

TESIS DOCTORAL  
UNIVERSIDAD DE GRANADA  
FACULTAD DE FARMACIA



MARCADORES GENÉTICOS IMPLICADOS EN LOS  
RESULTADOS CLÍNICOS A LOS ESQUEMAS CON  
TRASTUZUMAB EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA  
HER2-POSITIVO

Adela María Madrid Paredes  
Granada, Marzo2017

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales

Autora: Adela Madrid Paredes

ISBN: 978-84-9163-186-6

URI: <http://hdl.handle.net/10481/46329>

UNIVERSIDAD DE GRANADA  
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR II  
FACULTAD DE FARMACIA

UNIDAD DE FARMACOGENÉTICA  
COMPLEJO HOSPITALARIO UNIVERSITARIO DE GRANADA

TESIS DOCTORAL

**MARCADORES GENÉTICOS IMPLICADOS EN LOS RESULTADOS  
CLÍNICOS A LOS ESQUEMAS CON TRASTUZUMAB EN  
PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA HER2-POSITIVO**

Tesis presentada por Adela María Madrid Paredes para optar al grado de Doctora.

**Directores:**

Dra. María Luisa Cañadas Garre.

Dr. Antonio Sánchez Pozo.

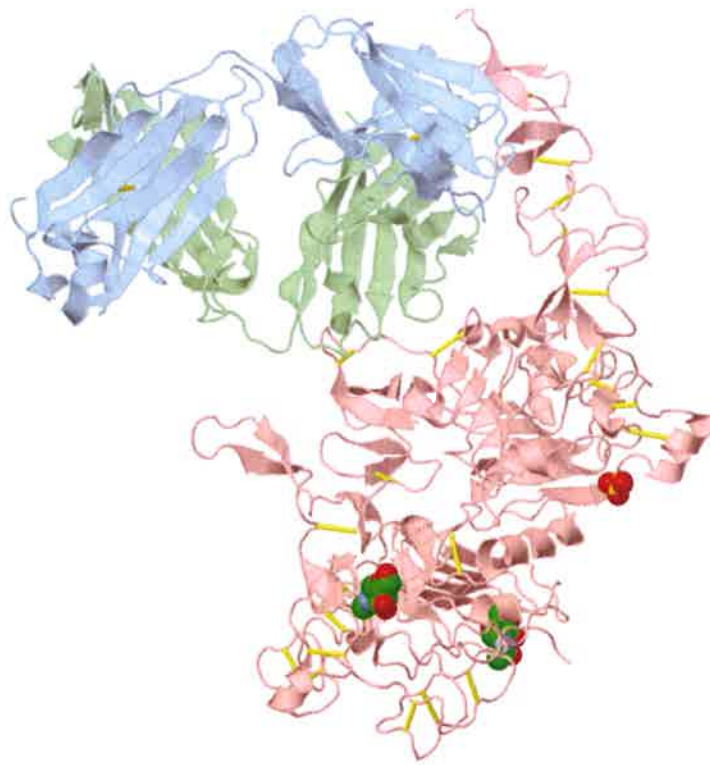
Granada, Marzo 2017











## AGRADECIMIENTOS





## AGRADECIMIENTOS

---

De las mayores satisfacciones que he podido tener en estos años de arduo trabajo y superación, ha sido el poder soñar desde mi humilde posición, con poder ayudar a tantas familias a las que les ha tocado luchar con esta enfermedad, entre las cuales se incluye la mía. Por ello, más que un trabajo, ha sido un placer que he podido compartir con muchas personas a las que me gustaría agradecer su ayuda.

A mis directores de tesis, Marisa y Antonio. Marisa muchas gracias por tu tiempo ilimitado, por llevar siempre un orden con nosotras y ser justa, y porque gracias a ti esto ha sido posible. Me recogiste cuando estaba a punto de darme por vencida y paso a paso has logrado que cambiara el chip de farmacéutica de hospital a acercarme a tu mundo de genes, alelos, estadística, plink, desde cero, consiguiendo en mí cosas que ni yo misma pensaba que pudiera hacer. Eres apasionada, inteligente y contagias a todo el mundo con tu esfuerzo y dedicación por la Farmacogenética. De verdad que no tengo palabras de agradecimiento suficientes.

Antonio, muchas gracias por estar ahí cada vez que te he necesitado y haber aportado tu granito de arena y experiencia a este trabajo que llega a su fin.

A Miguel Ángel Calleja, Jefe de Servicio del Hospital Universitario Virgen de las Nieves hasta hace pocos meses, querría agradecer haberme inculcado tu pasión por la investigación y haber recalcado la importancia de la tesis desde el primer día que pisé el hospital.

A las adjuntas del servicio de Anatomía Patológica Clara Chamorro y Esther Vergara y la técnico Ana Segura por su inestimable ayuda en la selección y obtención de las muestras de tejido mamario.

A la oncóloga Lucía Castillo, por estar siempre disponible y por aclararme mis dudas momentos antes del análisis de los datos.

A la estadística Manuela Expósito por su asesoramiento en el tratamiento de los datos y su ayuda contrarreloj sobre todo en esta recta final.

A mis padres Adela y Nicolás, por enseñarme tantos valores, todo lo que soy, por darme las oportunidades que han podido para desarrollarme como profesional y no escatimar en ello.

## AGRADECIMIENTOS

---

Por enseñarme lo que es el trabajo duro, la importancia de superarse y no rendirse ante los fracasos y relativizar las tonterías que aparecen por el camino y sobre todo el mundo de la investigación desde bien pequeña cuando yo pensaba que mi padre “era el hombre del telediario” cuando se estaba preparando para la lectura de su tesis doctoral.

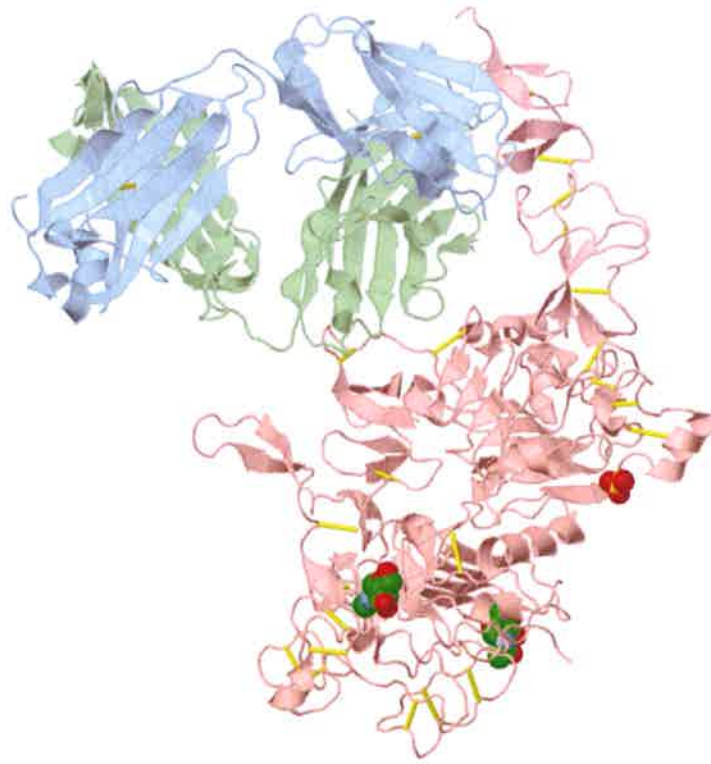
A mis hermanos María y Nico, que siempre me animan haga lo que haga y son dos pilares en mi vida aunque no sepan muy bien lo que hago siempre están ahí.

A mi compañero de vida, Adolfo, que ha soportado mis preocupaciones y desvelos durante estos años y los que le quedan y siempre me ha sacado una sonrisa en los peores momentos, y por apoyarme en cada etapa que hemos vivido juntos.

A mis suegros Fausti y Carlos, por ayudarme y acompañarme y a mi cuñado Quique, por ser siempre paciente y su ayuda con la informática

A mis compañeros residentes, por estar siempre presentes y hacerme desconectar en los ratitos de espera del Stepone, nuestros momentos de tapas y risas y por alegrarse de mis progresos casi tanto como yo.

A las farmacogenéticas, por el respeto en el trabajo, por organizarnos y utilizar los recursos de forma que ninguna saliera perjudicada, sino todo lo contrario, lograr cada una sus objetivos alegrándonos siempre por todas. Os deseo toda la suerte del mundo.



## RESUMEN



TÍTULO

**MARCADORES GENÉTICOS IMPLICADOS EN LOS RESULTADOS CLÍNICOS A LOS ESQUEMAS CON TRASTUZUMAB EN PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA HER2-POSITIVO**

INTRODUCCIÓN

En España en 2012, el cáncer de mama fue el cuarto con mayor incidencia (11,7%), y el tercero en mortalidad (5,9%), por detrás del cáncer de pulmón (20,6%) y del cáncer colorrectal (14,3%).

Aunque durante muchas décadas las diferentes características del paciente y del tumor como la edad, afectación axilar, tipo histológico, expresión de receptores (hormonales y HER2), han servido para la planificación del tratamiento, no justificaban los comportamientos biológicos de la enfermedad. Una nueva clasificación surgió ante la necesidad de caracterizar a los tumores cuyos comportamientos eran similares y se definieron 4 subtipos con relevancia biológica y clínica realizando un análisis molecular: luminal A, luminal B, basal-like, HER2-enriched y normal-like.

Las pacientes con cáncer de mama HER2-positivo tratados con esquemas de trastuzumab tienen buenos resultados clínicos iniciales. En el CM en fase inicial, la adición de trastuzumab a la quimioterapia neoadyuvante mejora sustancialmente la supervivencia global (SG) y reduce el riesgo de recurrencia en un 33%. Del mismo modo, trastuzumab en adyuvancia mejora sustancialmente la supervivencia libre de enfermedad en un 38% y la supervivencia global en un 34% y reduce sustancialmente el riesgo de recurrencia local y a distancia en un 42% y 40%, respectivamente. A pesar de este efecto beneficioso, muchas pacientes experimentan resistencia a estos fármacos.

Varios polimorfismos genéticos de ABCB1, HER2 y CCND1 se han propuesto como predictores potenciales de los resultados clínicos a los esquemas de trastuzumab.

## HIPÓTESIS

“La identificación de marcadores genéticos en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo permite predecir la resistencia al tratamiento con esquemas de trastuzumab”.

## OBJETIVO PRINCIPAL

Evaluar la influencia de los polimorfismos genéticos ABCB1-C3435T (rs1045642), ABCB1-C1236T (rs1128503), CCND1-A870G (rs9344), HER2-Ile655Val (rs93441) como factores pronósticos y predictivos a esquemas con trastuzumab en pacientes diagnosticadas con CM HER2 positivo.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar la presencia de los polimorfismos en ABCB1-C3435T (rs1045642), ABCB1-C1236T (rs1128503), CCND1-A870G (rs9344), HER2-Ile655Val (rs93441) potencialmente implicadas en los resultados clínicos a esquemas con trastuzumab en pacientes con CM HER2-positivo.
- Evaluar la respuesta, resistencia, progresión, exitus, supervivencia libre de progresión y supervivencia global en pacientes con CM HER2 positivo tratadas con esquemas con trastuzumab.
- Evaluar la asociación de los polimorfismos en ABCB1-C3435T (rs1045642), ABCB1-C1236T (rs1128503), CCND1-A870G (rs9344), HER2-Ile655Val (rs93441) en los resultados clínicos a esquemas con trastuzumab en pacientes con CM HER2-positivo.
- Estimar una asociación más precisa de la asociación de la respuesta a esquemas con trastuzumab y los polimorfismos ABCB1-C3435T (rs1045642) y ABCB1-C1236T (rs1128503) en pacientes con CM a través de la evaluación de los resultados de varios estudios mediante metaanálisis.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de cohortes. Se incluyeron ochenta y cuatro pacientes con cáncer de mama HER2-positivo tratadas con esquemas de trastuzumab. Los cuatro

polimorfismos se analizaron por PCR a tiempo real con sondas Taqman®. Se investigó si los genotipos estaban asociados con la respuesta tumoral, la supervivencia y la resistencia a esquemas con trastuzumab.

#### RESULTADOS

Las pacientes con genotipo CC de ABCB1-C3435T presentaron un mayor riesgo de resistencia a los esquemas quimioterapéuticos/trastuzumab, comparadas con las portadoras del alelo T (RR: 2.71; IC 95%: 1.29-5.68;  $p=0.013888$ ), progresión (RR: 1.89;  $p = 0.017964$ ); y exitus (RR: 2.09;  $p=0.03276$ ). El análisis de regresión logística multivariable considerando variables clínicas y ABCB1-C3435T reveló que el único factor independiente asociado a la resistencia al tratamiento fue el polimorfismo del gen ABCB1-C3435T (OR CT/CC: 0.25;  $p = 0.0123$ ; OR TT/CC: 0.09;  $p = 0.0348$ ). El efecto protector del alelo T ABCB1-C3435T fue confirmado en el análisis multivariante de regresión de Cox para supervivencia libre de progresión (HR CT/CC: 0.41;  $p = 0.00806$ ; HR TT/CC: 0.22;  $p = 0.01982$ ) y supervivencia global (HR CT/CC: 0.49;  $p = 0.0555$ ; HR TT/CC: 0.12;  $p = 0.0398$ ).

Los polimorfismos ABCB1-C1236T, CCND1-A870G y HER2-Ile655Val no se asociaron a la resistencia, supervivencia libre de progresión o supervivencia global ( $p > 0.05$ ). El alelo A para CCND1-rs9344 se asoció con mayores tasas de respuesta (RR: 3.44, valor  $p$  no corregido: 0.03816) en el análisis bivariable, pero no se encontró asociación estadísticamente significativa después de la corrección de Bonferroni ( $p = 0.15264$ ).

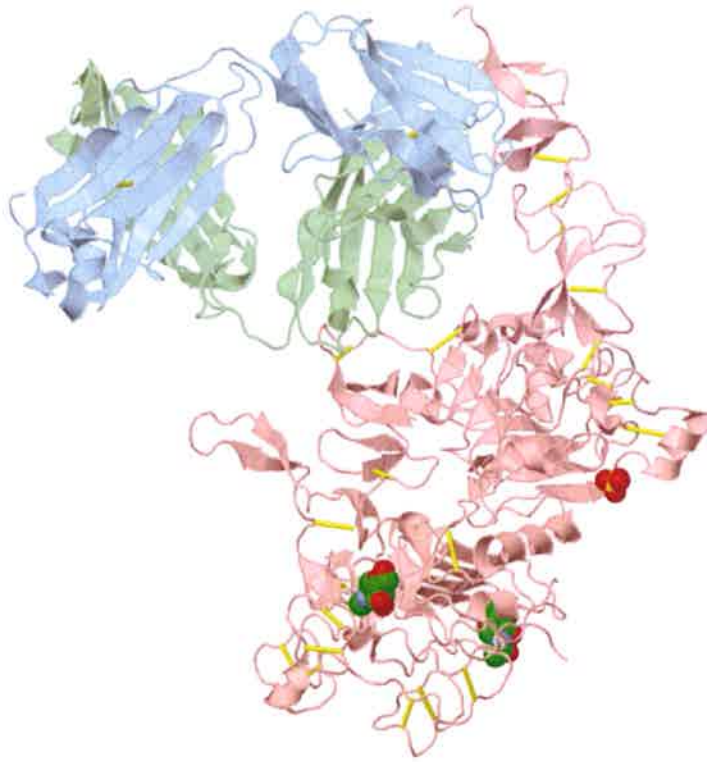
Los polimorfismos de los genes ABCB1-C3435T, ABCB1-C1236T y HER2-Ile655Val no se asociaron con la respuesta, hecho que se confirmó en los metaanálisis global y por estratos en ABCB1 C3435T y C1236T.

#### CONCLUSIONES

1. El alelo T del polimorfismo del gen ABCB1-C3435T ha demostrado ser un buen factor pronóstico para la resistencia, exitus, progresión, SLP y SG en las pacientes con CM HER2-positivo.



