponentes para presentar disfunción cardíaca. Sin embargo, en el ensayo HERA (70), la cardiotoxicidad se asoció con un índice de masa corporal (IMC) superior a 25

kg/m², diabetes, tabaquismo y FEVIs basales bajas, pero no se encontró relación con la edad o la hipertensión. En nuestro caso, las pacientes que experimentaron toxicidad tenían una edad media ligeramente mayor que las que no la presentaron, pero no fueron diferencias estadísticamente significativas. Tan sólo la variable obesidad mostró una tendencia a incrementar el riesgo de cardiotoxicidad mediada por trastuzumab. El resto de las variables estudiadas no influyeron significativamente en el desarrollo de toxicidad cardíaca.

Sumado a estos factores, recientemente se han descrito determinados marcadores genéticos que también parecen tener relación con este efecto indeseable que es inherente al fármaco (99-102). El más conocido es el que se localiza a nivel del codón 655 del gen HER2/neu, que codifica a una isoleucina o a una valina (97, 98). Nuestro estudio (119) confirma el papel del polimorfismo HER2-Ile655Val como predictor genético de la cardiotoxicidad inducida por trastuzumab en pacientes con cáncer de mama HER2-positivo. Las pacientes con genotipo I/V mostraron un mayor riesgo de desarrollar cardiotoxicidad inducida por trastuzumab (OR bruta=4,06, p=0,019) que las que presentaron los otros genotipos. Estos resultados coinciden con los de estudios similares que se habían llevado a cabo previamente para explicar la influencia de este polimorfismo en la actividad de la enfermedad así como en la cardiotoxicidad producida por el fármaco. Sin embargo, la interpretación que cada grupo realiza da lugar a diferentes conclusiones.

En un estudio de 61 pacientes, Beauclair et al. (100), observaron que todas las mujeres que desarrollaron cardiotoxicidad tenían el genotipo HER2-655 I/V. No obstante, como los ensayos "in vitro" habían mostrado que las células tumorales que expresaban clones de valina tuvieron un mayor crecimiento y sensibilidad a trastuzumab, propusieron que era la presencia este alelo la que podía conducir a cardiomiocitos particularmente dependientes de la señalización HER2 y altamente

sensibles a trastuzumab. Por tanto, escogen el modelo dominante, que explica que una única copia del alelo menos frecuente (valina) es suficiente para modificar el riesgo, como el patrón genético más adecuado para justificar a nivel biológico sus resultados, y atribuyen el hecho de que ninguna paciente con genotipo V/V presentara cardiotoxicidad a la baja frecuencia de este genotipo. En su caso, al no encontrar ninguna portadora del genotipo I/I con toxicidad cardiaca, esta explicación podría ser válida. Sin embargo, no ocurre lo mismo en el estudio de Lemieux et al. (101). Ellos, con una población de 73 pacientes similar a la nuestra, mostraron casos de toxicidad cardiaca en ambos genotipos, con una probabilidad mayor en las pacientes portadoras del genotipo I/V con respecto a las de genotipo V/V (OR=5,87, p=0,02). Además, de igual manera que Beauclair et al. (100) y nuestro estudio (119), tampoco encontraron ninguna paciente con genotipo V/V y cardiotoxicidad. En este estudio, aunque concluyen que el polimorfismo HER2-Ile655Val es un factor de riesgo de la cardiotoxicidad inducida por trastuzumab, no ofrecen ninguna explicación biológica al respecto.

Posteriormente, Roca et al. (102), llevaron a cabo el estudio con mayor número de pacientes realizado hasta la fecha. En su ensayo, estudiaron el valor predictivo de diferentes polimorfismos, incluyendo HER2-Ile655Val, para la toxicidad cardiaca y la eficacia de trastuzumab en 132 pacientes con cáncer de mama HER2-positivo. Sus resultados de nuevo mostraron un mayor riesgo de cardiotoxicidad en las pacientes con I/V en comparación a los demás genotipos (OR=4,32, p=0,015). Sin embargo, al igual que en las conclusiones de Beauclair et al. (100), apuestan por la teoría de que alelo V (portadores: I/V y V/V) es el responsable de las alteraciones cardiovasculares, sin volver a tener ningún caso de toxicidad en el grupo de pacientes con genotipo V/V.

Con objeto de comprender mejor el comportamiento del polimorfismo se llevo a cabo un metaanálisis de los tres estudios comentados y los resultados de nuestro

trabajo. El análisis combinado de nuestros datos y los publicados con anterioridad mostró nuevamente una asociación entre la variante genética HER2-655 I/V y la cardiotoxicidad inducida por trastuzumab. Con un total de 344 pacientes, hubo 14 casos de toxicidad cardiaca en el grupo de pacientes con genotipo I/I, 29 en las portadoras I/V y ninguno en las pacientes con genotipo homocigoto para el alelo V. A la vista de estos datos, resulta difícil mantener la hipótesis de Beauclair et al. (100) que defendía el papel del alelo V como factor predisponente para la cardiotoxicidad, imputando la ausencia de toxicidad en pacientes V/V a la baja frecuencia del alelo variante. Además, se apoyaban en el modelo dominante que habían propuesto anteriormente Xie et al. (126), con la teoría de que el alelo V podría estar asociado a un mayor riesgo de cáncer de mama, una mayor capacidad de proliferación y un desarrollo de tumores agresivos pero más sensibles a trastuzumab. Sin embargo, un reciente metaanálisis que incluyó más de 19.000 pacientes mostró que el polimorfismo en el codón 655 de HER2 no está asociado con la susceptibilidad al cáncer de mama (127).

Un modelo genético menos frecuente que podría explicar la asociación que existe entre el genotipo HER2-655 I/V y la cardiotoxicidad inducida por trastuzumab, es el sobredominante. Este compara los dos genotipos homocigotos contra el heterocigoto. Es un modelo poco utilizado en la práctica porque desde un punto de vista biológico resulta difícil de explicar, y por ello siempre se espera que el SNP siga otros patrones de herencia como el dominante o el recesivo. Sin embargo, el hecho de que el genotipo heterocigoto sea el responsable del efecto producido ya se había puesto en evidencia previamente en otros estudios realizados con otros polimorfismos. En una revisión de la susceptibilidad genética del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) (128), el estudio de dos polimorfismos en dos miembros de la familia de receptores de quimiocina, CCR2 y CCR5, mostró que el genotipo heterocigoto ofrecía un mejor pronóstico y una mayor protección contra la infección

por el VIH-1, respectivamente. En otro estudio de factores de riesgo genético para la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (129), se observó que los individuos con genotipo heterocigoto para el polimorfismo en posición 129 del gen PRNP (proteína priónica) tenían un mayor tiempo de incubación del kuru. Por tanto, aunque se trata de casos muy diferentes e independientemente de que el resultado obtenido pueda ser positivo o negativo para la enfermedad, se demuestra que es posible que el genotipo heterocigoto sea el causante, en nuestro caso, de la toxicidad asociada al tratamiento con trastuzumab.

Para comprender esto, es necesario entender la estructura y funcionamiento del receptor HER2. Se sabe que el polimorfismo HER2-Ile655Val, in vivo, induce cambios en el equilibrio entre los estados activo e inactivo de la proteína HER2 (97). De este modo, se ha propuesto que a nivel del receptor HER2, al funcionar como un homodímero, el cambio en la señalización intracelular generado por el complejo isoleucina/valina (I/V) puede ser mayor que el producido por isoleucina/isoleucina (I/I) o valina/valina (V/V), debido a los diferentes tamaños estéricos de estos aminoácidos. En otras palabras, el genotipo heterocigoto podría estabilizar excesivamente el estado dimerico activo de HER2 debido a la sustitución de la cadena lateral de isoleucina por una, menos voluminosa, de valina, permitiendo así un ensamblaje más compacto en la hélice transmembrana (130). Esto se traduciría en un aumento de la sensibilidad celular a trastuzumab que, a nivel cardiaco, produciría un aumento de la toxicidad.

Estos hallazgos podrían ser utilizados en la práctica clínica para estratificar a las pacientes en subgrupos de alto y bajo riesgo, de modo que la determinación genética de este polimorfismo se implantaría como un nuevo biomarcador para minimizar la cardiotoxicidad producida por trastuzumab, monitorizando más estrechamente la función cardiaca o investigando nuevas vías alternativas de bloqueo de HER2 en aquellas pacientes con alto riesgo.

En este mismo contexto, la predicción de la respuesta a trastuzumab en pacientes con sobreexpresión de HER2 también podría ser una herramienta útil para elegir la mejor estrategia terapéutica. Trastuzumab actúa inhibiendo las vías de señalización celular MAPK y PI3K, y como consecuencia, interrumpe el ciclo, el crecimiento y la proliferación celular (131), pero también se ha visto que activa la CCDA (132). Estudios preclínicos han demostrado que los anticuerpos monoclonales IgG1 se unen, por un lado, a la superficie de las células tumorales y, por otro, a través de su fracción Fc, a los receptores Fc γ R de las células efectoras del sistema inmune, activándose así una serie de respuestas biológicas que concluyen con la muerte celular del tumor (133). Este mecanismo de acción es uno de los responsables de la actividad antitumoral de trastuzumab (134, 135). Sin embargo, la CCDA observada en las pacientes en tratamiento con este fármaco no siempre es la misma. Esto puede deberse a que los genes que codifican para Fc γ R están sometidos a diferentes polimorfismos que confieren distintas propiedades funcionales (132), afectando a la afinidad con que se unen a ellos las inmunoglobulinas. Como consecuencia, se inducen cambios en la eficacia de la respuesta inmune biológica y, por tanto, el tratamiento con anticuerpos monoclonales terapéuticos de tipo IgG1 como trastuzumab no siempre es igual de efectivo (136).

Desde el primer trabajo, publicado por Cartron et al. (107), numerosos estudios han confirmado el papel de los polimorfismos Fc γ R2A-His131Arg y Fc γ R3A-Val158Phe en la respuesta a rituximab en pacientes con linfoma no hodgkin (108, 109). De igual manera, se han obtenido resultados similares en una pequeña cohorte de pacientes con cáncer colorrectal metastásico tratados con cetuximab (110). Sin embargo, en cuanto al cáncer de mama, la influencia de estos dos polimorfismos en la respuesta a trastuzumab no está tan clara. Los primeros estudios publicados al respecto mostraron resultados contradictorios: tres estudios mostraron asociación entre al menos uno de los dos polimorfismos y la respuesta clínica a trastuzumab

(102, 111, 112) y otros cuatro no encontraron ninguna relación (113,137-139). Las características de estos estudios se muestran en la siguiente tabla (tabla 14).

Estudios de polimorfismos en FcγR y respuesta a trastuzumab					
Estudio	Tipo de tratamiento	Nº de pacientes	Régimen	Variables	Resultados
Foster et al. (137)	Metastásico, 2ª o 3ª línea*	63	Trastuzumab semanal	TRO	FcγR3A V158F: No asociación con TRO
Musolino et al. (111)	Metastásico, 1ª línea	54	Trastuzumab semanal más paclitaxel o docetaxel	TRO, SLP y CCDA ex vivo	FcγR3A 158 V/V: Mayor TRO, mayor SLP y mejor CCDA, FcγR2A 131 H/H: "tendencia" (no estadísticamente significativo) a mayor TRO, mayor SLP y mejor CCDA. Pacientes con V/V y/o 131 H/H: Mayor TRO, mayor SLP (único factor predictivo independiente) y mejor CCDA
Tamura et al. (112)	Neoadyuvante	15	ACTH	pCR	FcγR2A 131H/H: Mayor tasa de pCR FcγR3A 158 V/V: No asociación con pCR
	Metastásico, ¿1ª línea?	35	Trastuzumab cada 3 semanas	TRO y SLP	FcγR2A 131H/H: Mayor TRO y mayor SLP FcγR23 158V/V: "tendencia" (no estadísticamente significativo) a mayor TRO
Hurvitz et al. (113)	Adyuvante**	~ 1200	ACTH o TCH	SLE y SG	FcγR3A V158F y FcγR2A H131R: No asociación con SLE, SLP ni SG
	Metastásico, 1ª o 2ª línea	53	"basada en trastuzumab"	SLP y SG	FcγR3A 158 V/V y FcγR2A 131 H/H: No asociación con SLE, SLP ni SG
Jung et al. (138)	Metastásico, 1ª línea	26	Trastuzumab semanal más paclitaxel	TRO y SLP	FcγR3A V158F y FcγR2A H131R: No asociación con TRO ni SLP
Kim et al. (139)	Metastásico, 1ª línea	57	Trastuzumab más taxano	TRO, SLP y SG	FcγR3A V158F y FcγR2A H131R: No asociación con TRO, SLP ni SG

Roca et al. (102)	Adyuvante***	132	FEC o ED cada 3 semanas seguido de trastuzumab	SLE, SG	FcyR2A H131R : FcyR2A 131 R/R: Asociado a peor SLE. No asociación con SG. FcyR3A V158F No asociación con SLE ni SG.
* Subgrupo de pacientes del ensayo H0649G (140); ** Subgrupo de pacientes del ensayo BCIRG 006 (50). *** Subgrupo de pacientes del ensayo UNICANCER-PACS04 (141). pCR: Respuesta completa patologica; SLE: Supervivencia libre de enfermedad; TTP: Tiempo hasta progresión; ED: Epirubicina más Docetaxel					

Tabla 14. Estudios publicados en relación a los polimorfismos en FcyR y la respuesta a trastuzumab

En nuestro estudio se analizó la respuesta a trastuzumab en dos grupos de pacientes: 54 no metastásicas y 22 metastásicas. En el grupo de pacientes no metastásicas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la SLR para ninguna de las curvas comparativas de los dos polimorfismos. Estos resultados coinciden con los publicados por Hurvitz et al. (113), los cuales en una muestra de 1268 pacientes tratadas con trastuzumab en adyuvancia, mostraron una SLE similar para los genotipos del polimorfismo FcyR2A (H/H vs H/R vs R/R, $p=0,76$) al igual que los correspondientes a FcyR3A (V/V vs V/F vs F/F, $p=0,98$). En el estudio de Roca et al. (102), por el contrario, observaron una mejor SLE para los genotipos que incluían el alelo H (H/H y H/R) con respecto al homocigoto para el alelo R (R/R) ($p=0,027$), aunque tampoco mostraron asociación entre el polimorfismo FcyR3A y la respuesta a trastuzumab. Y finalmente, en la comparación combinada de los genotipos favorables de ambos polimorfismos (FcyR2A H/H y/o FcyR3A V/V) frente al resto, ninguno de estos estudios, incluido el nuestro, encontraron significación estadística (nuestro estudio: $p=0,305$, Hurvitz et al.: $p=0,67$, Roca et al.: $p=0,508$).