2. Los polimorfismos ABCB1-C1236T, CCND1-A870G y HER2-Ile655Val no se asociaron a la resistencia, respuesta, SLP y SGen las pacientes con CM HER2-positivo.
3. El polimorfismo del gen ABCB1-C3435T no se asoció a la respuesta a esquemas con trastuzumab en nuestras pacientes con CM HER2-positivo, efecto que fue confirmado tras metaanálisis de 9 estudios.
4. El metaanálisis de 5 estudios confirmó la ausencia de asociación entre ABCB1-C1236T y la respuesta a la quimioterapia.



## ÍNDICE Y ABREVIATURAS



**ÍNDICE**

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	27
1.1. EL CÁNCER DE MAMA .....	27
1.1.1. Epidemiología.....	27
1.1.2. Factores de riesgo .....	27
1.1.3. Signos y síntomas.....	28
1.1.4. Diagnóstico.....	29
1.1.5. Clasificación molecular del cáncer de mama .....	34
1.1.6. Cáncer mama HER2-positivo.....	35
1.1.7. Tratamiento del cáncer de mama HER2-positivo .....	36
1.1.8. Respuesta a fármacos y variabilidad interindividual .....	44
1.1.9. HER2 .....	50
<b>2. HIPÓTESIS</b> .....	56
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	56
3.1. Objetivo General .....	56
3.2. Objetivos Específicos.....	56
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	59
4.1. PARTE 1 .....	59
4.1.1. Diseño del estudio.....	59
4.1.2. Declaración ética.....	59
4.1.3. Población diana o de referencia .....	59
4.1.4. Alcance geográfico y temporal .....	59
4.1.5. Criterios de inclusión: .....	59
4.1.6. Criterios de exclusión:.....	60
4.1.7. Variables.....	60
4.1.8. Análisis estadístico .....	65

4.2. PARTE 2 .....	66
4.2.1. Diseño del estudio.....	66
4.2.2. Estrategia de búsqueda bibliográfica y extracción de datos para metaanálisis. ...	66
4.2.3. Extracción de datos .....	67
4.2.4. Análisis estadístico .....	68
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>71</b>
5.1. PARTE 1 .....	71
5.1.1. Características de las pacientes. ....	71
5.1.2. Asociación de las características clínicas y demográficas con la resistencia, progresión, respuesta y exitus a esquemas de trastuzumab.....	71
5.1.3. Distribución de genotipos .....	77
5.1.4. Influencia de los polimorfismos genéticos sobre las variables de respuesta .....	78
5.2. PARTE 2 .....	83
5.2.1. Características de los estudios.....	84
5.2.2. Metaanálisis .....	86
5.2.3. Test para la heterogeneidad .....	91
5.2.4. Sesgo de publicación.....	91
<b>6. DISCUSIÓN .....</b>	<b>94</b>
<b>7. CONCLUSIONES.....</b>	<b>104</b>
<b>8. REFERENCIAS .....</b>	<b>107</b>
<b>9. ANEXO.....</b>	<b>122</b>
9.1. Anexo 1. Certificado Comité de Investigación Ética del Complejo Hospitalario Universitario de Granada. ....	122
<b>10. DIFUSIÓN CIENTÍFICA .....</b>	<b>125</b>

**ÍNDICE TABLAS**

TABLA 1. CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA CÁNCER DE MAMA DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (5).....	29
TABLA 2. CÁNCER DE MAMA: CLASIFICACIÓN POR ESTADIOS TNM (7).....	34
TABLA 3. CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL CM.....	35
TABLA 4. HORMONOTERAPIA DEL CÁNCER DE MAMA EN ENFERMEDAD TEMPRANA. ....	41
TABLA 5. QUIMIOTERAPIA Y TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS ENFERMEDAD TEMPRANA. ....	42
TABLA 6. HORMONOTERAPIA DEL CÁNCER DE MAMA EN ENFERMEDAD AVANZADA.....	43
TABLA 7. QUIMIOTERAPIA Y TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS ENFERMEDAD AVANZADA. ....	43
TABLA 8. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS DE LAS PACIENTES CON CÁNCER DE MAMA. ....	72
TABLA 9. ASOCIACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS CON LA RESISTENCIA Y RESPUESTA A ESQUEMAS DE TRASTUZUMAB.....	74
TABLA 10. ASOCIACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DEMOGRÁFICAS CON EXITUS Y PROGRESIÓN. ....	75
TABLA 11. ASOCIACIÓN DE LOS GENOTIPOS DE ABCB1, CCND1 Y HER2 CON LA RESISTENCIA Y RESPUESTA. ....	78
TABLA 12. INFLUENCIA DE LOS GENOTIPOS DE ABCB1-C3435T EN LA RESISTENCIA (ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA)...	79
TABLA 13. ASOCIACIÓN DE LOS GENOTIPOS DE ABCB1, CCND1 AND HER2 CON EXITUS Y PROGRESIÓN.....	80
TABLA 14. INFLUENCIA DE LOS GENOTIPOS DE ABCB1-C3435T EN LA SUPERVIVENCIA LIBRE DE PROGRESSION Y LA SUPERVIVENCIA GLOBAL (ANÁLISIS DE REGRESSION DE COX MULTIVARIANTE) .....	81
TABLA 15. SUPERVIVENCIA LIBRE DE PROGRESSION Y SUPERVIVENCIA GLOBAL DE ACUERDO CON LOS GENOTIPOS DE ABCB1-C3435T EN PACIENTES CON CANCER DE MAMA.....	83
TABLA 16. CARACTERÍSTICAS DE LOS ESTUDIOS INCLUIDOS EN EL METAANÁLISIS. ....	85
TABLA 17. RESUMEN DE LAS OR (IC 95%) DE LOS DISTINTOS MODELOS GENÉTICOS DEL POLIMORFISMO ABCB1-C3435T Y LA ASOCIACIÓN CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO.....	86
TABLA 18. RESUMEN DE LAS OR (IC 95%) DE LA ASOCIACIÓN DE LOS DISTINTOS MODELOS GENÉTICOS DEL POLIMORFISMO ABCB1-C1236T Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO. ....	88
TABLA 19. RESULTADOS CLÍNICOS DE PACIENTES CON CM SEGÚN LOS POLIMORFISMOS DE ABCB1. ....	95

### ÍNDICE FIGURAS:

FIGURA 1. ALGORITMO DE TRATAMIENTO DEL CM HER2-POSITIVO ESTADIOS I-IV Y RECIDIVA LOCAL.....	40
FIGURA 2. ALGORITMO DE TRATAMIENTO NEOADYUVANTE DEL CM HER2-POSITIVO.....	41
FIGURA 3. FUNCIONAMIENTO DE LAS BOMBAS DE EXPLUSIÓN DE FÁRMACOS (ABCB1).....	47
FIGURA 4. ALTERACIONES GENÉTICAS IMPLICADAS EN LOS RESULTADOS CLÍNICOS A ESQUEMAS CON TRASTUZUMAB. ....	49
FIGURA 5. MECANISMOS DE RESISTENCIA A HER2 QUE IMPLICAN MODIFICACIONES EN EL RECEPTOR.....	52
FIGURA 6. CURVA DE KAPLAN-MEIER DE LA SUPERVIVENCIA LIBRE DE PROGRESIÓN SEGÚN LOS GENOTIPOS DE ABCB1- C3435T.....	82
FIGURA 7. CURVA DE KAPLAN-MEIER DE LA SUPERVIVENCIA GLOBAL SEGÚN LOS GENOTIPOS DE ABCB1-C3435T. ....	83
FIGURA 8. METAANÁLISIS DEL MODELO DOMINANTE DEL POLIMORFISMO ABCB1-C3435T SEGÚN LA ETNIA. ....	90
FIGURA 9. METAANÁLISIS DEL MODELO DOMINANTE DEL POLIMORFISMO ABCB1-C3435T SEGÚN EL TIPO DE CÁNCER. ....	90
FIGURA 10. METAANÁLISIS DEL MODELO DOMINANTE DEL POLIMORFISMO ABCB1-C1236T SEGÚN EL CRITERIO DE EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA. ....	91
FIGURA 11. TEST PARA EL SESGO DE PUBLICACIÓN DEL MODELO DOMINANTE DE ABCB1-C3435T ( <i>BEGG'S FUNNEL PLOT</i> ). 92	
FIGURA 12. TEST PARA EL SESGO DE PUBLICACIÓN DEL MODELO DOMINANTE DE ABCB1-C1236T ( <i>BEGG'S FUNNEL PLOT</i> ). 92	

### ABREVIATURAS

ABCB1: ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1

AJCC: American Joint Committee on Cancer

AKT1: V-akt murine thymoma viral oncogene 1

BRCA1: Breast cancer 1

BRCA2: Breast cancer 2

CCND1: Cyclin D1

CHUG: Complejo Hospitalario Universitario de Granada

CM: Cáncer de mama

CMLA: Cáncer de mama localmente avanzado

CMM: Cáncer de mama metastásico

EGFR: EpidermalGrowth Factor Receptor

HER2: Human epidermal growth factor receptor 2

HR: Hazard ratio

IC 95%: Intervalo de confianza 95%

OR: Odds ratio

PCR: Polymerase Chain Reaction

PI3K: Phosphatidylinositol 3-kinase

PTEN: Phosphatase and tensin homolog

QTNA: Quimioterapia neoadyuvante

RE: receptor estrógenos

RECIST: Response Evaluation Criteria in Solid Tumors

RP: Receptor progesterona

RR: Riesgo relativo

SG: Supervivencia global

SLE: Supervivencia libre de enfermedad

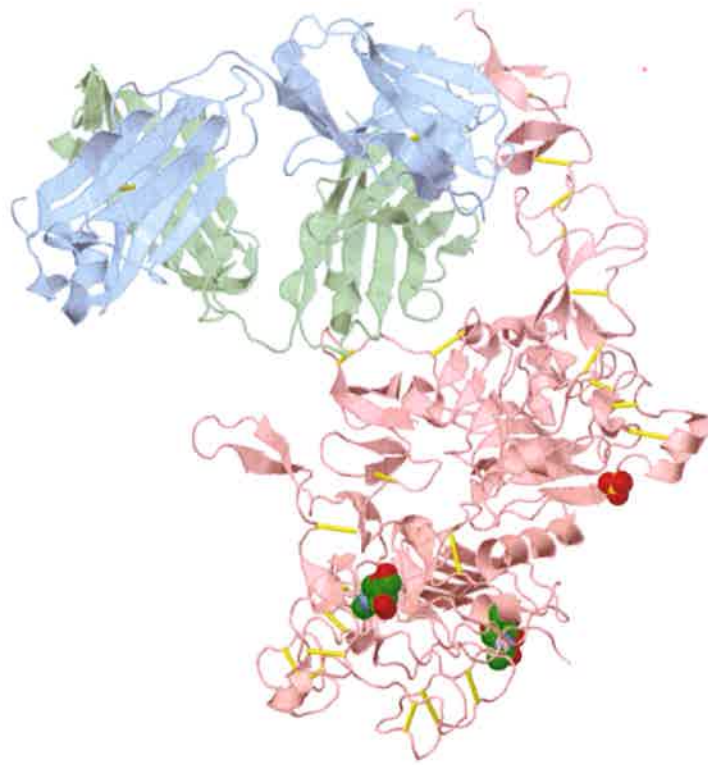


SLP: Supervivencia libre de progresión

SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms

TNM: Tumor-ganglio-metástasis

TRG: Tasa de respuesta global



## INTRODUCCIÓN



### 1. INTRODUCCIÓN

#### 1.1. EL CÁNCER DE MAMA

##### 1.1.1. Epidemiología

La incidencia global del cáncer en España en 2012 fue de 215.534 casos, con una tasa estandarizada por edad de 215,5 casos por 100.000 habitantes/año. La predicción realizada para 2015 es de 227.076 pacientes diagnosticados de cáncer. El crecimiento de nuevos casos será en mayor medida en la población  $\geq 65$  años. Este hecho puede ser debido al crecimiento de la población y su envejecimiento(1).

En España en 2012 respecto al total de población considerando ambos sexos, los 3 cánceres que presentaron una incidencia mayor fueron el cáncer colorrectal (15%), cáncer de próstata (12,9%) y cáncer de pulmón (12,4%). El Cáncer de Mama (CM) fue el cuarto con mayor incidencia (11,7%), y el tercero en mortalidad (5,9%), por detrás del cáncer de pulmón (20,6%) y del cáncer colorrectal (14,3%). Sin embargo, el CM es el que tiene una prevalencia a 5 años más alta (17,9%)(2).

El CM es el cáncer más frecuente en mujeres (29,0% de los cánceres nuevos en mujeres en 2012) y tiene la mayor incidencia, mortalidad y prevalencia a 5 años (29,0%, 15,5% y 40,8%, respectivamente)(1).

##### 1.1.2. Factores de riesgo

El principal objetivo de la búsqueda de factores etiológicos es la realización de programas de prevención primaria, los factores de riesgo se utilizan frecuentemente para identificar los grupos de alto riesgo que pueden ser candidatos a vigilancia estrecha o a intervenciones médicas profilácticas. No obstante, el 70-80% de las pacientes con CM no presentan ninguno de los factores de riesgo identificados y expuestos a continuación:

- Los factores de riesgo que se relacionan con un **riesgo elevado** de desarrollar CM (riesgo relativo 3-4 veces superior de cáncer) son(3):
  - Historia familiar: Antecedentes de CM entre familiares de primer grado del sexo femenino (madre, hijas o hermanas).
  - Cáncer de mama previo.
  - Edad: Mujeres mayores de 40 años.
  - Lesiones mamarias no neoplásicas como la hiperplasia ductal con atipia: Las mujeres con enfermedad fibroquística no tienen un mayor riesgo de CM.
  - Nuliparidad.
- Los factores de riesgo que se relacionan con un **riesgo moderado** de desarrollar CM (riesgo relativo 1.2-1.5 veces superior de cáncer) son(3):
  - Primer embarazo después de los 30 años.
  - Menarquía temprana.
  - Menopausia tardía.
  - Estrógenos orales.
  - Cáncer de colon, ovario o endometrio previos.

### 1.1.3. Signos y síntomas

La mayoría de tumores son detectados mediante los programas de cribado. Un 57% de las pacientes localizan las lesiones mamarias ellas mismas mediante autoexploración. Suelen apreciar una lesión de aproximadamente 2,5 cm y presentan afectación de ganglios linfáticos axilares en un 50%. Además de la masa o nódulo inicial los síntomas más frecuentes en mujeres que presentan síntomas son(4):

- Dolor en la mama a la palpación;
- Cambio en el tamaño de alguna de las mamas;
- Irregularidades en el contorno;

- Menor movilidad al mover una de las mamas;
- Alteraciones del pezón;
- Eccema, retracción de la piel;
- Telorragia o telorrea.

#### 1.1.4. Diagnóstico

El diagnóstico de CM se realiza mediante técnicas de imagen (mamografía, ecografía o resonancia magnética) y por el análisis del tejido afectado (diagnóstico histológico y molecular).

Posteriormente, se determina si hay afectación locorregional ganglionar y se realiza un estudio de extensión a distancia. Con los resultados obtenidos se podrá planificar cuál es el tratamiento más adecuado para el paciente.

El diagnóstico histológico se realiza mediante el análisis al microscopio de una pequeña muestra de la lesión y es uno de los factores pronósticos más importantes para determinar el tratamiento de la enfermedad(5) (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación histológica cáncer de mama de la Organización Mundial de la Salud(5).

IN SITU	INVASOR	OTROS
Ductal	Ductal	Enfermedad Paget
Lobulillar	Lobulillar	Inflamatorio
	Tubular	
	Medular	
	Mucinoso	
	Secretor	
	Papilar	
	Adenoideo	
	Quístico	
	Metaplásico	

## INTRODUCCIÓN

Tabla 1. (Continuación)

IN SITU	INVASOR	OTROS
	Apocrino	

Además de clasificar al tumor según su tipo histológico es necesario realizar un estudio de extensión que consiste en determinar cual es su crecimiento local y la diseminación regional y a distancia. Con esta información se puede estadificar a los tumores, lo que tiene una gran importancia por sus implicaciones pronósticas y terapéuticas y también facilita la elección del tratamiento adecuado(6). La clasificación TNM (tumor-ganglio-metástasis) es la más utilizada y fue desarrollada por el American JointCommitteeonCancer (AJCC)(Tabla 2)(7).

### 1.1.4.1. Tumor T

Mediante el sistema de TNM, se utiliza la "T" más una letra o un número (de 0 a 4) para describir el tamaño y la ubicación del tumor. Algunos estadios se dividen en grupos más pequeños que permiten describir el tumor con aún más detalle.

- TX: No se puede evaluar el tumor primario.
- T0: No hay evidencia de cáncer en la mama.
- Tis: Se refiere al carcinoma in situ. El cáncer se limita a los conductos o los lobulillos del tejido mamario y no se ha diseminado al tejido circundante de la mama. Hay tres tipos de carcinoma de mama in situ:
  - Tis (DCIS): El DCIS es un cáncer no invasivo, pero si no se extirpa, más adelante puede avanzar a un cáncer de mama invasivo. DCIS significa que se han encontrado células cancerosas en los conductos mamarios y que estas no se han diseminado más allá de la capa de tejido donde se originaron.

## INTRODUCCIÓN

---

- Tis (LCIS): El carcinoma lobular in situ (LCIS) describe las células anormales que se encuentran en los lobulillos o las glándulas de la mama. El LCIS no es cáncer, pero aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de mama invasivo.
- Tis (enfermedad de Paget): La enfermedad de Paget del pezón es una forma rara de cáncer de mama no invasivo en etapa temprana que se limita a las células cutáneas del pezón. En algunos casos, la enfermedad de Paget está asociada a otro cáncer de mama invasivo. Si también hay un cáncer de mama invasivo, se lo clasifica en función del estadio del tumor invasivo.
- T1: La parte invasiva del tumor en la mama mide 20 milímetros(mm) o menos en su área más ancha. Este estadio después se desglosa en tres subestadios según el tamaño del tumor:
  - T1a es un tumor que mide más de 1 mm, pero hasta 5 mm o menos.
  - T1b es un tumor que mide más de 5 mm, pero hasta 10 mm o menos.
  - T1c es un tumor que mide más de 10 mm, pero hasta 20 mm o menos.
- T2: La parte invasiva del tumor mide más de 20 mm pero menos de 50 mm.
- T3: La parte invasiva del tumor mide más de 50 mm.
- T4: El tumor se clasifica en uno de los siguientes grupos:
  - T4a significa que el tumor ha crecido hasta afectar la pared torácica.
  - T4b es un tumor que ha crecido hasta afectar la piel.
  - T4c es el cáncer que ha crecido hasta afectar la pared torácica y la piel.
  - T4d es un cáncer inflamatorio de mama (en inglés).

### 1.1.4.2. Ganglio N

La “N” en el sistema de determinación del estadio de TNM corresponde a la abreviatura de ganglios linfáticos. Los ganglios linfáticos ubicados debajo del brazo, arriba y debajo de las clavículas y debajo del esternón se denominan ganglios linfáticos regionales. Los ganglios



## INTRODUCCIÓN

---

linfáticos ubicados en otras partes del cuerpo se denominan ganglios linfáticos distantes. Si el médico evalúa los ganglios linfáticos antes de la cirugía con base en otras pruebas y/o un examen físico, se coloca una letra “c” por el estadio “clínico” delante de la “N”. Si el médico evalúa los ganglios linfáticos después de la cirugía, lo que constituye una evaluación más exacta, se agrega una letra “p” por el estadio “patológico” delante de la “N”. La información a continuación describe los estadios patológicos.

- NX: No se pueden evaluar los ganglios linfáticos.
- NO: No se encontró presencia de cáncer en los ganglios linfáticos.
- NO(i+): Cuando se encuentran áreas muy pequeñas de células tumorales “aisladas” en un ganglio linfático debajo del brazo, denominados ganglios linfáticos axilares. Este es, generalmente, de menos de 0.2 mm o menos de 200 células. En este estadio, los ganglios aún se denominan NO, pero también se coloca “i+”.
- N1mic: El cáncer en los ganglios linfáticos axilares mide más de 0.2 mm, pero menos de 2 mm y solo se puede observar con un microscopio. Esto, a menudo, es llamado micrometástasis.
- N1: El cáncer se ha diseminado a un número de uno a tres ganglios linfáticos axilares debajo del brazo y mide, al menos, 2 mm. Esto es denominado macrometástasis. Esta categoría puede incluir ganglios linfáticos mamarios internos positivos si se detectan durante un procedimiento de ganglios linfáticos centinela y no mediante otras evaluaciones clínicas. Los ganglios linfáticos mamarios internos se ubican debajo del esternón.
- N2: El cáncer en los ganglios linfáticos se clasifica en uno de los siguientes grupos:
  - N2a es el cáncer que se ha diseminado a un número de 4 a 9 ganglios linfáticos axilares o debajo del brazo.
  - N2b es el cáncer que se ha diseminado a ganglios linfáticos mamarios internos sin diseminarse a los ganglios axilares.

- N3: El cáncer se clasifica en uno de los siguientes grupos:
  - N3a es el cáncer que se ha diseminado a 10 o más ganglios linfáticos debajo del brazo o a aquellos ubicados debajo de la clavícula.
  - N3b es el cáncer que se ha diseminado a los ganglios mamarios internos y a los ganglios axilares.
  - N3c es el cáncer que se ha diseminado a los ganglios linfáticos ubicados por encima de la clavícula, denominados ganglios linfáticos supraclaviculares.

Si hay presencia de cáncer en los ganglios linfáticos, saber cuántos ganglios linfáticos están comprometidos y dónde se encuentran ayuda a los médicos a planificar el tratamiento. El patólogo puede determinar el número de ganglios linfáticos axilares que presentan cáncer después de que son extirpados durante la cirugía. Es poco frecuente que se extirpen los ganglios linfáticos supraclaviculares o mamarios internos al momento de la cirugía. Si hay presencia de cáncer en estos ganglios linfáticos, se realiza un tratamiento que no sea una cirugía, como radioterapia, quimioterapia y terapia hormonal.

### 1.1.4.3. Metástasis M

La "M" de la abreviatura del sistema de TNM indica si el cáncer se ha diseminado a otras partes del cuerpo.

- MX: No se puede evaluar la diseminación a distancia.
- M0: La enfermedad no ha hecho metástasis.
- M0 (i+): No hay evidencia clínica ni radiográfica de metástasis a distancia, pero se encuentra evidencia microscópica de células tumorales en la sangre, la médula ósea u otros ganglios linfáticos de un tamaño de hasta 0.2 mm en una paciente sin otra evidencia de metástasis.
- M1: Hay evidencia de metástasis en otra parte del cuerpo, es decir, hay células del cáncer de mama que crecen en otros órganos.

## INTRODUCCIÓN

Tabla 2. Cáncer de mama: clasificación por estadios TNM(7).

ESTADIO	T	N	M
<b>Estadio 0</b>	Tis	N0	M0
<b>Estadio IA</b>	T1*	N0	M0
<b>Estadio IB</b>	T0	N1mic	M0
	T1*	N1mic	M0
<b>Estadio IIA</b>	T0	N1**	M0
	T1*	N1**	M0
	T2	N0	M0
<b>Estadio IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>Estadio IIIA</b>	T0	N2	M0
	T1*	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1, N2	M0
<b>Estadio IIIB</b>	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
<b>Estadio IIIC</b>	Cualquier T	N3	M0
<b>Estadio IV</b>	Cualquier T	Cualquier N	M1
<b>* T1 incluido T1mic.</b>			
<b>** T0 y T1 con micro metástasis ganglionar están excluidos de estadio IIA y son clasificados como estadio IB.</b>			

### 1.1.5. Clasificación molecular del cáncer de mama.

Aunque durante muchas décadas las diferentes características del paciente y del tumor como la edad, afectación axilar, tipo histológico, expresión de receptores (hormonales y HER2), han servido para la planificación del tratamiento, no justificaban los comportamientos biológicos de la enfermedad(8).

## INTRODUCCIÓN

Una nueva clasificación surgió ante la necesidad de caracterizar a los tumores cuyos comportamientos eran similares y se definieron 4 subtipos con relevancia biológica y clínica realizando un análisis molecular: *luminal A*, *luminal B*, *basal-like*, *HER2-enriched* y *normal-like*(9)(Tabla 3). Se tuvo en cuenta la expresión de receptores hormonales (estrógenos y progestágenos) y HER2 y los tipos celulares mamarios. Estos subtipos se pueden encontrar en todos los estadios del CM(10,11)y muestran diferentes resultados a los tratamientos, y particularidades epidemiológicas.

Tabla 3. Clasificación molecular del CM.

Subtipo	Receptores hormonales	HER2/neu	KI-67
<b>Luminal A</b>	RE (+), RP (+)	Negativo	Bajo (<14%)
<b>Luminal B</b>	RE (+), RP (+)	Negativo/Baja expresión	Alto (>14%)
<b>Her2/neu positivo</b>	RE (-), RP (-)	Alta expresión	Alto
<b>Basal like (triple negativo)</b>	RE (-), RP (-)	Negativo	Alto

RE: Receptor estrógenos; RP: Receptor progesterona; Ki-67: índice de proliferación

### 1.1.6. Cáncer mama HER2-positivo

El receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) también llamado ERBB2, pertenece a la familia de los receptores de tirosina quinasa, que normalmente regulan una serie de procesos celulares incluyendo el de crecimiento del tumor y la promoción de la oncogénesis (12). El dominio extracelular de HER2 puede adoptar una conformación determinada, de modo que puede dimerizarse sin unión de ligando, en contraste con los otros miembros de la familia (HER1, HER3 y HER4) (13) induciendo y estimulando la transfosforilación y posterior activación de las vías PI3K/AKT/TOR y RAS/RAF/MEK/ERK(14). En general, en el 20% de los cánceres de mama, hay amplificación del gen HER2 y/o sobreexpresión del producto de la proteína asociado(15).

En ausencia de tratamiento, los llamados tumores HER2-positivos con ganglios afectados se asocian con una peor SG ( $p < 0.0001$ ) y un intervalo libre de enfermedad más corto ( $p = 0.0014$ )(16).

Es importante destacar que los avances en la ciencia traslacional han llevado al desarrollo de una creciente variedad de terapias que se dirigen a HER2 que se describirán a continuación. Sin embargo, a pesar de estos avances, muchos tumores en última instancia, desarrollan resistencia a estos agentes, dando lugar a disminución de la supervivencia en estos pacientes(17).

### **1.1.7. Tratamiento del cáncer de mama HER2-positivo**

El objetivo del tratamiento del CM será distinto en función del estadio del que se trate. Mientras que en estadios iniciales se intentará lograr la curación de la enfermedad, en el cáncer avanzado y metastásico el objetivo del tratamiento es crónico o paliativo en función de la afectación.

En el tratamiento del CM cabe distinguir entre el tratamiento locorregional (cirugía y radioterapia (RT)) y el tratamiento farmacológico sistémico (quimioterapia, hormonoterapia y terapia dirigida).

El tratamiento del CM HER2-positivo se detalla a continuación según los estadios de la enfermedad.

#### **1.1.7.1. TRATAMIENTO EN ESTADIOS INICIALES**

##### **1.1.7.1.1. Cirugía**

La cirugía está indicada en estadios iniciales o en el caso de recidiva local cuando se ha realizado previamente una cirugía conservadora o una mastectomía previa. El vaciamiento axilar dependerá de si la axila es clínica y ecográficamente positiva y según el resultado de la biopsia del ganglio centinela(

Figura 1).

### 1.1.7.1.2. Tratamiento sistémico adyuvante.

#### Ganglios axilares negativos

TAMAÑO < 1 cm: No está indicado tratamiento adyuvante aunque en casos especiales se puede discutir con la paciente los riesgos y beneficios de tratamiento.

TAMAÑO 1-2 cm:

Perfil RE+ y/o RP+: Se debe diferenciar entre pacientes mayores o menores de 70 años. En las mujeres menores de 70 años está indicado tratamiento con hormonoterapia adyuvante (

- Tabla 4) más quimioterapia (Tabla 5) seguida de trastuzumab. En pacientes mayores de 70 años el tratamiento será con hormonoterapia y según las comorbilidades y el estado general se añadirá quimioterapia seguida de trastuzumab.
- Perfil RE- RP-: Quimioterapia y trastuzumab adyuvantes (Tabla 5).

TAMAÑO ≥ 2 CM:

- Perfil RE- RP- : Quimioterapia seguida de trastuzumab adyuvante (Tabla 5).

Perfil RE+ y/o RP+: Quimioterapia seguida de trastuzumab y hormonoterapia adyuvante (

- Tabla 4 y Tabla 5).

#### Ganglios axilares con enfermedad micrometastásica

Se seguirá el mismo tratamiento que para las pacientes con ganglios axilares positivos.

#### Ganglios axilares positivos

- Perfil RE- RP- : Quimioterapia seguida de trastuzumab adyuvante (Tabla 5).

Perfil RE+ y/o RP+: Quimioterapia seguida de trastuzumab y hormonoterapia adyuvantes (

- Tabla 4 y Tabla 5).

### 1.1.7.2. TRATAMIENTO NEOADYUVANTE

El tratamiento neoadyuvante está indicado en tumores no localmente avanzados en los que no hay posibilidad de cirugía conservadora debido a la relación tamaño tumoral/mamario de la mama o bien en los tumores localmente avanzados cuando hay afectación cutánea, de la pared torácica o adenopatías axilares fijas (T4, N2). La radioterapia sistémica está indicada en con una serie de condiciones como tamaño, número de ganglios axilares afectados, presencia de enfermedad residual tras cirugía, etc (Figura 2).

#### Edad ≤ 70 años

- Perfil RE- RP- : Quimioterapia + trastuzumab seguida de cirugía. Radioterapia + trastuzumab adyuvante (Tabla 5).

Perfil RE+ y/o RP+ : Quimioterapia con trastuzumab seguida de cirugía, radioterapia, trastuzumab y hormonoterapia adyuvante(

- Tabla 4 y Tabla 5).

Edad ≥ 70 años: Se debe valorar la indicación según el estado general y comorbilidades de los pacientes.

- Perfil RE- RP-: Valorar cirugía higiénica.
- Perfil RE+ o RP+: Letrozol durante 4 meses previo a la cirugía.

### 1.1.7.3. TRATAMIENTO RECIDIVA LOCAL

En caso de haber realizado una cirugía conservadora previa, se realizará una mastectomía y se reirradiará en casos puntuales. Si la cirugía que se ha realizado es una mastectomía previa, se realizará exéresis y radioterapia.

En cuanto al tratamiento sistémico:

- Perfil RE- RP- : Quimioterapia + trastuzumab durante un año (si la resección ha sido completa tras cirugía o hasta progresión si hay enfermedad residual tras cirugía (Tabla 5) (Figura 2).

Perfil RE+ y/o RP+ : Se debe valorar quimioterapia (en pacientes con tumores grado 3 o cambios en el perfil biológico o baja positividad RE/RP. Hormonoterapia durante 5 años con trastuzumab durante un año (si la resección ha sido completa tras cirugía o hasta progresión si hay enfermedad residual tras cirugía (

- Tabla 4 y Tabla 5) (Figura 2).