En cuanto a la SG, en nuestro caso, encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p=0,015$) en las curvas que comparan FcyR2A (H/H vs H/R vs R/R). Sin embargo, al analizar las curvas por separado, esta diferencia se debe a la presencia del alelo H (Figura 12) y no al genotipo H/H, ya que al hacer la comparación de H/H

frente a H/R más R/R no se alcanza la significación ($p=0,276$). Este resultado coincide con los obtenidos en la SLE por Roca et al., donde también mostraron una mejor evolución en las pacientes portadoras del alelo H, pero no observaron diferencias en la SG. En su caso, es razonable que ocurra así, puesto que las diferencias en SG son más difíciles de detectar por el hecho de que las pacientes tardan menos tiempo en recaer que en morir. En nuestro estudio, ocurre lo contrario, encontrando diferencias en SG pero no en SLR, por lo puede deberse a un hallazgo casual. En el resto de curvas comparativas para FcGR3A, volvemos a no encontrar asociación entre la SG y los distintos genotipos, al igual que Hurvitz y Roca.

Estos resultados parecen indicar que no existe asociación entre los polimorfismos en FcyR y la evolución de la enfermedad cuando se administra trastuzumab en adyuvancia, si bien es cierto que, al tratarse de pacientes no metastásicas, el pronóstico y la esperanza de vida es mayor por lo que habría que aumentar el tiempo de seguimiento para poder obtener resultados más concluyentes, ya que en la mayoría de los casos no se alcanzaron las medianas de supervivencia. Por otro lado, es interesante comentar la desviación del HWE que ocurre en el polimorfismo FcyR3A en este grupo de pacientes. No tenemos datos de genotipado de sujetos control aparentemente sanos para evaluar el HWE en un entorno de casos y controles y descartar una posible asociación de este locus con el riesgo de cáncer de mama, lo que limita la interpretación de nuestros resultados. Sin embargo en el estudio de Hurvitz et al. tampoco se cumple el HWE para el mismo polimorfismo en la cohorte de pacientes adyuvantes, habiendo genotipado con dos plataformas independientes. Sería interesante por tanto, estudiar a qué se deben estas desviaciones en este grupo de pacientes.

En cuanto a las pacientes metastásicas, en nuestro estudio, los análisis de SLP y SG para ambos polimorfismos no mostraron diferencias estadísticamente

significativas en cuanto a FcγR2A, FcγR3A, ni en la combinación de los genotipos favorables frente al resto, al igual que ocurrió con la TRO. Si comparamos nuestros resultados con los demás estudios realizados hasta la fecha, encontramos que coinciden con algunos y difieren de otros. El primero de ellos fue un análisis retrospectivo, realizado por Foster et al. (137), de un subgrupo de pacientes con cáncer de mama metastásico incluidos en el ensayo pivotal de trastuzumab. Sus resultados no mostraron diferencias en la distribución del polimorfismo FcγR3A-Val158Phe entre las pacientes que alcanzaron respuesta objetiva y aquellas que tuvieron progresión de la enfermedad. Por el contrario, en un estudio posterior llevado a cabo por Musolino et al. (111), se observó una mayor TRO y SLP en las pacientes con genotipo FcγR3A-158 V/V ($p=0,03$ y $p=0,035$, respectivamente) y en la combinación de los dos genotipos favorables FcγR3A-158 V/V y FcγR2A-131 H/H ($p=0,04$ y $p=0,01$, respectivamente), en un total de 54 pacientes que recibieron tratamiento con trastuzumab y taxanos. Sin embargo, para el genotipo FcγR2A-131 H/H no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a TRO y SLP, observándose únicamente una menor mediana de SLP en los homocigotos para el alelo R ($p=0,04$). En otro estudio realizado por Tamura et al. (112) se estudiaron ambos polimorfismos en 15 pacientes con cáncer de mama precoz y 35 pacientes metastásicas tratadas con trastuzumab. Sus resultados mostraron una asociación entre el genotipo FcγR2A-131 H/H y la respuesta patológica ($p=0,015$) en el grupo neoadyuvante, así como una mayor TRO ($p=0,043$) y SLP ($p=0,034$) en las pacientes metastásicas, pero no ocurrió lo mismo con el genotipo FcγR3A-158 V/V, para el cual sólo se observó una tendencia, no estadísticamente significativa, a mayor TRO en las pacientes metastásicas. En contraposición, en el estudio de Hurvitz et al. (113), en una cohorte de 53 pacientes metastásicas que recibieron quimioterapia basada en trastuzumab, no hubo asociación entre ninguno de los polimorfismos y la SLP ni la SG, coincidiendo así con Foster et al. (137) y con nuestros resultados. De igual modo, dos

nuevos trabajos publicados recientemente por Jung et al. (138) y Kim et al (139), vuelven a no encontrar asociación entre estos polimorfismos y la respuesta clínica a trastuzumab en pacientes metastásicas.

Aunque estos estudios no son directamente comparables, debido a la heterogenicidad en el tamaño de muestra, el tipo de tratamiento (primera, segunda o tercera línea), el régimen en que se administra trastuzumab (en monoterapia o unido a distintos esquemas de quimioterapia), y las variables evaluadas, los resultados indican que el papel de FcyR en la respuesta a trastuzumab permanece incierto. En nuestro caso, el limitado número de pacientes en el grupo metastásico podría no alcanzar el poder estadístico necesario para observar diferencias en las curvas de supervivencia y en la variable de respuesta clínica a trastuzumab. De hecho, en el estudio de Jung et al. (138) el cálculo del tamaño muestral, basado en el trabajo de Musolino et al. (111), determinó que eran necesarias 56 pacientes para obtener diferencias en la tasa de respuesta en función de los genotipos de FcyR, con un poder estadístico del 80% y un valor de p igual a 0,050, según el test exacto de Fisher. Sin embargo, también es importante destacar que en nuestro estudio las frecuencias genotípicas obtenidas para FcyR3A fueron ligeramente distintas a las del estudio de Musolino. Tan sólo hubo una paciente con genotipo V/V (4,55%) (frente a las 11 (20,37%) del estudio de Musolino), en la cual no hubo progresión ni muerte en las curvas de SLP y SG, respectivamente, y obtuvo RC completa a trastuzumab. Además, las tasas de respuesta de acuerdo a los genotipos F/V y F/F fueron bastante similares (64,29% y 57,14%, respectivamente) y no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tres genotipos ($p=1,000$). Por tanto, es posible que aunque aumentásemos el tamaño muestral de nuestro estudio las diferencias en la respuesta a trastuzumab para FcyR3A siguieran sin observarse. Para FcyR2A, por el contrario, las frecuencias genotípicas de nuestra muestra sí se corresponden con las observadas en los estudios previos, pero los

resultados obtenidos tampoco muestran diferencias en ninguna de las variables evaluadas.

Una posible hipótesis que se ha barajado para explicar la variabilidad en los resultados obtenidos en los diferentes estudios es la influencia que pueden tener los agentes quimioterápicos en la respuesta clínica a trastuzumab. Por un lado, se sabe que la eficacia de trastuzumab se debe al bloqueo directo de la señales de transducción a nivel celular y al efecto indirecto que ejerce al activar CCDA. Por otro, los agentes citostáticos actúan produciendo daños directamente en el DNA pero no influyen en la CCDA. Así, el cambio en la CCDA producido por los diferentes polimorfismos podría verse diluido en aquellos casos en que trastuzumab se administra conjuntamente con quimioterapia con respecto a cuando se utiliza en monoterapia. Este hecho se ha observado en pacientes con linfoma tratados con rituximab, donde la influencia de los polimorfismos FcγR2A y FcγR3A en los resultados parece disminuir con la administración de quimioterapia concomitante (142). En el caso de trastuzumab se trata de un inconveniente difícil de solventar en la práctica clínica habitual ya que se puede administrar con una gran variedad de agentes antineoplásicos según las características de cada paciente. Por tanto, sería necesario estudiar estos polimorfismos en el contexto de un ensayo clínico controlado con el fin de dilucidar el verdadero efecto que pueden ejercer en la CCDA y en la eficacia de trastuzumab.