### 1.1.7.4. TRATAMIENTO ENFERMEDAD AVANZADA

- Perfil RE- RP- :
  - o Criterios de no hormonodependencia o enfermedad visceral agresiva, es decir, linfangitis pulmonar o metastásis hepáticas con afectación >30% del parénquima o metastásis sistema nervioso central o enfermedad rápidamente progresiva o ILE < 24 meses: Quimioterapia (Tabla 7) + tratamiento biológico hasta progresión.
  - o Criterios de hormonodependencia o sin enfermedad visceral agresiva, es decir, metastásis óseas o metastásis ganglionares/partes blandas o ILE ≥ 24 meses: Valorar biopsia de la lesión metastásica. Si no se realiza biopsia o confirmación del perfil inmunohistoquímico inicial: Quimioterapia (Tabla 7) + tratamiento biológico hasta progresión. Si hay metastásis óseas: ácido zoledrónico (Figura 2).
- Perfil RE+ y/o RP+ :
  - o Criterios de no hormonodependencia o enfermedad visceral agresiva, es decir, linfangitis pulmonar o metastásis hepáticas con afectación >30% del parénquima o metastásis sistema nervioso central o enfermedad rápidamente progresiva o ILE < 24 meses:



## INTRODUCCIÓN

Quimioterapia (Tabla 7) + tratamiento biológico + hormonoterapia hasta progresión (Tabla 6) (Figura 2).

- o Criterios de hormonodependencia o sin enfermedad visceral agresiva, es decir, metástasis óseas o metástasis ganglionares/partes blandas o ILE  $\geq$  24 meses: Hormonoterapia + tratamiento biológico hasta progresión (Tabla 6 y Tabla 7). Si hay metástasis óseas: ácido zoledrónico.

Figura 1. Algoritmo de tratamiento del CM HER2-positivo estadios I-IV y recidiva local.

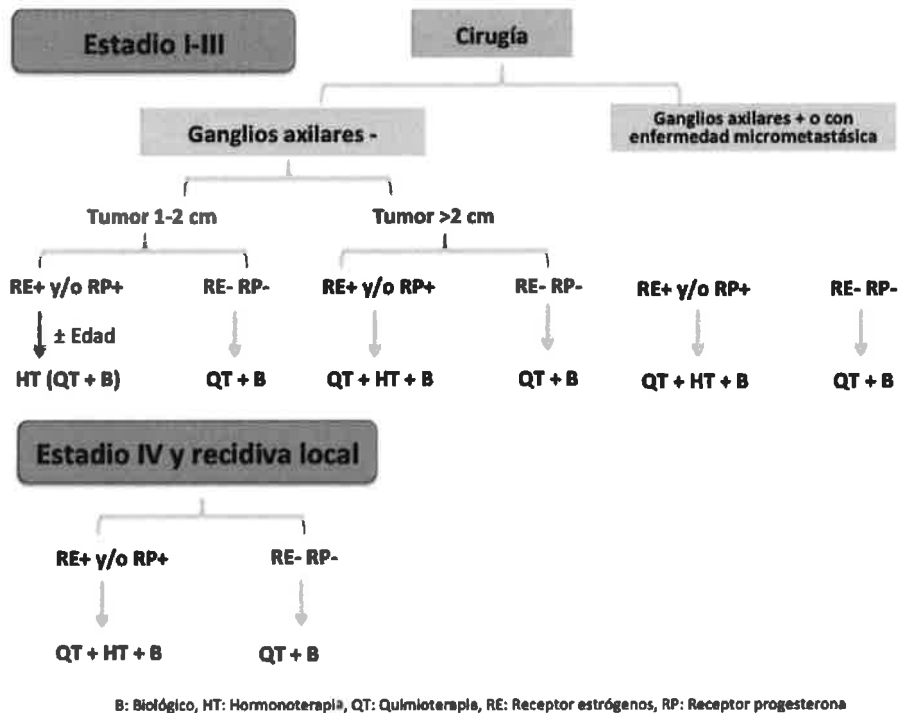
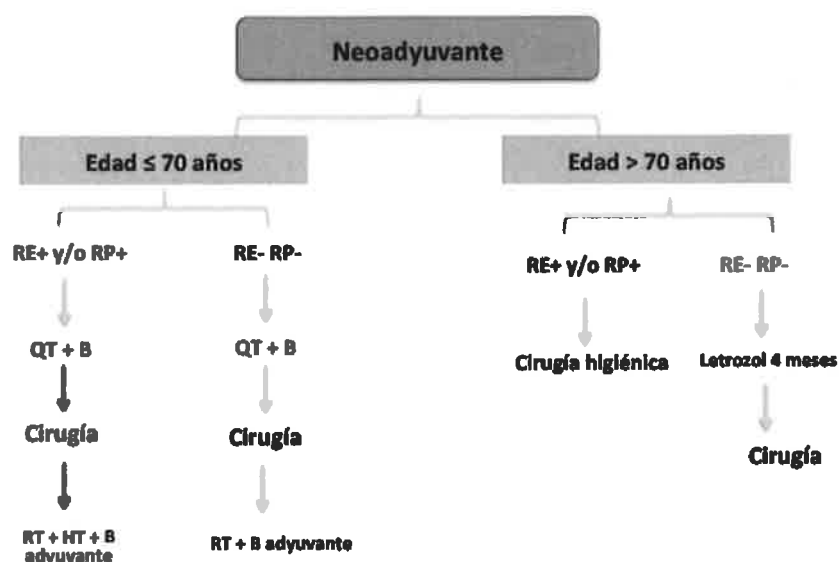


Figura 2. Algoritmo de tratamiento neoadyuvante del CM HER2-positivo.



B: Biológico, HT: Hormonoterapia, QT: Quimioterapia, RE: Receptor estrógenos, RP: Receptor progesterona, RT: Radioterapia

Tabla 4. Hormonoterapia del cáncer de mama en enfermedad temprana.

<p><b>Premenopáusicas ≤ 40 años.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Goserelina: 3,6 mg/28 días o 10,8 mg/84 días durante 2 años (omitir si amenorrea con QT)</li> <li>+</li> <li>- Tamoxifeno 20 mg/días durante 5 años.</li> </ul>
<p><b>Premenopáusicas &gt; 40 años</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tamoxifeno 20 mg/días durante 5 años.</li> </ul>
<p><b>Postmenopáusicas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tamoxifeno 20 mg/días durante 2-3 años seguido de Exemestano 25 mg/día durante 2-3 años</li> </ul>

INTRODUCCIÓN

Tabla 5. Quimioterapia y tratamientos biológicos enfermedad temprana.

ADYUVANCIA GANGLIOS NEGATIVOS HER2+					
ESQUEMA	FÁRMACOS	DOSIS (mg/m <sup>2</sup> )	DÍAS	FRECUENCIA	Nº CICLOS
AC seguido de trastuzumab	Adriamicina	60	1	Cada 21 días	4
	Ciclofosfamida	600	1		
	trastuzumab	8→6 mg/kg	1		18
TC con trastuzumab	Docetaxel	75	1	Cada 21 días	4
	Ciclofosfamida	600	1		
	trastuzumab	8→6 mg/kg	1		18
FEC seguido de trastuzumab	Fluorouracilo	600	1	Cada 21 días	6
	Epirrubicina	75-90	1		
	Ciclofosfamida	600	1		
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1	Cada 21 días	18
ADYUVANCIA GANGLIOS POSITIVOS HER2+ Y NEOADYUVANCIA HER2+					
AC→docetaxel con trastuzumab	Adriamicina	60	1 (ciclos 1-4)	Cada 21 días	8
	Ciclofosfamida	600	1 (ciclos 1-4)		
	Docetaxel	100	1 (ciclos 5-8)		18
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1(ciclos 5-18)		
AC→taxol con trastuzumab	Adriamicina	60	1 (ciclos 1-4)	Cada 21 días	8
	Ciclofosfamida	600	1 (ciclos 1-4)		
	Taxol	80	1,8,15 (ciclos 5-8)		
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1(ciclos 5-18)		18

INTRODUCCIÓN

Tabla 6. Hormonoterapia del cáncer de mama en enfermedad avanzada.

PREMENOPÁUSICAS	
<b>PRIMERA LÍNEA</b>	Tamoxifeno 20 mg/día + Goserelina: 3,6 mg/28 días o 10,8 mg/84 días
<b>SIGUIENTES LÍNEAS</b>	Acetato de megestrol 160 mg/ día
	Anastrozol 1mg/día + Goserelina 3.6 mg/28 días o 10,8 mg/84 días
	Exemestano 25 mg + Goserelina 3.6 mg/28 días o 10,8 mg/84 días
	Letrozol 2.5 mg/día + Goserelina 3.6 mg/28 días o 10,8 mg/84 días
POSTMENOPÁUSICAS	
<b>PRIMERA LÍNEA</b>	Anastrozol 1mg/día
	Exemestano 25 mg/día
	Letrozol 2.5 mg/día
	Tamoxifeno 20 mg/día
<b>SIGUIENTES LÍNEAS</b>	Acetato de megestrol 160 mg/ día
	Anastrozol 1mg/día
	Exemestano 25 mg/día
	Fulvestrant 500 mg/28 días con dosis adicional a los 14 días de la 1ª dosis
	Letrozol 2.5 mg/día

Tabla 7. Quimioterapia y tratamientos biológicos enfermedad avanzada.

ESQUEMA	FÁRMACOS	DOSIS (mg/m2)	DÍAS	FRECUENCIA	Nº CICLOS
<b>PACIENTES HER2+</b>					
<b>PRIMERA LÍNEA</b>					
Adriamicina→docetaxel con trastuzumab	Adriamicina	75	1 (ciclos 1-3 o 1-2)	Cada 21 días	6  BC/T
	Docetaxel	75	1 (ciclos 4-6 o 3-6)		
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1 (ciclos ≥3-4)		
Docetaxel-trastuzumab-pertuzumab	Docetaxel	75	1	Cada 21 días	4  18
	Pertuzumab	840→420mg	1		
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1		
Docetaxel-trastuzumab	Docetaxel	75	1	Cada 21 días	6-8 BC/T
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1		
Taxol-trastuzumab	Taxol	80-90	1,8,15	Cada 21-28	BC/T
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1,8,15,21	Cada 28 días	

## INTRODUCCIÓN

Tabla 7. (Continuación).

ESQUEMA	FÁRMACOS	DOSIS (mg/m <sup>2</sup> )	DÍAS	FRECUENCIA	Nº CICLOS
<b>PACIENTES HER2+</b>					
<b>SIGUIENTES LÍNEAS (continuación)</b>					
Trastuzumab- emtansina	Trastuzumab- emtansina	3,6 mg/kg	1	Cada 21 días	BC/T
Capecitabina- lapatinib	Capecitabina	2000	1-14	Cada 21 días	BC/T
	Lapatinib	1250 mg/día	continuo		
Vinorelbina- trastuzumab	Vinorelbina	25	1,8	Cada 21 días	BC/T
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1		
Capecitabina- trastuzumab	Capecitabina	2000-2500	1-14	Cada 21 días	BC/T
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1		
Taxol- carboplatino- trastuzumab	Taxol	80	1,8,15	Cada 28 días	BC/T
	Carboplatino	AUC 2	1,8,15		
	Trastuzumab	4→2 mg/kg	1,8,15,21		
Taxol-myocet- trastuzumab	Taxol	80	1,8	Cada 21 días	BC/T
	Myocet	50	1		
	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1		
Trastuzumab- lapatinib	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1	Cada 21 días	BC/T
	Lapatinib	1000 mg/día	continuo		
trastuzumab	Trastuzumab	8→6 mg/kg	1	Cada 21 días	BC/T
Eribulina	Eribulina	1,23 mg/m <sup>2</sup>	1,8	Cada 21 días	BC/T

### 1.1.8. Respuesta a fármacos y variabilidad interindividual

La variabilidad individual en la respuesta a los fármacos dificulta predecir cuál va a ser la respuesta de un paciente concreto a un fármaco oncológico determinado. Se ha demostrado que dosis efectivas no producen los mismos efectos en unos pacientes y en otros teniendo las mismas características y diagnóstico. La oscilación en las tasas de efectividad en los tratamientos oncológicos varían entre un 25 – 30%, por lo que hay un margen de mejora(18).

#### 1.1.8.1. Resultados clínicos a esquemas con trastuzumab.

Trastuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado IgG1 contra el receptor HER2(19). Trastuzumab se une con una alta afinidad y especificidad al subdominio IV, una región yuxtamembrana del dominio extracelular de HER2. La unión de trastuzumab a HER2 inhibe la vía de señalización de HER2 independiente del ligando y previene la división proteolítica de su dominio extracelular, un mecanismo de activación de HER2. Trastuzumab ha demostrado,

## INTRODUCCIÓN

---

tanto en ensayos in vitro como en animales, inhibir la proliferación de células humanas tumorales que sobreexpresan HER2 (20).

Aunque los mecanismos exactos de acción no han sido determinados, se cree que incluyen la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo, 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 los efectos antiangiogénicos(21), (22).

En los primeros estudios, trastuzumab demostró una actividad relativamente modesta como agente único, incluyendo una tasa de respuesta global (TRG) de hasta un 26% en primera línea de tratamiento del cáncer de mama metastásico (CMM)(23), (24), (19). Sin embargo, en un estudio pivotal fase III randomizado de 469 mujeres con CMM HER2-positivo, la combinación de trastuzumab y quimioterapia se asoció con una mayor tasa de respuesta (hasta 50%) (17). Fundamentalmente, la adición de trastuzumab a una primera línea de quimioterapia en pacientes con CM HER2-positivo con estadios tempranos con antraciclinas o paclitaxel dio lugar a una prolongación significativa del tiempo hasta la progresión (4.6 vs 7.4 meses,  $p < 0.001$ ) y la supervivencia global (SG: 20.1 vs 25.1 meses,  $p = 0.046$ )(25).

Posteriormente, la actividad de trastuzumab (TRG: 20-68%) se ha confirmado en varios estudios fase II en combinación con los agentes quimioterapéuticos docetaxel, capecitabina, gemcitabina, vinorelbina y agentes de platino (26), (27), (28). Los datos de series institucionales que comparan los resultados de las mujeres tratadas en las etapas pre y post-trastuzumab indican que este agente ha cambiado realmente la historia natural del cáncer de mama HER2-positivo (29). En un estudio de 291 pacientes con CMM, el haber recibido trastuzumab en el grupo de pacientes con CM HER2-positivo se asoció con una reducción del 44% en el riesgo de muerte comparado con las mujeres con CM HER2-negativo(29).

En el CM en fase inicial, la adición de trastuzumab a la quimioterapia neoadyuvante mejora sustancialmente la SG y reduce el riesgo de recurrencia en un 33% (30). Del mismo modo, trastuzumab en adyuvancia mejora sustancialmente la supervivencia libre de enfermedad

(SLE) en un 38% y la SG en un 34% y reduce sustancialmente el riesgo de recurrencia local y a distancia en un 42% y 40%, respectivamente (31).