CONCLUSIONES

Los resultados de esta tesis y la discusión de los mismos permiten obtener las siguientes conclusiones:

1. Nuestros datos muestran una elevada tasa de eventos cardíacos asociados al tratamiento con trastuzumab, afectando al 19,23% de las pacientes de nuestro estudio. La toxicidad cardíaca que produce el fármaco se manifiesta en la mayoría de los casos de forma asintomática y es reversible tras la suspensión del tratamiento.
2. De todas las variables estudiadas, el único factor de riesgo relacionado con la cardiotoxicidad inducida por trastuzumab en nuestra población de estudio es el polimorfismo HER2-Ile655Val. La obesidad se postula como otro posible factor predisponente a sufrir este efecto adverso, observándose una tendencia a desarrollar mayor toxicidad cardíaca en las pacientes con peso elevado, pero sería necesario realizar más estudios al respecto para confirmar este hallazgo.
3. En relación al polimorfismo HER2-Ile655Val, nuestro estudio refleja que las pacientes con genotipo I/V tienen un riesgo de padecer toxicidad cardíaca tras el tratamiento con trastuzumab cuatro veces mayor que aquellas con genotipo I/I y V/V. Además, el metaanálisis realizado combinando nuestros datos con los resultados de estudios previos publicados refuerzan la teoría de que es el genotipo heterocigoto el responsable de la aparición de cardiotoxicidad.
4. Existe evidencia suficiente para considerar que la implantación de la determinación genética del polimorfismo HER2-Ile655Val en la práctica clínica supondría una herramienta útil para minimizar la cardiotoxicidad producida por trastuzumab, monitorizando más estrechamente la función cardíaca en aquellas pacientes con mayor riesgo.

5. La hipótesis de que los polimorfismos en FcγR juegan un papel importante en la CCDA mediada por trastuzumab y en consecuencia predicen la respuesta clínica en pacientes con cáncer de mama permanece aún sin aclarar. En nuestra población de estudio no se observa asociación entre FcγR2A-His131Arg y FcγR3A-Val158Phe y la eficacia del tratamiento, si bien es cierto que el limitado tiempo de seguimiento en la cohorte no metastásica y el escaso número de pacientes metastásicas condicionan nuestra contribución de forma significativa a este debate.
6. Los resultados observados en estudios previos que evalúan la utilidad de los polimorfismos en FcγR como posibles biomarcadores farmacogenéticos de respuesta a trastuzumab muestran una gran variabilidad que podría deberse a la influencia de la quimioterapia en la eficacia del fármaco. Por tanto sería interesante evaluar estos polimorfismos en el contexto de un ensayo clínico que compare la eficacia de trastuzumab administrado en monoterapia y en combinación con otros agentes quimioterápicos.
7. En definitiva, nuestros datos contribuyen a los trabajos publicados que tienen por objeto comprender mejor la farmacogenética del tratamiento con trastuzumab en el cáncer de mama HER2 positivo. Este área de investigación, dada la aparición de nuevos fármacos eficaces dirigidos a HER2 que ofrecen diferentes opciones terapéuticas a pacientes y clínicos, será cada vez más importante si queremos lograr una mejor individualización del tratamiento en pacientes con tumores HER2 positivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Coughlin SS, Ekwueme DU. Breast cancer as a global health concern. *Cancer epidemiology*. 2009;33(5):315-8.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):E359-86.
3. Martín M, Herrero A, Echavarría I. El cáncer de mama. *Arbor*. 2015;191(773):a234.
4. Incidencia cáncer de mama. Asociación Española Contra el Cáncer [sede web]. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en: <https://www.aecc.es/sobrelcancer/cancerporlocalizacion/cancermama/paginas/incidencia.aspx>
5. Estimated cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. International agency for research of cancer. Globocan 2012. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx
6. Botha JL, Bray F, Sankila R, Parkin DM. Breast cancer incidence and mortality trends in 16 European countries. *Eur J Cancer*. 2003;39(12):1718-29.
7. Defunciones según la causa de muerte. Año 2012. Instituto Nacional de Estadística. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en: <http://www.ine.es/prensa/np830.pdf>
8. Supervivencia cáncer de mama. Asociación Española Contra el Cáncer [sede web]. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en: <https://www.aecc.es/sobrelcancer/cancerporlocalizacion/cancermama/paginas/pronostico.aspx>

9. Colditz GA, Baer HJ, Tamini RM. Breast cancer. En: Schottenfeld D, Fraumeni JF, editors. *Cancer Epidemiology and Prevention*. 3ª. Ed. New York: Oxford University Press 2006;995-1013.
10. Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk -- where do we stand in 2005? *J Cell Mol Med*. 2005;9(1):208-21.
11. Pike MC, Pearce CL, Wu AH. Prevention of cancers of the breast, endometrium and ovary. *Oncogene*. 2004;23(38):6379-91.
12. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a global Perspective. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en: http://www.aicr.org/assets/docs/pdf/reports/Second_Expert_Report.pdf
13. Bernstein L. The risk of breast, endometrial and ovarian cancer in users of hormonal preparations. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2006;98(3):288-96.
14. Couch FJ, Nathanson KL, Offit K. Two decades after BRCA: setting paradigms in personalized cancer care and prevention. *Science*. 2014;343(6178):1466-70.
15. Masciari S, Dillon DA, Rath M, Robson M, Weitzel JN, Balmana J, et al. Breast cancer phenotype in women with TP53 germline mutations: a Li-Fraumeni syndrome consortium effort. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;133(3):1125-30.
16. Tan MH, Mester JL, Ngeow J, Rybicki LA, Orloff MS, Eng C. Lifetime cancer risks in individuals with germline PTEN mutations. *Clin Cancer Res*. 2012;18(2):400-7.
17. Paglia LL, Lauge A, Weber J, Champ J, Cavaciuti E, Russo A, et al. ATM germline mutations in women with familial breast cancer and a relative with haematological malignancy. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;119(2):443-52.

18. Tipos cáncer de mama. Asociación Española Contra el Cáncer [sede web]. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en: <https://www.aecc.es/sobrelcancer/cancerporlocalizacion/cancermama/paginas/tipos.aspx>
19. Ross JS, Fletcher JA, Linette GP, Stec J, Clark E, Ayers M, et al. The Her-2/neu gene and protein in breast cancer 2003: biomarker and target of therapy. *Oncologist*. 2003;8(4):307-25.
20. WHO Classification of Tumours Pathology of the Breast and Female Genital Organs. Tavassoli FA, Devilee P, editors. Lyon: IARC Press 2003. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en: <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb4/BB4.pdf>
21. Mansel RE, Fallowfield L, Kissin M, Goyal A, Newcombe RG, Dixon JM, et al. Randomized multicenter trial of sentinel node biopsy versus standard axillary treatment in operable breast cancer: the ALMANAC Trial. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98(9):599-609.
22. Carter CL, Allen C, Henson DE. Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*. 1989;63(1):181-7.
23. Rosen PP, Groshen S. Factors influencing survival and prognosis in early breast carcinoma (T1N0M0-T1N1M0). Assessment of 644 patients with median follow-up of 18 years. *Surg Clin North Am*. 1990;70(4):937-62.
24. Harris JR, Lippman ME, Morow M, Osborne CK. Diseases of the breast, Third ed, vol 2, cap 34. 2004.

25. Pinder SE, Murray S, Ellis IO, Trihia H, Elston CW, Gelber RD, et al. The importance of the histologic grade of invasive breast carcinoma and response to chemotherapy. *Cancer*. 1998;83(8):1529-39.
26. Ellis PS, Whitehead R. Mitosis counting--a need for reappraisal. *Hum Pathol*. 1981;12(1):3-4.
27. Schnitt SJ. Morphologic Risk Factors for Local Recurrence in Patients with Invasive Breast Cancer Treated with Conservative Surgery and Radiation Therapy. *The Breast Journal*. 1997;3(5):261-6.
28. Fitzgibbons PL, Page DL, Weaver D, Thor AD, Allred DC, Clark GM, et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*. 2000;124(7):966-78.
29. Railo M, Nordling S, von Boguslawsky K, Leivonen M, Kyllonen L, von Smitten K. Prognostic value of Ki-67 immunolabelling in primary operable breast cancer. *Br J Cancer*. 1993;68(3):579-83.
30. van Diest PJ, Baak JP, Matze-Cok P, Wisse-Brekelmans EC, van Galen CM, Kurver PH, et al. Reproducibility of mitosis counting in 2,469 breast cancer specimens: results from the Multicenter Morphometric Mammary Carcinoma Project. *Hum Pathol*. 1992;23(6):603-7.
31. Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52.
32. Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron JS, Nobel A, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(14):8418-23.

33. Foekens JA, Atkins D, Zhang Y, Sweep FC, Harbeck N, Paradiso A, et al. Multicenter validation of a gene expression-based prognostic signature in lymph node-negative primary breast cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24(11):1665-71.
34. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *The New England journal of medicine*. 2001;344(11):783-92.
35. Rubin I, Yarden Y. The basic biology of HER2. *Ann Oncol*. 2001;12 Suppl 1:S3-8.
36. Graus-Porta D, Beerli RR, Daly JM, Hynes NE. ErbB-2, the preferred heterodimerization partner of all ErbB receptors, is a mediator of lateral signaling. *EMBO J*. 1997;16(7):1647-55.
37. Lee-Hoeflich ST, Crocker L, Yao E, Pham T, Munroe X, Hoeflich KP, et al. A central role for HER3 in HER2-amplified breast cancer: implications for targeted therapy. *Cancer Res*. 2008;68(14):5878-87.
38. Díaz-Rubio E, Martín Jiménez M. *Tratado de cáncer de mama. Tomo II*. Editorial You & Us, S.A 2008. ISBN: 978-84-690-7174-8.
39. De Laurentiis M, Canello G, Zinno L, Montagna E, Malorni L, Esposito A, et al. Targeting HER2 as a therapeutic strategy for breast cancer: a paradigmatic shift of drug development in oncology. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2005;16 Suppl 4:iv7-13.
40. Palacios J, Andreu X, Calasanz MJ, Concha Á, Corominas JM, García-Caballero T, et al. Recomendación para la determinación de HER2 en cáncer de mama. Consenso nacional de la Sociedad Española de Anatomía Patológica (SEAP) y de

la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Revista Española de Patología. 2009;42(1):3-16.

41. Ficha técnica Herceptin®. European Medicines Agency. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en:

http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000278/WC500074922.pdf

42. Ficha técnica Tyverb®. European Medicines Agency. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en:

http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000795/WC500044957.pdf

43. Ficha técnica Perjeta®. European Medicines Agency. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en:

http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002547/WC500140980.pdf

44. Ficha técnica Kadcyła®. European Medicines Agency. [Citado 31 de marzo de 2016]. Disponible en:

http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002389/WC500158593.pdf

45. Santa-Maria CA, Nye L, Mutonga MB, Jain S, Gradishar WJ. Management of Metastatic HER2-Positive Breast Cancer: Where Are We and Where Do We Go From Here? *Oncology (Williston Park)*. 2016;30(2):148-55.

46. Izumi Y, Xu L, di Tomaso E, Fukumura D, Jain RK. Tumour biology: herceptin acts as an anti-angiogenic cocktail. *Nature*. 2002;416(6878):279-80.

47. Albanell J, Codony J, Rovira A, Mellado B, Gascon P. Mechanism of action of anti-HER2 monoclonal antibodies: scientific update on trastuzumab and 2C4. *Adv Exp Med Biol.* 2003;532:253-68.
48. Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, Snyder R, Mauriac L, Tubiana-Hulin M, et al. Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: the M77001 study group. *J Clin Oncol.* 2005;23(19):4265-74.
49. Joensuu H, Bono P, Kataja V, Alanko T, Kokko R, Asola R, et al. Fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide with either docetaxel or vinorelbine, with or without trastuzumab, as adjuvant treatments of breast cancer: final results of the FinHer Trial. *J Clin Oncol.* 2009;27(34):5685-92.
50. Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pienkowski T, Martin M, Press M, et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2011;365(14):1273-83.
51. Bartsch R, Wenzel C, Altorjai G, Pluschnig U, Rudas M, Mader RM, et al. Capecitabine and trastuzumab in heavily pretreated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25(25):3853-8.
52. Yamamoto D, Iwase S, Kitamura K, Odagiri H, Yamamoto C, Nagumo Y. A phase II study of trastuzumab and capecitabine for patients with HER2-overexpressing metastatic breast cancer: Japan Breast Cancer Research Network (JBCRN) 00 Trial. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2008;61(3):509-14.
53. Lee YR, Huh SJ, Lee DH, Yoon HH, Seol YM, Choi YJ, et al. Phase II Study of Vinorelbine Plus Trastuzumab in HER2 Overexpressing Metastatic Breast Cancer Pretreated with Anthracyclines and Taxanes. *J Breast Cancer.* 2011;14(2):140-6.

54. Petrelli F, Borgonovo K, Cabiddu M, Ghilardi M, Barni S. Neoadjuvant chemotherapy and concomitant trastuzumab in breast cancer: a pooled analysis of two randomized trials. *Anticancer Drugs*. 2011;22(2):128-35.
55. Dahabreh IJ, Linardou H, Siannis F, Fountzilas G, Murray S. Trastuzumab in the adjuvant treatment of early-stage breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Oncologist*. 2008;13(6):620-30.
56. Rusnak DW, Lackey K, Affleck K, Wood ER, Alligood KJ, Rhodes N, et al. The effects of the novel, reversible epidermal growth factor receptor/ErbB-2 tyrosine kinase inhibitor, GW2016, on the growth of human normal and tumor-derived cell lines in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther*. 2001;1(2):85-94.
57. Konecny GE, Pegram MD, Venkatesan N, Finn R, Yang G, Rahmeh M, et al. Activity of the dual kinase inhibitor lapatinib (GW572016) against HER-2-overexpressing and trastuzumab-treated breast cancer cells. *Cancer Res*. 2006;66(3):1630-9.
58. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, Chan S, Romieu CG, Pienkowski T, et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med*. 2006;355(26):2733-43.
59. Gelmon KA, Boyle FM, Kaufman B, Huntsman DG, Manikhas A, Di Leo A, et al. Lapatinib or Trastuzumab Plus Taxane Therapy for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Advanced Breast Cancer: Final Results of NCIC CTG MA.31. *J Clin Oncol*. 2015;33(14):1574-83.
60. Franklin MC, Carey KD, Vajdos FF, Leahy DJ, de Vos AM, Sliwkowski MX. Insights into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex. *Cancer cell*. 2004;5(4):317-28.