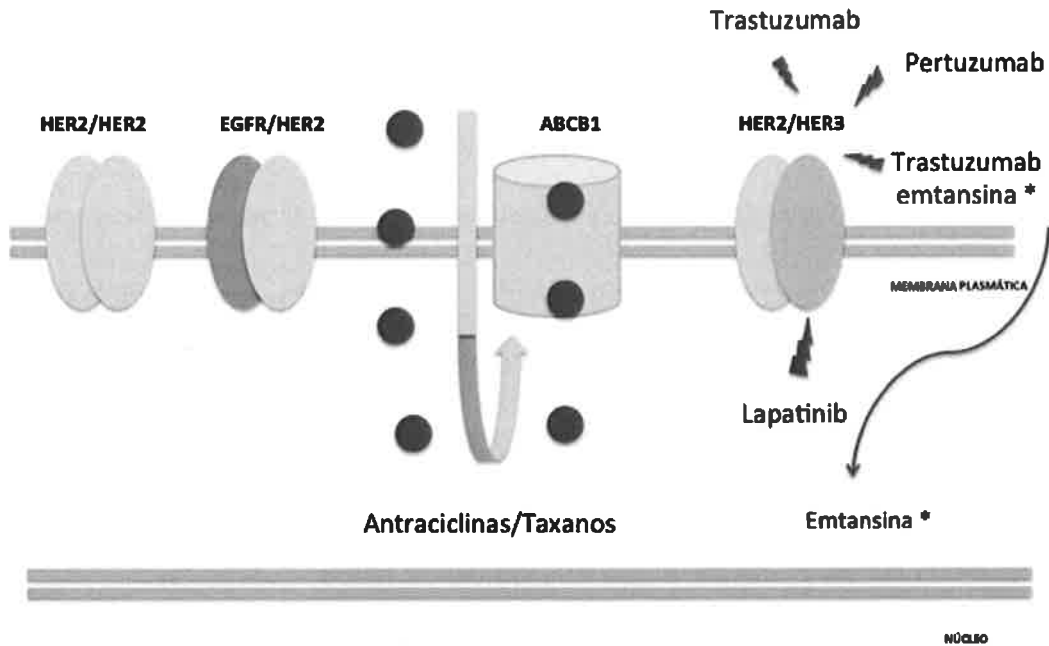
### 1.1.8.2. Farmacogenética a esquemas con trastuzumab

Los resultados clínicos obtenidos tras las terapias dirigidas contra el CM HER2-positivo siguen siendo un reto en el manejo actual de estos pacientes. Se han propuesto muchos mecanismos moleculares como posibles causas de dicha falta de efectividad de los tratamientos. Entre ellos, biomarcadores no invasivos, como los polimorfismos genéticos en HER2(32), en la apoptosis y en la maquinaria del ciclo celular (CCND1) (33) y en bombas de expulsión de fármacos como ABCB1 (34) se han propuesto como predictores potenciales de resultados clínicos a esquemas de quimioterapia con trastuzumab(35,36).

#### 1.1.8.2.1. ABCB1

El gen adenosina trifosfato (ATP) binding cassette (ABC), (ABCB1) codifica la P-glicoproteína, una bomba de eflujo para algunos agentes antineoplásicos (antraciclinas, taxanos o tamoxifeno) que actúa como un mecanismo de resistencia a la quimioterapia (Figura 3)(37,38). Los polimorfismos de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphisms(SNPs)) más ampliamente estudiados de ABCB1 son tres, denominados C1236T (rs1128503), C3435T (rs1045642) y G2677T/A (rs2032582) (39).

Figura 3. Funcionamiento de las bombas de expulsión de fármacos (ABCB1).



#### 1.1.8.2.2. C3435T

La asociación del polimorfismo del gen ABCB1-C3435T con los resultados del tratamiento (respuesta, supervivencia libre de progresión (SLP), SG) en pacientes con CM tratados con quimioterapia neoadyuvante sigue siendo controvertida. Aunque en un metaanálisis publicado en 2012, incluyendo 7 estudios que abarcaban 464 pacientes, no se encontró una influencia del polimorfismo del gen ABCB1-C3435T en la respuesta al tratamiento en pacientes con CM(40), estudios más recientes han mostrado una asociación del polimorfismo genético ABCB1-C3435T con la respuesta al tratamiento, aunque difieren en el efecto positivo del alelo T en la respuesta (41,42). En 148 pacientes con CM tratadas con quimioterapia neoadyuvante el alelo T de ABCB1 C3435T presentó mayor respuesta (alelo T vs CC: 43.4% vs 23.8%; OR:2.695; p=0.02) (41) mientras que en 153 pacientes con CM y tratadas también con quimioterapia neoadyuvante el alelo C se asoció con mayor respuesta (alelo C vs TT: 33.3 vs 71.2%; p=0.001).

Un metaanálisis posterior que incluía 8 estudios (608 casos) no encontró una asociación entre la respuesta al tratamiento y el modelo dominante (CT + TT vs CC) del polimorfismo ABCB1-



C3435T (OR: 1.13; IC 95%: 0.58-0.37;  $p = 0.71$ )(43). Recientemente se ha publicado un estudio de 100 casos/200 controles en pacientes kurdas con CM en el que tampoco se encontró asociación (44).

El genotipo CC de ABCB1C3435T se ha asociado a una SG más corta en pacientes con CM/CMM tratados con quimioterapia neoadyuvante/adyuvante (45,46) y peor supervivencia libre de progresión (SLP) en pacientes con CM/CMM después de quimioterapia basada en antraciclina(41), aunque estos efectos sólo se observaron en pacientes con genotipo TC o no fue confirmado en todos los estudios (46).

Este efecto fue particularmente aumentado en los pacientes que portaban el haplotipo 3435T-1236T-2677T (63.6% vs 20% OR: 8.064; IC95%: 1.085-58.823;  $p = 0.041$ ) (41).

Los haplotipos ABCB1 3435T-1236T y 3435T-1236T-2677T mostraron también una menor respuesta (59.8% vs 82.9%,  $p = 0.011$  y 58% vs 77.4%,  $p = 0.019$ , respectivamente).

### 1.1.8.2.3. 1236C>T

En 100 pacientes con CM tratadas con quimioterapia neoadyuvante las portadoras del alelo T del polimorfismo ABCB1 1236C>T mostraron asociación con peor respuesta (T-alelo vs CC: 58.3% vs 85%; OR<sub>no-respondedores/respondedores</sub>: 4.63;  $p=0.021$ ) y posteriormente fue confirmado en otros estudios (43,47,48).

Sin embargo, un metaanálisis realizado en 2013 por estos autores, que incluyó 3 estudios (373 pacientes), no encontró asociación entre el modelo dominante de ABCB1-C1236T, pero sí una tendencia a la respuesta al tratamiento (OR:1.77; IC 95%: 1.01-3.1;  $p = 0.05$ ) (43). Una cohorte de 57 pacientes con CMM HER2-positivo también mostró una SLP más larga(34). No obstante, no se mostraron diferencias en SLP o SG en pacientes con CM tratados con quimioterapia neoadyuvante basada en antraciclina(41).

### 1.1.8.2.4. 2677 G>T/A

No se encontró ninguna asociación entre el polimorfismo 2677 G>T/A y la respuesta, SLPySG en pacientes que habían recibido esquemas basados en antraciclinas, como lo demuestra un metaanálisis que abarca 464 pacientes (40) y varios estudios posteriores (41,43,47,49), aunque una SG significativamente más corta se observó en pacientes con CM HER2-negativos portadores del genotipo ABCB1 G2677T-GG (41). En 324 pacientes con CM (61,5% con receptor HER2+) tratadas con el esquema fluorouracilo-doxorubicina-ciclofosfamida, se observó que las pacientes con genotipos del polimorfismo ABCB1-2677 G>T/A (GG+GT+GA versus TT+TA) presentaron una mayor resistencia al tratamiento. En el análisis multivariante: OR 3.19; IC 95%: 0.98 - 10.39; p=0.053(50).

### 1.1.8.2.5. CCND1

El polimorfismo más estudiado en pacientes con CM del gen CCND1 es la sustitución sinónima de una prolina en la posición 241 (rs9344). Esta transición de una guanina a una adenina en la posición 870 del exón 4 produce un aumento en la expresión CCND1(51) (Figura 4). El genotipo CCND1 rs9344-AA se asoció con mayor supervivencia en pacientes con CM(52,53). El efecto beneficioso del alelo A también se ha confirmado en el subconjunto de pacientes con CM HER2 positivos, mostrando una mayor tasa de respuesta y más tiempo hasta la progresión (54).

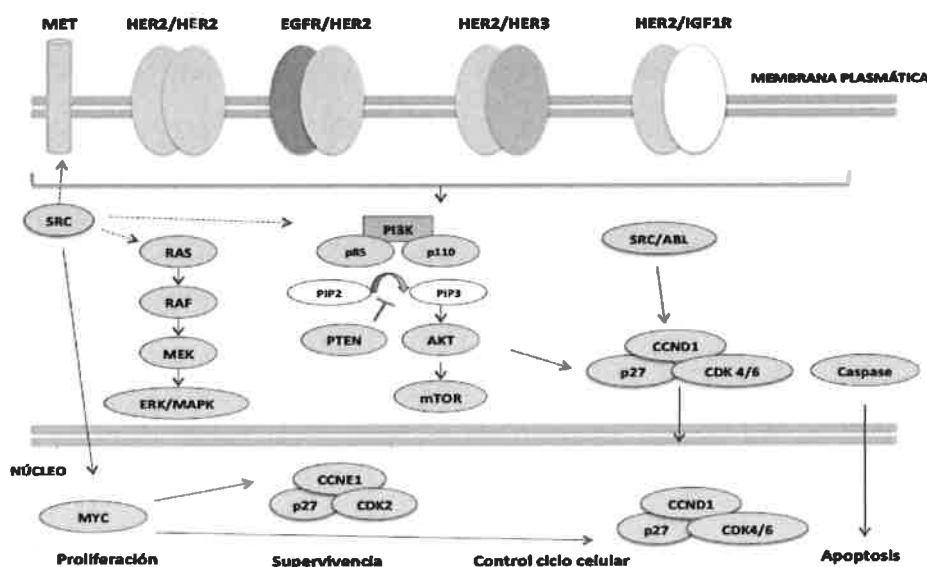
Figura 4. Alteraciones genéticas implicadas en los resultados clínicos a esquemas con trastuzumab.

1.1.9.HER2

Las mutaciones de HER2 se han observado casi exclusivamente en pacientes sin amplificación del gen HER2(55). Sin embargo, se ha propuesto que pueden aparecer en la primera línea de tratamiento en pacientes con CM HER2 positivos (56). La funcionalidad de la proteína HER2 puede ser alterada por el polimorfismo Ile655Val, ya que el alelo Val aumenta y el alelo Ile disminuye la actividad quinasa(57,58). Este polimorfismo ha sido asociado a riesgo de CM, aunque no sin cierta controversia(59-61). Hasta la fecha, sólo un estudio ha investigado la asociación entre el polimorfismo HER2-Ile655Val y los resultados clínicos de los esquemas de trastuzumab en pacientes con CM HER2 positivo. Las variantes de Val presentaron peor SLE y SLE a distancia en pacientes con CM tratados con terapia adyuvante y/o endocrina sin trastuzumab, pero mejor SLE y SLE a distancia cuando se añadió trastuzumab a la quimioterapia (32).

1.1.9.1. Otras alteraciones genéticas

La resistencia a las terapias dirigidas contra HER2 sigue siendo un reto para el manejo real de pacientes con CM y requiere más que un simple análisis de algunos biomarcadores debido a la gran



cantidad de alteraciones relacionadas con las vías de señalización que conducen a este tipo de cáncer. La activación de vías alternativas se ha propuesto como una posible causa de resistencia.

Algunos mecanismos moleculares se han propuesto para ser responsables de la resistencia a esquemas de trastuzumab, como la heterodimerización entre HER2 y otros receptores HER (EGFR, HER3, and HER4)(62), el aumento de la expresión de ligandos del receptor HER y receptores no HER (63,64), o la señalización a través de la familia SRC quinasa (65). GRB7, incluido en el amplicón 17q12, se ha asociado a un mal pronóstico en pacientes con CM. La expresión GRB7 se ha asociado a peor SG, y la sobreexpresión de EGFR puede determinar el uso de lapatinib como una alternativa al trastuzumab. Algunos biomarcadores recientemente investigados como EPHAR, SRC y NRG1 han demostrado relevancia clínica y valor pronóstico en pacientes con CM HER2 positivo(36). Los biomarcadores no invasivos, como los polimorfismos del gen MACC1 y los niveles séricos elevados de IGF1, pueden constituir biomarcadores interesantes para ser considerados como predictores de los resultados clínicos de esquemas con trastuzumab en pacientes con CM. Para otros biomarcadores, el valor pronóstico puede ser sólo en subconjuntos determinados de pacientes, como IGFR1 para las diferentes modalidades de tratamiento(36).

Otros mecanismos como la potenciación de la vía de señalización fosfoinositol-3-kinasa (PI3K) puede ocurrir por la activación del receptor HER2 o bien por la activación de otros receptores diferentes de su familia, como IGF1R y MET (

Figura 4). La sobreexpresión de IGF1R puede aumentar los niveles del heterodímero IGF1R/HER2, activando la vía PI3K/AKT, y produciendo resistencia a esquemas con trastuzumab en pacientes con CM (66,67) (

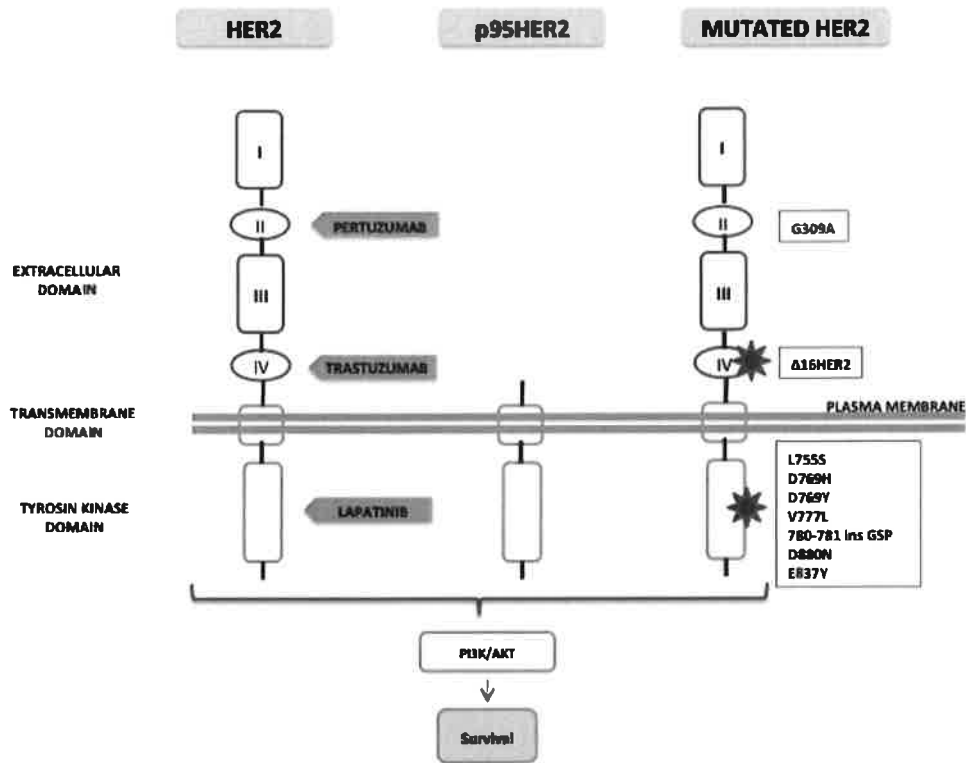
Figura 4). La activación de MET por su ligando, el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) o por la amplificación del gen, es capaz de interactuar con HER3, produciendo la activación de la señalización a través de la vía PI3K y causar resistencia a los inhibidores de EGFR y HER2

(68,69). Sin embargo, el valor pronóstico de HER3 o IGF1R, no puede establecerse completamente, ya que los resultados no han sido concluyentes. Se ha demostrado que otros receptores, como los receptores EphA2 y EPO, están sobreexpresados en pacientes con CM HER2-positivos, lo que potencialmente confiere resistencia a esquemas de trastuzumab(68,70,71).

Se han estudiado otras alteraciones en los diferentes mecanismos implicados en la resistencia a las terapias anti-HER2 que implican la molécula HER2 y sus vías de señalización.

Se han propuesto modificaciones en la molécula HER2, tales como mutaciones o sobreexpresión de la forma truncada p95HER2, responsables de la resistencia a las terapias anti-HER2(Figura 5). Una altaexpresión de p95HER2 se ha asociado a una peor respuesta a esquemas de trastuzumab en 19 pacientes con CMM HER2-positivo(72). Nuevas mutaciones en HER2 se han identificado en las metástasis en otro lugar de aparición al del tumor después del tratamiento a pacientes con terapias anti-HER2 y podrían participar en el proceso de resistencia adquirida a estos fármacos (73,74).

Figura 5. Mecanismos de resistencia a HER2 que implican modificaciones en el receptor.