61. Baselga J, Cortes J, Kim SB, Im SA, Hegg R, Im YH, et al. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *N Engl J Med.* 2012;366(2):109-19.
62. Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J, et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med.* 2012;367(19):1783-91.
63. Jensen BC, McLeod HL. Pharmacogenomics as a risk mitigation strategy for chemotherapeutic cardiotoxicity. *Pharmacogenomics.* 2013;14(2):205-13.
64. Verma S, Ewer MS. Is cardiotoxicity being adequately assessed in current trials of cytotoxic and targeted agents in breast cancer? *Ann Oncol.* 2011;22(5):1011-8.
65. Guglin M, Hartlage G, Reynolds C, Chen R, Patel V. Trastuzumab-induced cardiomyopathy: not as benign as it looks? A retrospective study. *J Card Fail.* 2009;15(8):651-7.
66. Tarantini L, Cioffi G, Gori S, Tuccia F, Boccardi L, Bovelli D, et al. Trastuzumab adjuvant chemotherapy and cardiotoxicity in real-world women with breast cancer. *J Card Fail.* 2012;18(2):113-9.
67. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer CE, Jr., Davidson NE, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2005;353(16):1673-84.
68. Tan-Chiu E, Yothers G, Romond E, Geyer CE, Jr., Ewer M, Keefe D, et al. Assessment of cardiac dysfunction in a randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel, with or without trastuzumab as adjuvant therapy in node-positive, human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing breast cancer: NSABP B-31. *J Clin Oncol.* 2005;23(31):7811-9.

69. Perez EA, Suman VJ, Davidson NE, Sledge GW, Kaufman PA, Hudis CA, et al. Cardiac safety analysis of doxorubicin and cyclophosphamide followed by paclitaxel with or without trastuzumab in the North Central Cancer Treatment Group N9831 adjuvant breast cancer trial. *J Clin Oncol*. 2008;26(8):1231-8.
70. Goldhirsch A, Gelber RD, Piccart-Gebhart MJ, de Azambuja E, Procter M, Suter TM, et al. 2 years versus 1 year of adjuvant trastuzumab for HER2-positive breast cancer (HERA): an open-label, randomised controlled trial. *Lancet*. 2013;382(9897):1021-8.
71. Mackey JR, Clemons M, Cote MA, Delgado D, Dent S, Paterson A, et al. Cardiac management during adjuvant trastuzumab therapy: recommendations of the Canadian Trastuzumab Working Group. *Curr Oncol*. 2008;15(1):24-35.
72. Gennari R, Menard S, Fagnoni F, Ponchio L, Scelsi M, Tagliabue E, et al. Pilot study of the mechanism of action of preoperative trastuzumab in patients with primary operable breast tumors overexpressing HER2. *Clin Cancer Res*. 2004;10(17):5650-5.
73. Zambelli A, Della Porta MG, Eleuteri E, De Giuli L, Catalano O, Tondini C, et al. Predicting and preventing cardiotoxicity in the era of breast cancer targeted therapies. Novel molecular tools for clinical issues. *Breast*. 2011;20(2):176-83.
74. Ueda H, Oikawa A, Nakamura A, Terasawa F, Kawagishi K, Moriizumi T. Neuregulin receptor ErbB2 localization at T-tubule in cardiac and skeletal muscle. *J Histochem Cytochem*. 2005;53(1):87-91.
75. Kuramochi Y, Guo X, Sawyer DB. Neuregulin activates erbB2-dependent src/FAK signaling and cytoskeletal remodeling in isolated adult rat cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol*. 2006;41(2):228-35.

76. Crone SA, Zhao YY, Fan L, Gu Y, Minamisawa S, Liu Y, et al. ErbB2 is essential in the prevention of dilated cardiomyopathy. *Nature medicine*. 2002;8(5):459-65.
77. Zeglinski M, Ludke A, Jassal DS, Singal PK. Trastuzumab-induced cardiac dysfunction: A 'dual-hit'. *Exp Clin Cardiol*. 2011;16(3):70-4.
78. Barth AS, Zhang Y, Li T, Smith RR, Chimenti I, Terrovitis I, et al. Functional impairment of human resident cardiac stem cells by the cardiotoxic antineoplastic agent trastuzumab. *Stem Cells Transl Med*. 2012;1(4):289-97.
79. Negro A, Brar BK, Lee KF. Essential roles of Her2/erbB2 in cardiac development and function. *Recent Prog Horm Res*. 2004;59:1-12.
80. Ewer MS, Lippman SM. Type II chemotherapy-related cardiac dysfunction: time to recognize a new entity. *J Clin Oncol*. 2005;23(13):2900-2.
81. Ewer MS, Ewer SM. Cardiotoxicity of anticancer treatments: what the cardiologist needs to know. *Nat Rev Cardiol*. 2010;7(10):564-75.
82. Yavas O, Yazici M, Eren O, Oyan B. The acute effect of trastuzumab infusion on ECG parameters in metastatic breast cancer patients. *Swiss Med Wkly*. 2007;137(39-40):556-8.
83. Seidman A, Hudis C, Pierri MK, Shak S, Paton V, Ashby M, et al. Cardiac dysfunction in the trastuzumab clinical trials experience. *J Clin Oncol*. 2002;20(5):1215-21.
84. Farolfi A, Melegari E, Aquilina M, Scarpi E, Ibrahim T, Maltoni R, et al. Trastuzumab-induced cardiotoxicity in early breast cancer patients: a retrospective study of possible risk and protective factors. *Heart*. 2013;99(9):634-9.
85. Cochet A, Quilichini G, Dygai-Cochet I, Touzery C, Toubreau M, Berriolo-Riedinger A, et al. Baseline diastolic dysfunction as a predictive factor of trastuzumab-

- mediated cardiotoxicity after adjuvant anthracycline therapy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;130(3):845-54.
86. Moja L, Tagliabue L, Balduzzi S, Parmelli E, Pistotti V, Guarneri V, et al. Trastuzumab containing regimens for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;4:CD006243
87. de Azambuja E, Procter MJ, van Veldhuisen DJ, Agbor-Tarh D, Metzger-Filho O, Steinseifer J, et al. Trastuzumab-associated cardiac events at 8 years of median follow-up in the Herceptin Adjuvant trial (BIG 1-01). *J Clin Oncol.* 2014;32(20):2159-65.
88. He J, Ogden LG, Bazzano LA, Vupputuri S, Loria C, Whelton PK. Risk factors for congestive heart failure in US men and women: NHANES I epidemiologic follow-up study. *Arch Intern Med.* 2001;161(7):996-1002.
89. Serrano C, Cortes J, De Mattos-Arruda L, Bellet M, Gomez P, Saura C, et al. Trastuzumab-related cardiotoxicity in the elderly: a role for cardiovascular risk factors. *Ann Oncol.* 2012;23(4):897-902.
90. Guo S, Wong S. Cardiovascular toxicities from systemic breast cancer therapy. *Front Oncol.* 2014;4:346.
91. Tocchetti CG, Ragone G, Coppola C, Rea D, Piscopo G, Scala S, et al. Detection, monitoring, and management of trastuzumab-induced left ventricular dysfunction: an actual challenge. *Eur J Heart Fail.* 2012;14(2):130-7.
92. Braden A, Stankowski R, Engel J, Onitilo A. Breast cancer biomarkers: risk assessment, diagnosis, prognosis, prediction of treatment efficacy and toxicity, and recurrence. *Current pharmaceutical design.* 2014;20(30):4879-98.