Se han explorado las modificaciones en los componentes de la vía de señalización HER2, tales como PIK3CA, PTEN, AKT1, pero su valor pronóstico aún no se ha demostrado, como se ha analizado previamente (56).

Múltiples moléculas están implicadas en la apoptosis y el control del ciclo celular (CDKN1B, CCNE1, CCND1, CDC25A, MYC, BCL2L11, BIRC5 y CAPN1). La sobre-expresión de CDC25A se ha asociado a una reducción de la SG ( $p = 0.045$ ) y SLP ( $p = 0.032$ ) en 313 pacientes con CM(75).

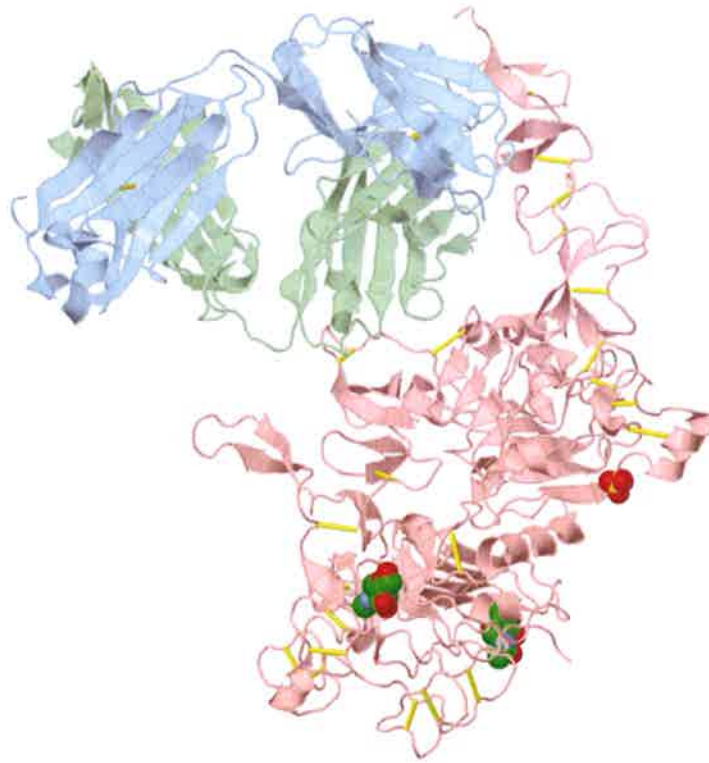
Se han estudiado otros biomarcadores no invasivos, como los polimorfismos génicos FCGR2A-H131R y FCGR3A-F158V, pero el valor pronóstico de estas alteraciones se ha podido demostrar sólo en pacientes de raza negra y japoneses (76,77).

En resumen, los polimorfismos de los genes ABCB1, CCND1 y HER2 no están definitivamente o consistentemente establecidos como buenos biomarcadores para predecir la resistencia a los esquemas de trastuzumab en los pacientes con CM HER2 positivo. De hecho, la mayoría de los

## INTRODUCCIÓN

---

estudios se realizaron en toda la población conCM pero no se enfocaron en este subgrupo de pacientes con patología más agresiva.



## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS





### 2. HIPÓTESIS

“La identificación de marcadores genéticos en pacientes con cáncer de mama HER2-positivo permite predecir los resultados clínicos al tratamiento con esquemas de trastuzumab”.

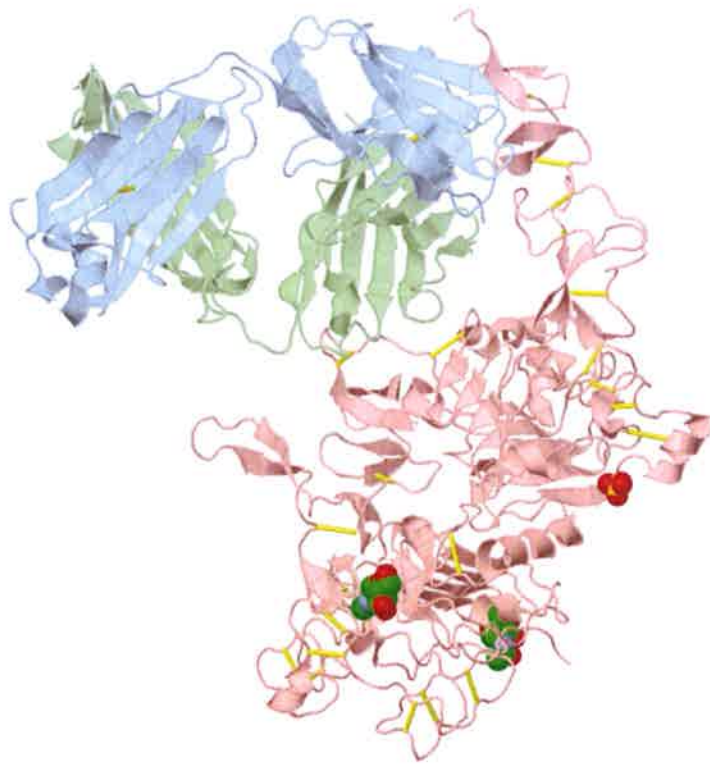
### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo General

Evaluar la influencia de polimorfismos genéticos ABCB1-C3435T (rs1045642), ABCB1-C1236T (rs1128503), CCND1-A870G (rs9344), HER2-Ile655Val (rs93441) como factores pronósticos y predictivos a esquemas con trastuzumab en pacientes diagnosticados con CM HER2 positivo.

#### 3.2. Objetivos Específicos

1. Evaluar la presencia de los polimorfismos ABCB1-C3435T (rs1045642), ABCB1-C1236T (rs1128503), CCND1-A870G (rs9344), HER2-Ile655Val (rs93441) potencialmente implicadas en los resultados clínicos a esquemas con trastuzumab en pacientes con CM HER2-positivo.
2. Evaluar la respuesta, resistencia, progresión, exitus, SLP y SGen pacientes con CM HER2 positivo tratados con esquemas con trastuzumab.
3. Evaluar la asociación de los polimorfismos ABCB1-C3435T (rs1045642), ABCB1-C1236T (rs1128503), CCND1-A870G (rs9344), HER2-Ile655Val (rs93441) con los resultados clínicos a esquemas con trastuzumab en pacientes con CM HER2-positivo.
4. Estimar una asociación más precisa de la asociación de la respuesta a esquemas con trastuzumab y los polimorfismos ABCB1-C3435T (rs1045642) y ABCB1-C1236T (rs1128503) en pacientes con CM a través de la evaluación de los resultados de varios estudios mediante metaanálisis.



## MATERIAL Y MÉTODOS



## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1. PARTE 1

#### 4.1.1. Diseño del estudio

Se realizó un estudio retrospectivo de cohortes.

#### 4.1.2. Declaración ética

El estudio fue aprobado por el Comité de Investigación Ética del Complejo Hospitalario Universitario de Granada (CHUG) y se realizó conforme a la declaración de Helsinki. Las muestras se obtuvieron del Biobanco del Hospital Universitario Virgen de las Nieves (Expediente número # 37130103)(Anexo 1). La identificación de las muestras se basó en códigos no relacionados con la identidad de las pacientes.

#### 4.1.3. Población diana o de referencia

Pacientes con CM HER2 positivo tratadas con esquemas de trastuzumab.

#### 4.1.4. Alcance geográfico y temporal

Se incluyeron en el estudio mujeres con CM HER2 positivo,(considerando la positividad una puntuación de 3+ mediante inmunohistoquímica o 2+ mediante hibridación fluorescente in situ (FISH)), tratadas con esquemas de trastuzumab entre enero de 1998 y octubre 2010 en el CHUG, con un período de seguimiento mínimo de 5 años después del diagnóstico.

#### 4.1.5. Criterios de inclusión:

- Edad  $\geq 18$  años.
- Sexo femenino.
- Diagnóstico de CM HER2-positivo por las técnicas de Herceptest o FISH.
- Haber recibido tratamiento con esquemas de trastuzumab.
- Período de seguimiento mínimo de 5 años después del diagnóstico.

### 4.1.6. Criterios de exclusión:

- No disponibilidad de muestra de tejido por haberse realizado el diagnóstico y posterior análisis en otro centro.
- Historia clínica no disponible para realizar el seguimiento.
- Hipersensibilidad al trastuzumab, a las proteínas murinas o a cualquiera de los excipientes contenidos en la forma farmacéuticas de dicho fármaco.
- Metástasis/neoplasia primaria de otro origen.
- Disnea grave en reposo debida a complicaciones de su enfermedad maligna avanzada o que requieran terapia suplementaria con oxígeno.

### 4.1.7. Variables

#### 4.1.7.1. Variables dependientes

##### 5.1.7.1.1. Supervivencia

La supervivencia se evaluó mediante SG y SLP, que se midieron de la siguiente forma:

- Progresión: variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- SLP: se calculó como el tiempo desde el diagnóstico del cáncer hasta la recaída, la muerte o el último seguimiento conocido.
- Exitus: variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- SG se midió desde el tiempo desde el diagnóstico del cáncer hasta la fecha del último seguimiento o la muerte.

Los datos relacionados con la mortalidad se recolectaron de los registros clínicos y del Registro de cáncer de la población de Granada.

##### 5.1.7.1.2. Respuesta

La respuesta a esquemas de trastuzumab se evaluó de acuerdo a las variables clínicas de respuesta descritas en la guía de práctica clínica RECIST (versión 1.1) (EvaluationCriteria in

SolidTumours(78). Se midieron los siguientes parámetros: respuesta completa (RC), respuesta parcial (RP), progresión de la enfermedad (PE), enfermedad estable (EE).

Las variables se definen a continuación:

- RC: Desaparición de todas las lesiones. Cualquier nódulo linfático patológico (ya sea objetivo o no objetivo) debe tener una reducción en el eje corto a menos de 10 mm.
- RP: Por lo menos una disminución del 30% en la suma de los diámetros de las lesiones objetivo, tomando como referencia la suma de los diámetros basales.
- PE: Por lo menos un aumento del 20% en la suma de los diámetros de las lesiones objetivo, tomando como referencia la suma más pequeña en el estudio (esto incluye la suma basal como referencia si ésta es la más pequeña en el estudio). Además de un aumento relativo del 20%, la suma también debe demostrar un aumento absoluto de al menos 5 mm. (Nota: la aparición de una o más lesiones nuevas también se considera progresión).
- EE: Ni la disminución suficiente para poder ser catalogado como RP ni el suficiente aumento como para calificarlo PE, tomando como referencia la suma de los diámetros más pequeña durante el estudio.

Los pacientes que presentaron RC y RP fueron considerados respondedores al tratamiento. Por el contrario, los pacientes que presentaron EE y PE fueron catalogados como no respondedores.

### 5.1.7.1.3. Resistencia

La resistencia al tratamiento se consideró como la progresión de la enfermedad dentro del primer año de tratamiento.

### 4.1.7.2. Variables independientes

#### 5.1.7.2.1. Variables socio-demográficas.

Los datos sociodemográficos y clínicos fueron recogidos mediante la revisión de las historias clínicas de las pacientes. Los datos clínicos e histopatológicos que se recogieron fueron:

- Edad (a la fecha de diagnóstico): variable cuantitativa continua.
- Nuliparidad: variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Edad de la menarquia: variable cuantitativa continua.
- Menopausia: variable categórica nominal que toma los valores pre-menopáusica/post-menopáusica.
- Antecedentes familiares de cáncer de mama: variable categórica nominal que toma los valores Si/No.

#### 5.1.7.2.2. Variables relativas a la enfermedad

- Afectación ganglionar: variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Aparición metástasis cerebrales: variable categórica nominal que toma los valores Si/No.
- Expresión de receptores de estrógenos: variable categórica nominal que toma los valores positivo (+)/ negativo (-).
- Expresión de receptores de progesterona: variable categórica nominal que toma los valores +/-.
- Expresión del antígeno Ki67: variable categórica ordinal que toma los valores alto/intermedio/bajo.



- Estadio (clasificación TNM(7)): variable categórica ordinal que toma los valores:
  - Estadio 0: Tis N0 M0
  - Estadio I: T1 N0 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 N0 M0, T4 N1 M0, T4 N2 M0
  - Estadio IIIC: Cualquier T, N3 M0
  - Estadio IV: cualquier T cualquier N M1
- Tamaño del tumor (en cm): variable cuantitativa continua.
- Grado histológico: variable categórica nominal que toma los valores:
  - Grado I: bajo grado
  - Grado II: grado moderado
  - Grado III: alto grado
  - Residual post-quimioterapia
- Tipo histopatológico: variable categórica nominal que toma los valores:
  - Carcinoma in situ (no invasivo): LCIS y DCIS.

- Carcinoma invasivo ductal (carcinoma ductal infiltrante, carcinoma invasivo tubular, mucinoso, papilar o medular).
- Carcinoma invasivo lobulillar.
- Subtipo molecular: variable categórica nominal que toma los valores luminal HER2 si/no.
- Lugares de recurrencia: variable categórica nominal que toma los valores uno, más de uno o ninguno.

### 5.1.7.2.3. Variables relativas al tratamiento.

Los tratamientos se realizaron de acuerdo a las guías de práctica clínica NCCN (79).

- a. Tratamiento prescrito: variable categórica nominal que toma los valores adyuvante/neoadyuvante.
- b. Línea de tratamiento del esquema de trastuzumab: variable categórica ordinal que toma los valores primera/segunda o siguientes.

### 5.1.7.2.4. Variables genéticas.

- Estatus de los marcadores genéticos: Variable cualitativa ordinal que toma los valores presencia/ausencia de la alteración genética.

En todas las pacientes se determinarán los polimorfismos ABCB1-C3435T (rs1045642), ABCB1-C1236T (rs1128503), CCND1-A870G (rs9344), HER2-Ile655Val (rs93441).

#### 5.1.7.2.4.1. Obtención de las muestras y extracción del DNA.

Las muestras que fueron utilizadas para la extracción del DNA fueron cinco secciones de cada paciente de 7 micras cada una, de tejido embebido en parafina y fijado en formalina, tanto de tejido tumoral como del tejido sano adyacente al tumor. La selección de las zonas más representativas fue realizada por dos patólogas experimentadas en CM, de forma independiente.

La parafina se retiró por xileno-etanol antes de comenzar el aislamiento del DNA. El DNA se extrajo usando el kit QIAamp DNA Mini (Qiagen GmbH, Hilden, Alemania) según las instrucciones del fabricante para la purificación de DNA a partir de tejido y se almacenó a  $-40^{\circ}\text{C}$ .

### *5.1.7.2.4.2. Detección de los polimorfismos genéticos.*

La detección de los polimorfismos genéticos ABCB1-C3435T (rs1045642), ABCB1-C1236T (rs1128503), CCND1-A870G (rs9344) y HER2-Ile655Val (rs1136201) se realizó mediante PCR a tiempo real mediante diagramas de discriminación alélica usando primers y sondas TaqMan® en el sistema de PCR a tiempo real Applied Biosystems StepOne (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA). Las condiciones de ciclación por PCR fueron las siguientes: desnaturalización inicial a  $95^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos, seguido de 40 ciclos de desnaturalización a  $95^{\circ}\text{C}$  durante 15 segundos y (hibridación/extensión a  $60^{\circ}\text{C}$  durante 60 segundos. La intensidad de la señal de fluorescencia debida a la degradación de la sonda TaqMan® se cuantificó durante la fase de hibridación de cada ciclo de PCR. El análisis de genotipos de las muestras de DNA se realizó por duplicado. La presencia de alelo de tipo wild-type o la variante se definió comparando la fluorescencia relativa en el punto final creada por la degradación de cada sonda TaqMan® marcada fluorescentemente (VIC / FAM).

### **4.1.8. Análisis estadístico**

Los datos cuantitativos se expresaron como la media ( $\pm$  desviación estándar) para las variables con distribución normal o las medianas y los percentiles (25 y 75) para las variables de distribución no normal. La normalidad se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilks.