93. Weinshilboum RM, Wang L. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: development, science, and translation. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2006;7:223-45.
94. Brockmoller J, Tzvetkov MV. Pharmacogenetics: data, concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. *Eur J Clin Pharmacol.* 2008;64(2):133-57.
95. International Human Genome Sequencing C. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature.* 2004;431(7011):931-45.
96. Shigematsu H, Takahashi T, Nomura M, Majmudar K, Suzuki M, Lee H, et al. Somatic mutations of the HER2 kinase domain in lung adenocarcinomas. *Cancer Res.* 2005;65(5):1642-6.
97. Fleishman SJ, Schlessinger J, Ben-Tal N. A putative molecular-activation switch in the transmembrane domain of erbB2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(25):15937-40.
98. Han W, Kang D, Lee JE, Park IA, Choi JY, Lee KM, et al. A haplotype analysis of HER-2 gene polymorphisms: association with breast cancer risk, HER-2 protein expression in the tumor, and disease recurrence in Korea. *Clin Cancer Res.* 2005;11(13):4775-8.
99. Milano G, Lescaut W, Formento J, Largillier R, Campone M, Chamorey E, et al., editors. HER2 genetic polymorphism and pharmacodynamics of trastuzumab-based treatment in breast cancer patients. *ASCO Annual Meeting Proceedings;* 2005.

100. Beauclair S, Formento P, Fischel JL, Lescaut W, Largillier R, Chamorey E, et al. Role of the HER2 [Ile655Val] genetic polymorphism in tumorigenesis and in the risk of trastuzumab-related cardiotoxicity. *Ann Oncol.* 2007;18(8):1335-41.
101. Lemieux J, Diorio C, Cote MA, Provencher L, Barabe F, Jacob S, et al. Alcohol and HER2 polymorphisms as risk factor for cardiotoxicity in breast cancer treated with trastuzumab. *Anticancer Res.* 2013;33(6):2569-76.
102. Roca L, Dieras V, Roche H, Lappartient E, Kerbrat P, Cany L, et al. Correlation of HER2, FCGR2A, and FCGR3A gene polymorphisms with trastuzumab related cardiac toxicity and efficacy in a subgroup of patients from UNICANCER-PACS 04 trial. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;139(3):789-800.
103. Gessner JE, Heiken H, Tamm A, Schmidt RE. The IgG Fc receptor family. *Ann Hematol.* 1998;76(6):231-48.
104. van Sorge NM, van der Pol WL, van de Winkel JG. FcγR polymorphisms: Implications for function, disease susceptibility and immunotherapy. *Tissue Antigens.* 2003;61(3):189-202.
105. Parren PW, Warmerdam PA, Boeije LC, Arts J, Westerdaal NA, Vlug A, et al. On the interaction of IgG subclasses with the low affinity Fc γR1a (CD32) on human monocytes, neutrophils, and platelets. Analysis of a functional polymorphism to human IgG2. *J Clin Invest.* 1992;90(4):1537-46.
106. Koene HR, Kleijer M, Algra J, Roos D, von dem Borne AE, de Haas M. Fc γR1a-158V/F polymorphism influences the binding of IgG by natural killer cell Fc γR1a, independently of the Fc γR1a-48L/R/H phenotype. *Blood.* 1997;90(3):1109-14.

107. Cartron G, Dacheux L, Salles G, Solal-Celigny P, Bardos P, Colombat P, et al. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor Fc γ R11a gene. *Blood*. 2002;99(3):754-8.
108. Weng WK, Levy R. Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituximab in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol*. 2003;21(21):3940-7.
109. Kim DH, Jung HD, Kim JG, Lee JJ, Yang DH, Park YH, et al. FCGR3A gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2006;108(8):2720-5.
110. Bibeau F, Lopez-Crapez E, Di Fiore F, Thezenas S, Ychou M, Blanchard F, et al. Impact of Fc γ R11a-Fc γ R11a polymorphisms and KRAS mutations on the clinical outcome of patients with metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus irinotecan. *J Clin Oncol*. 2009;27(7):1122-9.
111. Musolino A, Naldi N, Bortesi B, Pezzuolo D, Capelletti M, Missale G, et al. Immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms and clinical efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with HER-2/neu-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(11):1789-96.
112. Tamura K, Shimizu C, Hojo T, Akashi-Tanaka S, Kinoshita T, Yonemori K, et al. Fc γ R2A and 3A polymorphisms predict clinical outcome of trastuzumab in both neoadjuvant and metastatic settings in patients with HER2-positive breast cancer. *Ann Oncol*. 2011;22(6):1302-7.
113. Hurvitz SA, Betting DJ, Stern HM, Quinaux E, Stinson J, Seshagiri S, et al. Analysis of Fc γ receptor 11a and 11a polymorphisms: lack of correlation with outcome in trastuzumab-treated breast cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2012;18(12):3478-86.

114. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009;45(2):228-47.
115. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol*. 1982;5(6):649-55.
116. Greene FL. Breast tumours. In: Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C, editors. *TNM classification of malignant tumours*. 7th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2009. p. 181–93.
117. Rodriguez S, Gaunt TR, Day IN. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol*. 2009;169(4):505-1.
118. Breslow NE, Day NE. *Statistical methods in cancer research. Volume I - The analysis of case-control studies*. IARC Sci Publ. 1980(32):5-334.
119. Gómez Peña C, Dávila-Fajardo CL, Martínez-González LJ, Carna-Sáez P, Soto Pino MJ, Sánchez Ramos J, et al. Influence of the HER2 Ile655Val polymorphism on trastuzumab-induced cardiotoxicity in HER2-positive breast cancer patients: a meta-analysis. *Pharmacogenet Genomics*. 2015;25(8):388-93. Carlson RW, Allred DC, Anderson BO, Burstein HJ, Carter WB, Edge SB, et al. Breast cancer. Clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2009;7(2):122-92.
120. Goldhirsch A, Ingle JN, Gelber RD, Coates AS, Thurlimann B, Senn HJ, et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann Oncol*. 2009;20(8):1319-29.

121. Carlson RW, Allred DC, Anderson BO, Burstein HJ, Carter WB, Edge SB, et al. Breast cancer. Clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2009;7(2):122-92.
122. Wadhwa D, Fallah-Rad N, Grenier D, Krahn M, Fang T, Ahmadie R, et al. Trastuzumab mediated cardiotoxicity in the setting of adjuvant chemotherapy for breast cancer: a retrospective study. *Breast Cancer Res Treat*. 2009;117(2):357-64.
123. McArthur HL, Chia S. Cardiotoxicity of trastuzumab in clinical practice. *N Engl J Med*. 2007;357(1):94-5.
124. Guarneri V, Lenihan DJ, Valero V, Durand JB, Broglio K, Hess KR, et al. Long-term cardiac tolerability of trastuzumab in metastatic breast cancer: the M.D. Anderson Cancer Center experience. *J Clin Oncol*. 2006;24(25):4107-15.
125. Vicente C, Serrano N, Agustin MJ, Alonso V, Palomo P, Huarte R. Cardiotoxicity associated with trastuzumab in normal clinical practice. *Farm Hosp*. 2009;33(4):202-7.
126. Xie D, Shu XO, Deng Z, Wen WQ, Creek KE, Dai Q, et al. Population-based, case-control study of HER2 genetic polymorphism and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92(5):412-7.
127. Ma Y, Yang J, Zhang P, Liu Z, Yang Z, Qin H. Lack of association between HER2 codon 655 polymorphism and breast cancer susceptibility: meta-analysis of 22 studies involving 19,341 subjects. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;125(1):237-41.
128. Kaslow RA, Dorak T, Tang JJ. Influence of host genetic variation on susceptibility to HIV type 1 infection. *J Infect Dis*. 2005;191 Suppl 1:S68-77.

129. Mead S, Poulter M, Uphill J, Beck J, Whitfield J, Webb TE, et al. Genetic risk factors for variant Creutzfeldt-Jakob disease: a genome-wide association study. *Lancet Neurol.* 2009;8(1):57-66.
130. Bocharov EV, Mineev KS, Volynsky PE, Ermolyuk YS, Tkach EN, Sobol AG, et al. Spatial structure of the dimeric transmembrane domain of the growth factor receptor ErbB2 presumably corresponding to the receptor active state. *J Biol Chem.* 2008;283(11):6950-6.
131. Junttila TT, Akita RW, Parsons K, Fields C, Lewis Phillips GD, Friedman LS, et al. Ligand-independent HER2/HER3/PI3K complex is disrupted by trastuzumab and is effectively inhibited by the PI3K inhibitor GDC-0941. *Cancer Cell.* 2009;15(5):429-40.
132. Arnould L, Gelly M, Penault-Llorca F, Benoit L, Bonnetain F, Migeon C, et al. Trastuzumab-based treatment of HER2-positive breast cancer: an antibody-dependent cellular cytotoxicity mechanism? *Br J Cancer.* 2006;94(2):259-67.
133. Zhang T, Zhang J, Hewitt D, Tran B, Gao X, Qiu ZJ, et al. Identification and characterization of buried unpaired cysteines in a recombinant monoclonal IgG1 antibody. *Anal Chem.* 2012;84(16):7112-23.
134. Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV. Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. *Nat Med.* 2000 6(4):443-6.
135. Carson WE, Parihar R, Lindemann MJ, Personeni N, Dierksheide J, Meropol NJ, et al. Interleukin-2 enhances the natural killer cell response to Herceptin-coated Her2/neu-positive breast cancer cells. *Eur J Immunol.* 2001;31(10):3016-25.

136. Wu J, Edberg JC, Redecha PB, Bansal V, Guyre PM, Coleman K, et al. A novel polymorphism of FcγRIIIa (CD16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease. *J Clin Invest.* 1997;100(5):1059-70.
137. Foster C, Harris K, Ostland M, Mass R, Chen R, Presta L, et al. FCGR3A V/F polymorphism does not predict response to Herceptin (H) monotherapy. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 2002;21:57a, (abstr 227).
138. Jung M, Koo JS, Moon YW, Park BW, Kim SI, Park S, et al. Overexpression of class III beta tubulin and amplified HER2 gene predict good response to paclitaxel and trastuzumab therapy. *PLoS One.* 2012;7(9):e45127.
139. Kim JW, Kim JH, Im SA, Kim YJ, Han HS, Kim JS, et al. ABCB1, FCGR2A, and FCGR3A polymorphisms in patients with HER2-positive metastatic breast cancer who were treated with first-line taxane plus trastuzumab chemotherapy. *Oncology.* 2012;83(4):218-27.
140. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, Robert NJ, Scholl S, Fehrenbacher L, et al. Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol.* 1999;17(9):2639-48.
141. Spielmann M, Roche H, Delozier T, Canon JL, Romieu G, Bourgeois H, et al. Trastuzumab for patients with axillary-node-positive breast cancer: results of the FNCLCC-PACS 04 trial. *J Clin Oncol.* 2009;27(36):6129-34.
142. Carlotti E, Palumbo GA, Oldani E, Tibullo D, Salmoiraghi S, Rossi A, et al. FcγRIIIA and FcγRIIA polymorphisms do not predict clinical outcome of follicular non-Hodgkin's lymphoma patients treated with sequential CHOP and rituximab. *Haematologica.* 2007;92(8):1127-30.

ANEXOS

Anexo I. Consentimiento Informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO – INFORMACIÓN AL PACIENTE

Antes de proceder a la firma de este consentimiento informado, lea atentamente la información que a continuación se le facilita y realice las preguntas que considere oportunas.

Naturaleza: MARCADORES GENÉTICOS RELACIONADOS CON LA CARDIOTOXICIDAD INDUCIDA POR TRASTUZUMAB EN CÁNCER DE MAMA Y PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

Importancia: El objetivo principal de este estudio es valorar el empleo de la farmacogenética en la prevención de la cardiotoxicidad de los pacientes tratados con trastuzumab.

Implicaciones para el donante/paciente:

- La donación/participación es totalmente voluntaria.
- El donante/paciente puede retirarse del estudio cuando así lo manifieste, sin dar explicaciones y sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.
- Todos los datos carácter personal, obtenidos en este estudio son confidenciales y se tratarán conforme a la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.
- La donación/información obtenida se utilizará exclusivamente para los fines específicos de este estudio.

Riesgos de la investigación para el donante/paciente:

No hay

Si requiere información adicional se puede poner en contacto con nuestro personal de Farmacia o Cardiología en el teléfono: 958 023843

CONSENTIMIENTO INFORMADO – CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL PACIENTE

Yo _____ (Nombre _____ y Apellidos):.....

- He leído el documento informativo que acompaña a este consentimiento (Información al Paciente)

He podido hacer preguntas sobre el estudio MARCADORES GENÉTICOS RELACIONADOS CON LA CARDIOTOXICIDAD INDUCIDA POR TRASTUZUMAB EN CÁNCER DE MAMA Y PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

-

He recibido suficiente información sobre el estudio MARCADORES GENÉTICOS RELACIONADOS CON LA CARDIOTOXICIDAD INDUCIDA POR TRASTUZUMAB EN CÁNCER DE MAMA Y PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

- He hablado con el profesional sanitario informador:

- Comprendo que mi participación es voluntaria y soy libre de participar o no en el estudio.
- Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99.
- Se me ha informado de que la donación/información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.

- **Deseo** ser informado/a de mis datos genéticos y otros de carácter personal que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir, siempre que esta información sea necesaria para evitar un grave perjuicio para mi salud o la de mis familiares biológicos.

Si No

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el *proyecto titulado* MARCADORES GENÉTICOS RELACIONADOS CON LA CARDIOTOXICIDAD INDUCIDA POR TRASTUZUMAB EN CÁNCER DE MAMA Y PREDICTIVOS DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD

Firma del paciente

Firma del profesional

(o representante legal en su caso)

sanitario informador

Nombre y apellidos:.....

Nombre y apellidos:

Fecha:

Fecha:

Anexo II. Aprobación del Comité Ético y de Investigación Clínica



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

DON MIGUEL ÁNGEL CALLEJA HERNÁNDEZ, EN CALIDAD DE SECRETARIO DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE LA PROVINCIA DE GRANADA,

CERTIFICA:

Que este Comité ha evaluado favorablemente, en su reunión celebrada el día 28 de marzo de 2012, el proyecto de investigación titulado: ***"Marcadores genéticos relacionados con la cardiotoxicidad inducida por Trastuzumab en cáncer de mama y predictivos de la evolución de la enfermedad"***, siendo la investigadora principal doña Cristina Lucía Dávila Fajardo, y considera que,

La capacidad de la Investigadora y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el proyecto.

Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.

Se recomienda crear un fichero y solicitar a la Gerencia del Centro la declaración del fichero de investigación de acuerdo con lo establecido en la Ley de Protección de Datos, que hace referencia sólo a los datos personales

A ser posible, se hará un fichero anonimizado, en caso contrario, de hará de forma codificada (sólo 1 ó 2 personas como máximo dispondrán de los códigos), en cuyo caso, será necesaria siempre su declaración.

Lo que firmo en Granada, a 11 de junio de dos mil doce.