Se aplicó la prueba de t de Student para variables de distribución normal, y la prueba de Wilcoxon para las variables no paramétricas. El análisis bivariante para las variables dicotómicas cualitativas se analizó mediante los tests chi-cuadrado de Pearson o la prueba exacta de Fisher. La corrección de Bonferroni se aplicó en las comparaciones múltiples. La regresión logística se realizó para evaluar las posibles variables confusoras sobre las variables de resistencia, respuesta, exitus y progresión. El modelo de regresión de riesgos multivariante de Cox fue utilizado para obtener los hazard ratios (HR) y los intervalos de confianza del 95% (IC95%) para los posibles factores pronósticos de progresión y supervivencia. El método de Kaplan-Meier y la prueba de log-rank se utilizaron para analizar la asociación entre la supervivencia y progresión con variables demográficas, clínicas y genéticas. Un nivel de significación de  $p < 0,05$  fue considerado significativo para todas las pruebas. El análisis de datos se realizó a través de R Commander 3.0.1 (80). El equilibrio Hardy Weinberg y las frecuencias haplotípicas se estimaron usando la calculadora de Hardy-Weinberg (81) y la herramienta CUBEX (82), respectivamente, ambos proporcionados por la Enciclopedia online para estudios de epidemiología genética.

### **4.2. PARTE 2**

#### **4.2.1. Diseño del estudio**

Se realizó un metaanálisis.

#### **4.2.2. Estrategia de búsqueda bibliográfica y extracción de datos para metaanálisis.**

La búsqueda bibliográfica se realizó en *PubMed*, *Embase*, *Ovid* y *Scielo*, incluyendo todos los trabajos publicados hasta el 20 de diciembre de 2016, utilizando las palabras clave "ABC1", "*polymorphism*", "*breast*", "*cancer*". Con el fin de lograr una bibliografía exhaustiva, también se identificaron estudios adicionales mediante revisión de las listas de referencias de determinados estudios o revisiones clave. La revisión bibliográfica se realizó por duplicado por dos revisores independientes.

Los criterios de inclusión utilizados para la selección de la literatura fueron:

- Artículos originales.
- Realizados en humanos.
- Artículos en los que se explorara la asociación entre los dosSNPs seleccionados y la respuesta a la quimioterapia.
- Artículos con datos suficientes para calcular las odds ratio y los intervalos de confianza al 95%.
- Artículos en los que se evaluara la respuesta a la quimioterapia según los criterios RECIST o *WorldHealthOrganisation* (WHO).
- Artículos escritos en inglés o español.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

- Estudios que reportan datos superpuestos.
- Estudios con datos incompletos.
- Realizados por el mismo grupo investigador.

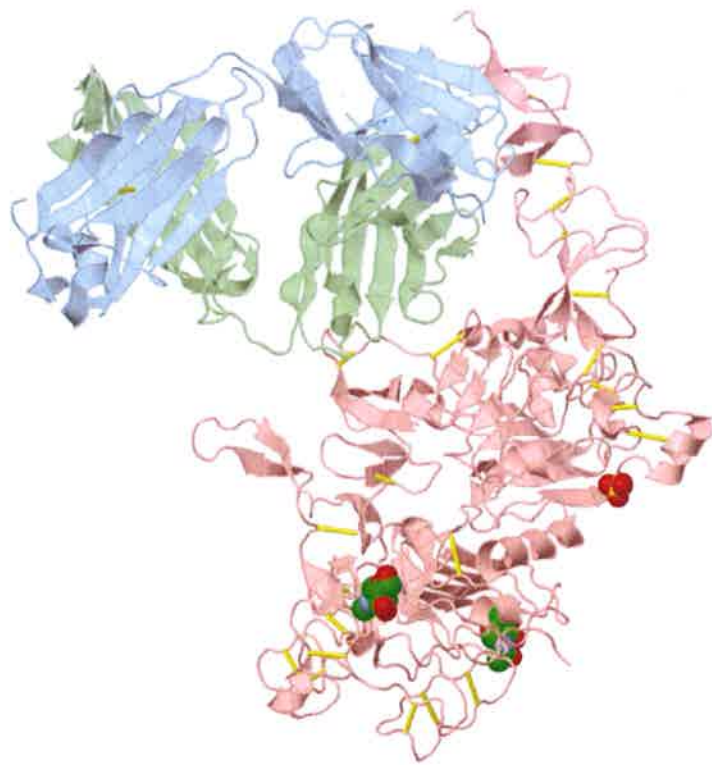
### **4.2.3. Extracción de datos**

Los datos fueron cuidadosamente extraídos de todos los estudios elegibles de forma independiente por dos investigadores de acuerdo con los criterios de inclusión antes mencionados. Se extrajo la siguiente información de los estudios: primer autor, año de publicación, país, etnia, número de pacientes incluidas en el estudio, frecuencias genotípicas según la respuesta a la quimioterapia, estadio clínico, protocolos de tratamiento, métodos de genotipificación y criterios de evaluación. Dos revisores se encargaron de la recogida de los datos y llegaron a un consenso sobre todos los datos extraídos. Las discrepancias existentes en la extracción de los datos después de la discusión de los dos revisores se resolvieron al repetir la revisión del estudio y el análisis de los resultados con un tercer revisor.

### 4.2.4. Análisis estadístico

La fuerza de la asociación entre los polimorfismos ABCB1-C3435T y ABCB1-C1236T y la respuesta a las terapias de tratamiento en CM se midió con las OR y sus intervalos de confianza al 95%. Primero se estimó la respuesta al tratamiento con todos los estudios disponibles para cada polimorfismo según los modelos dominante (CT + TT vs CC), recesivo (TT vs CC + CT) y codominante (CT vs CC y TT vs CC). Para el metaanálisis, la heterogeneidad de los estudios se contrastó con el test chi-cuadrado de Cochran, así como el grado de inconsistencia con el índice  $I^2$ . La OR conjunta de todos los estudios se calculó mediante el modelo de efectos aleatorios de DerSimonian-Laird. Se considera el efecto del estudio estadísticamente significativo si el intervalo de confianza para la OR combinada no contiene al 1. Los datos de cada análisis se han representado gráficamente mediante *funnelplot* con el programa STATA (Stata Software Package version 10 (StataCorp LP, College Station, Texas, USA)). El sesgo de publicación se analizó con los tests de Begg y Egger..

Se analizó el efecto global de todos los estudios para cada uno de los polimorfismos ABCB1-C3435T y ABCB1-C1236T, así como por separado según etnia y tipo de tumor. El software empleado para el metaanálisis fue Metadisc(83).



## RESULTADOS





## 5. RESULTADOS

### 5.1. PARTE 1

#### 5.1.1. Características de las pacientes.

La población de estudio comprendió 84 pacientes caucásicas con CM HER2-positivo que recibieron tratamiento con esquemas con trastuzumab, 50 (50/84; 59.5%) como primera línea y 6 (6/84; 7.1%) como tratamiento neoadyuvante. Las características clínicas y demográficas de las pacientes se resumen en la Tabla 8. La edad media al momento del diagnóstico fue de  $52 \pm 13$  años. Sesenta y un pacientes (61/84; 71.8%) fueron inicialmente diagnosticadas con carcinoma ductal invasivo. Cuarenta y ocho pacientes (48/83; 57.83%) tenían tumores positivos a los receptores de estrógenos y 38 (38/83; 45.78%) tenían tumores positivos para receptores de progesterona. Durante el seguimiento, 41/84 (49,4%) experimentaron progresión, 38 pacientes desarrollaron metástasis a distancia (38/84; 45.2%), 36.8% de las cuales localizadas en el cerebro (14/83) y 32/84 (37.7%) fallecieron. El seguimiento medio de las pacientes fue de  $63.5 \pm 24.7$  meses. La SGa los 5 años fue de 74.9 (63.7, 83.0) meses y laSLPa los 5 años fue de 53.9 (42.5, 64.0).

#### 5.1.2. Asociación de las características clínicas y demográficas con la resistencia, progresión, respuesta y exitosa esquemas de trastuzumab.

La resistencia al tratamiento se asoció a una mayor edad de menarquia ( $p = 0.02645$ , Tabla 9). La progresión tras el tratamiento fue mayor en pacientes con índice ki67 alto (RR: 1.79; IC95%: 1.03-3.09;  $p = 0.03546$ ). El estadio fue asociado con el exitus ( $p = 0.03929$ , Tabla 10). Otras características clínicas y demográficas se asociaron a resistencia, respuesta, exitus o progresión.

RESULTADOS

Tabla 8. Características clínicas y demográficas de las pacientes con cáncer de mama.

<b>Características</b>	<b>N</b>	<b>N (%)</b>
<b>Edad al diagnóstico (años)</b>	84	52 ± 13
<b>Edadmenarquía (años)</b>	78	13 [12-13]
<b>Antecedentes CM</b>	84	16 (19.0)
<b>Nuliparidad</b>	54	4 (7.4)
<b>Pre-menopáusicas</b>	65	29 (45.3)
<b>Tamaño tumoral (cm)</b>	73	2 [1.5-3]
<b>Afectación ganglionar</b>	83	36 (43.4)
<b>Tipohistológico</b>	84	
Carcinoma ductal Invasivo		60 (71.4)
Otros		20 (23.5)
Residual Post-quimioterapia		4 (4.7)
<b>Grado</b>	70	
1		2 (2.9)
2		30 (42.9)
3		34 (48.6)
Residual Post-quimioterapia		4 (5.7)
<b>Receptor Estrógenos +</b>	83	48 (57.8)
<b>Receptor Progesterona +</b>	83	38 (45.8)
<b>KI67</b>	72	
Alto		30 (41.7)
Intermedio		16 (22.2)
Bajo		26 (36.1)
<b>Subtipo Molecular</b>	82	
Luminal HER2		47 (57.3)
<b>Estadio al diagnóstico</b>	75	
IA		26 (34.7)
IIA		12 (16.0)
IIB		16 (21.3)
IIIA		11 (14.7)
IIIB		3 (4.0)
IIIC		6 (8.0)
IV		1 (1.3)

RESULTADOS

Tabla 8. (continuación).

Características	N	N (%)
<b>Trastuzumab</b>	84	
Primeralínea		50 (59.5)
Segunda o siguientes		34 (40.5)
<b>Adyuvante</b>	84	78 (92.9)
Neoadyuvante		6 (7.1)
<b>Respuesta</b>	83	
EnfermedadProgresiva		7 (8.4)
RespuestaCompleta		65 (78.3)
RespuestaParcial		7 (8.4)
Enfermedadestable		4 (4.8)
<b>Progresión</b>	83	41 (49.4)
<b>Lugares de recurrencia</b>	84	
1		19 (22.6)
>1		19 (22.6)
Ninguno		46 (54.8)
<b>MetástasisCerebrales</b>	83	14 (16.9)
<b>Exitus</b>	84	31 (36.9)
<b>Supervivencia Global (IC<sub>95%</sub>)</b>		
5 años		74.9 (63.7,83.0)
8 años		47.3 (28.7, 63.8)
<b>Supervivencia libre de Progresión (IC<sub>95%</sub>)</b>		
5 años		53.9 (42.5, 64.0)
8 años		46.7 (34.2, 58.2)
Variables cuantitativas: media ± desviación standard (distribución normal) o mediana [P <sub>25</sub> -P <sub>75</sub> ] (no distribución normal)		

RESULTADOS

Tabla 9. Asociación de las características clínicas y demográficas con la resistencia y respuesta a esquemas de trastuzumab.

VARIABLE		RESISTENCIA				RESPUESTA			
		N (SI/NO)	SI n(%)	NO n(%)	p	N	SI n(%)	NO n(%)	p
Edad		23/60	51.6 ± 14.0	51.8 ± 12.9	0.957	72/11	50 [43-62.75]	41 [37-63]	0.295
Edad de menarquía		21/55	13 [12-14]	12 [11.5-13]	0.02645*	66/10	12 [12-13.75]	13 [12.25-13]	0.8146
Tamaño Tumoral		17/55	2 [2-3.5]	2 [1.5-3]	0.526	64/8	2 [1.5-3.12]	2 [2-3.12]	0.59
Tamaño Tumoral	≤ 5 cm		16 (94.1)	50 (90.9)	1		58 (90.6)	8 (100)	1
	> 5 cm		1 (5.9)	5 (9.1)			6 (9.4)	0 (0)	
Afectación ganglionar	NO		13 (59.1)	32 (54.2)	0.6958		37 (52.9)	8 (72.7)	0.33
	SI		9 (40.9)	27 (45.8)			33 (47.1)	3 (27.3)	
Antecedentes CM	NO		3 (13.6)	13 (21.7)	0.5385		15 (2.1)	1 (9.1)	0.6828
	SI		19 (86.4)	47 (78.3)			56 (78.9)	10 (90.9)	
Status Menopáusico	POST		7 (46.7)	26 (55.3)	0.5587		30 (53.6)	3 (50)	1
	PRE		8 (53.3)	21 (44.7)			26 (46.4)	3 (50)	
Nuliparidad	NO		10 (100)	39 (90.7)	1		46 (92)	3 (100)	1
	SI		0 (0)	4 (9.3)			4 (8)	0 (0)	
Receptor Estrógenos	Negativo		10 (47.6)	25 (41.7)	0.6356		10 (47.6)	5 (50)	0.7389
	Positivo		11 (52.4)	35 (58.3)			35 (58.3)	5 (50)	
Receptor Progesterona	Negativo		10 (47.6)	35 (58.3)	0.3951		40 (56.3)	5 (50)	0.7446
	Positivo		11 (52.4)	25 (41.7)			31 (43.7)	5 (50)	
Ki67	Alto		6 (46.2)	24 (41.2)	0.9266		26 (40.6)	4 (57.1)	0.7768
	Intermedio		2 (15.4)	13 (22.4)			14 (21.9)	1 (14.3)	
	Bajo		5 (38.5)	21 (36.2)			24 (37.5)	2 (28.6)	
Subtipo Molecular	HER2-positivo No luminal		10 (50)	25 (41.7)	0.5153		30 (42.9)	5 (50)	0.741
	Luminal HER2		10 (50)	35 (58.3)			40 (57.1)	5 (50)	

RESULTADOS

Tabla 9. (continuación)

VARIABLE		RESISTENCIA				RESPUESTA			
		N (SI/NO)	SI n(%)	NO n(%)	p	N	SI n(%)	NO n(%)	p
Grado	1		1 (6.2)	0 (0)	0.1882		0 (0)	1 (11.1)	0.1555
	2		9 (56.2)	21 (40.4)			25 (42.4)	5 (55.6)	
	3		6 (37.5)	27 (51.9)			30 (50.8)	3 (33.3)	
	Residual Post- quimioterapia		0 (0)	4 (7.7)			4 (6.8)	0 (0)	
TipoHistológico	Carcinoma ductal Invasivo		15 (65.2)	44 (73.3)	0.745		49 (68.1)	10 (90.9)	0.3923
	Otros		7 (30.4)	13 (21.7)			19 (26.4)	1 (9.1)	
	Residual Post- quimioterapia		1 (4.3)	3 (5)			4 (5.6)	0 (0)	
Estadio	I		6 (27.3)	19 (37.3)	0.07857		23 (37.1)	2 (18.2)	0.4184
	II		11 (50)	16 (31.4)			20 (32.2)	7 (63.7)	
	III		5 (22.7)	15 (29.4)			18 (29)	2 (18.2)	
	IV		0 (0)	1 (2)			1 (1.6)	0 (0)	
AdministraciónTrastuzuma b	Adyuvante		22 (95.7)	55 (91.7)	1		66 (91.7)	11 (100)	1
	Neoadyuvante		1 (4.3)	5 (8.3)			6 (8.3)	0 (0)	

Tabla 10. Asociación de las características clínicas y demográficas con exitus y progresión.

VARIABLE		EXITUS				PROGRESIÓN			
		N (SI/NO)	NO n(%)	SI n(%)	p	N	NO n(%)	SI n(%)	p
Edad		32/53	51.45 ± 12.48	52.62 ± 14.01	0.69	41/42	51.7	51.76	0.9885
Edademenarqúa		27/51	12 [12- 13]	13 [12- 14]	0.09838	36/40	12 [12- 13]	13 [12- 14]	0.1432
TamañoTumoral		25/48	2 [1.5- 3.12]	2 [2- 3]	0.5085	35/37	2 [1.5- 3.5]	2 [2- 3]	0.5698
Afectaciónganglionar	NO		24 (45.3)	12 (40)	0.6404		20 (47.6)	16 (41)	0.5507
	SI		29 (54.7)	18 (60)			22 (52.4)	23 (59)	
Antecedentes CM	NO		43 (81.1)	25 (80.6)	0.9563		34 (81)	32 (80)	0.9134
	SI		10 (18.9)	6 (19.4)			8 (19)	8 (20)	
Status Menopáusico	POST		25	10	0.6115		21	12	0.4978

RESULTADOS

		(56.8)	(50)		(56.8)	(48)
	PRE	19 (43.2)	10 (50)		16 (43.2)	13 (52)

Tabla 10. (continuación)

VARIABLE		EXITUS				PROGRESIÓN			
		N (SI/NO )	NO n(%)	SI n(%)	p	N	NO n(%)	SI n(%)	p
Nulliparity	NO		37 (90.2)	13 (100)	0.5618		28 (87.5)	21 (100)	0.1432
	SI		4 (9.8)	0 (0)			4 (12.5)	0 (0)	
Receptor Estrógenos	Negativo		22 (41.5)	13 (43.3)	0.8716		19 (45.2)	16 (41)	0.7022
	Positivo		31 (58.5)	17 (56.7)			23 (54.8)	23 (59)	
Receptor Progesterona	Negativo		30 (56.6)	15 (50)	0.5618		27 (64.3)	18 (46.2)	0.1008
	Positivo		23 (43.4)	15 (50)			15 (35.7)	21 (53.8)	
Ki67	Alto		18 (36)	12 (54.5)	0.05188 *		13 (31.7)	17 (56.7)	0.05637 *
	Intermedio		15 (30)	1 (4.5)			12 (29.3)	3 (10)	
	Bajo		17 (34)	9 (40.9)			16 (39)	10 (33.3)	
Subtipo Molecular	HER2-positivo No luminal		22 (42.3)	13 (43.3)	0.9279		19 (45.2)	16 (42.1)	0.7779
	Luminal HER2		30 (57.7)	17 (56.7)			23 (54.8)	22 (57.9)	
Grado	1		0 (0)	2 (8.3)	0.09589		0 (0)	1 (3.2)	0.1972
	2		18 (39.1)	12 (50)			16 (43.2)	14 (45.2)	
	3		24 (52.2)	10 (41.7)			17 (45.9)	16 (51.6)	
	Residual Post-quimioterapia		4 (8.7)	0 (0)			4 (10.8)	0 (0)	
Tipo Histológico	Carcinoma ductal Invasivo		36 (67.9)	25 (78.1)	0.4604		28 (66.7)	31 (75.6)	0.7325
	Otros		15 (28.3)	5 (15.6)			12 (28.6)	8 (19.5)	
	Residual		2	2			2	2	

## RESULTADOS

	Post- quimioterapia	(3.8)	(6.2)		(4.8)	(4.9)	
<b>Estadio</b>	I	19 (40.4 )	7 (25)	0.03929 *	16 (43.3 )	9 (25.7 )	0.08677
	II	15 (31.9 )	13 (46.5 )		6 (16.2 )	6 (17.1 )	
	III	13 (27.7 )	7 (25.0 )		11 (29.7 )	18 (51.4 )	
	IV	0 (0)	1 (3.6)		4 (10.8 )	2 (5.7)	
<b>Administración Trastuzumab</b>	Adyuvante	48 (90.6 )	30 (96.8 )	0.406	38 (90.5 )	39 (95.1 )	0.6758
	Neoadyuvante	5 (9.4)	1 (3.2)		4 (9.5)	2 (4.9)	

### 5.1.3. Distribución de genotipos

Todas las distribuciones de los polimorfismos génicos se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg a excepción de ABCB1-C3435T y HER2 (Ile655Val). En ningún caso se observó desequilibrio de ligamiento.

GEN	N	%	Equilibrio Hardy-Weinberg (p-valor)
<b>ABCB1 (C1236T)</b>			
CC	34	40	0.4507
TC	42	49.41	
TT	9	10.59	
<b>ABCB1 (C3435T)</b>			
CC	21	24.71	0.0147
TC	53	65.35	
TT	11	12.94	
<b>CCND1 (rs9344)</b>			
AA	16	18.82	0.738
AG	40	47.06	
GG	29	34.12	
<b>HER2 (Ile655Val)</b>			
AA	55	67.9	0.0465
AG	20	24.69	

RESULTADOS

GG	6	7.41
----	---	------

5.1.4. Influencia de los polimorfismos genéticos sobre las variables de respuesta

5.1.4.1. Resistencia

ABCB1-C3435T fue el único polimorfismo genético asociado a la resistencia ( $p = 0.03932$ , Tabla 11). En particular, las pacientes con genotipo CC tenían un mayor riesgo de resistencia a los esquemas de quimioterapia/trastuzumab, en comparación con las portadoras del alelo T (RR: 2.71; IC 95%: 1.29-5.68;  $p = 0.013888$ ; Tabla 11). El análisis de regresión logística multivariante, considerando la edad de la menarquia y ABCB1-C3435T, reveló que el único factor independiente asociado a la resistencia a terapia en pacientes con CM HER2-positivo fue el polimorfismo C3435T del gen ABCB1, y confirmó el efecto protector del alelo T (Tabla 12).

Tabla 11. Asociación de los genotipos de ABCB1, CCND1 y HER2 con la resistencia y respuesta.

GEN	RESISTENCIA				RESPUESTA			
	SI (n/%)	NO (n/%)	p-valor Pb-valor	RR IC <sub>95%</sub>	NO (n/%)	SI (n/%)	p-valor Pb-valor	RR IC <sub>95%</sub>
ABCB1 C1236T								
CC	12 (52.2)	21 (35)	0.3517		6 (54.5)	27 (37.5)	0.5751	
TC	9 (39.1)	33 (55)			4 (36.4)	38 (52.8)		
TT	2 (8.7)	6 (10)			1 (9.1)	7 (9.7)		
ABCB1 3435T								
CC	11 (47.8)	10 (16.7)	0.00983 0.03932		4 (36.4)	17 (23.6)	0.6395	
TC	11 (47.8)	40 (66.7)			6 (54.5)	45 (62.5)		
TT	1 (4.3)	10 (16.7)			1 (9.1)	10 (13.9)		
T- (Ref)	12	50	0.003472 0.01389	2.71 (1.29-5.68)				
C- (Ref)	22	50	0.2757					
CCND1 rs9344								
AA	4 (17.4)	12 (20)	0.8119		0 (0)	16 (22.2)	0.04915 0.1966	



RESULTADOS

AG	10 (43.5)	29 (48.3)			4 (36.4)	35 (48.6)		
GG	9 (39.1)	19 (31.7)			7 (63.6)	21 (29.2)		
A-					36.4	70.8	0.0562	1.24 (0.99-1.55)
G-					11 (100.0)	56 (77.8)	0.112	inf
HER2								
AA	19 (82.6)	34 (60.7)	0.2032		10 (90.9)	43 (63.2)	0.2592	
AG	3 (13)	17 (30.4)			1 (9.1)	19 (27.9)		
GG	1 (4.3)	5 (8.9)			0 (0)	6 (8.8)		
IC <sub>95%</sub> : Intervalo Confianza 95%; Pb: p-valorconcorrección de Bonferroni, Ref: Referencia, RR: Riesgo Relativo.								

Tabla 12. Influencia de los genotipos de ABCB1-C3435T en la Resistencia (Análisis de regresión logística)

RESISTENCIA		
	OR (CI <sub>95%</sub> )	p
<b>ABCB1-C3435T</b>		
<b>CC (Referencia)</b>		
<b>CT</b>	0.25 (0.08-0.73)	0.0123
<b>TT</b>	0.09 (0.004-0.6)	0.0348
IC <sub>95%</sub> : 95% Intervalo de confianza; OR: Odds Ratio		

5.1.4.2. Respuesta a esquemas de quimioterapia/trastuzumab.

Ningún polimorfismo genético presentó influencia en la respuesta al tratamiento. Las portadoras del alelo A para CCND1-rs9344 presentaron una tendencia a mayor respuesta en comparación con las pacientes GG (RR: 1.24, IC 95%: 0.99-1.55, p = 0.0562, Tabla 11).

5.1.4.3. Progresión

El análisis bivalente mostró que la progresión se asoció con el polimorfismo del gen ABCB1-C3435T (p (Bonferroni-corrected) = 0.04476, Tabla 13). En particular, las pacientes portadoras

RESULTADOS

del genotipo CC presentaron un mayor riesgo de progresión en comparación con las portadoras del alelo T (RR: 1.89; IC 95%: 1.17-3.06; p (Bonferroni-correcto) = 0.017964). La curva de Kaplan-Meier para SLP según el polimorfismo del gen ABCB1-C3435T se muestra en la (Figura 6) (plog-rank = 0.0029). La mediana de la SLP fue de 12.1 (IC 95%: 1.9-22.4) para el genotipo CC. Para los pacientes con CT y TT, las medianas de SLP excedieron el tiempo de supervivencia de la última observación(Tabla 15).

El análisis de regresión de Cox univariante se muestra en la

Tabla 13. Asociación de los genotipos de ABCB1, CCND1 and HER2 con exitus y progresión.

GEN	EXITUS				PROGRESIÓN			
	SI (n/%)	NO (n/%)	p-valor Pb-valor	RR IC <sub>95%</sub>	SI (n/%)	NO (n/%)	p-valor Pb-valor	RR IC <sub>95%</sub>
<b>ABCB1 C1236T</b>								
CC	14 (43.8)	20 (37.7)	0.8527		20 (48.8)	13 (31)	0.196	
TC	15 (46.9)	27 (50.9)			17 (41.5)	25 (59.5)		
TT	3 (9.4)	6 (11.3)			4 (9.8)	4 (9.5)		
<b>ABCB1 C3435T</b>								
CC	13 (40.6)	8 (15.1)	0.009132 0.036528		16 (39)	5 (11.9)	0.01119 0.04476	
TC	18 (56.2)	35 (66.0)			22 (53.7)	29 (69)		
TT	1 (3.1)	10 (18.9)			3 (7.3)	8 (19)		
C- (Ref)	31 (96.9)	43 (81.1)	0.04635	0.21 (0.03-1.43)	38 (92.7)	34 (81.0)	0.1151	
T- (Ref)	19 (59.4)	45 (84.9)	0.00819 0.03276	2.09 (1.14-3.83)	25 (61.0)	37 (88.1)	0.004491 0.017964	1.89 (1.17-3.06)
<b>CCND1 rs9344</b>								
AA	7 (21.9)	9 (17)	0.3892		7 (17.1)	9 (21.4)	0.5944	
AG	12 (37.5)	28 (52.8)			18 (43.9)	21 (50)		
GG	13 (40.6)	16 (30.2)			16 (39)	12 (28.6)		
<b>HER2</b>								
AA	23 (71.9)	32 (65.3)	0.9321		27 (69.2)	26 (65)	0.9331	
AG	7 (21.9)	13 (26.5)			9 (23.1)	11 (27.5)		
GG	2 (6.2)	4 (8.2)			3 (7.7)	3 (7.5)		
IC <sub>95%</sub> : Intervalo Confianza 95%; Pb: p-valorconcorrección de Bonferroni, Ref: Referencia, RR: Riesgo Relativo.								

RESULTADOS

Tabla 14. La regresión multivariante de Cox considerando ki67 como covariable demostró que ABCB1-C3435T era el único factor independiente asociado a SLP (*p likelihoodratio test*= 0.009886).

Tabla 13. Asociación de los genotipos de ABCB1, CCND1 and HER2 con exitus y progresión.

GEN	EXITUS				PROGRESIÓN			
	SI (n/%)	NO (n/%)	p-valor Pb-valor	RR IC <sub>95%</sub>	SI (n/%)	NO (n/%)	p-valor Pb-valor	RR IC <sub>95%</sub>
ABCB1 C1236T								
CC	14 (43.8)	20 (37.7)	0.8527		20 (48.8)	13 (31)	0.196	
TC	15 (46.9)	27 (50.9)			17 (41.5)	25 (59.5)		
TT	3 (9.4)	6 (11.3)			4 (9.8)	4 (9.5)		
ABCB1 C3435T								
CC	13 (40.6)	8 (15.1)	0.009132 0.036528		16 (39)	5 (11.9)	0.01119 0.04476	
TC	18 (56.2)	35 (66.0)			22 (53.7)	29 (69)		
TT	1 (3.1)	10 (18.9)			3 (7.3)	8 (19)		
C- (Ref)	31 (96.9)	43 (81.1)	0.04635	0.21 (0.03-1.43)	38 (92.7)	34 (81.0)	0.1151	
T- (Ref)	19 (59.4)	45 (84.9)	0.00819 0.03276	2.09 (1.14-3.83)	25 (61.0)	37 (88.1)	0.004491 0.017964	1.89 (1.17-3.06)
CCND1 rs9344								
AA	7 (21.9)	9 (17)	0.3892		7 (17.1)	9 (21.4)	0.5944	
AG	12 (37.5)	28 (52.8)			18 (43.9)	21 (50)		
GG	13 (40.6)	16 (30.2)			16 (39)	12 (28.6)		
HER2								
AA	23 (71.9)	32 (65.3)	0.9321		27 (69.2)	26 (65)	0.9331	
AG	7 (21.9)	13 (26.5)			9 (23.1)	11 (27.5)		
GG	2 (6.2)	4 (8.2)			3 (7.7)	3 (7.5)		

## RESULTADOS

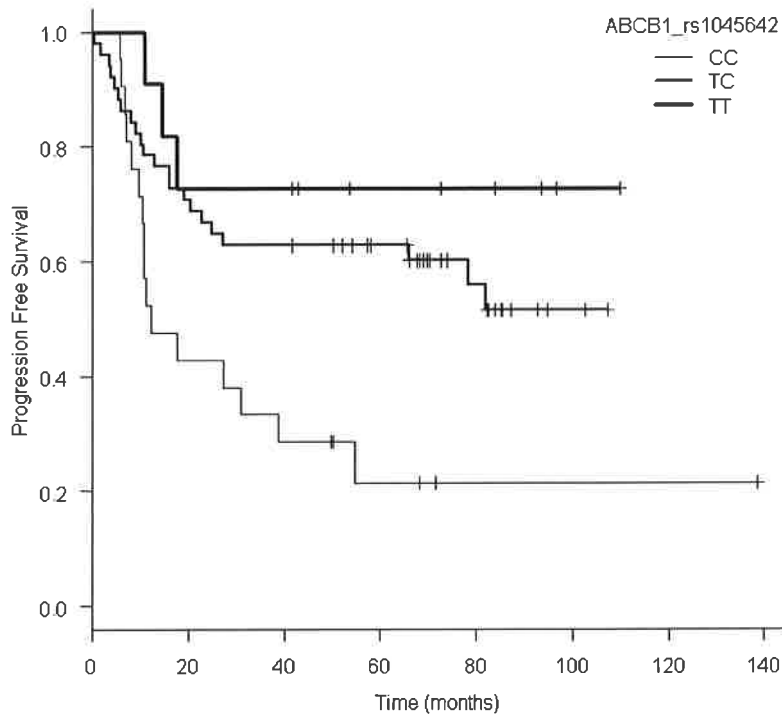
IC<sub>95%</sub>: Intervalo Confianza 95%; Pb: p-valorconcorrección de Bonferroni, Ref: Referencia, RR: Riesgo Relativo.

Tabla 14. Influencia de los genotipos de ABCB1-C3435T en la supervivencia libre de progression y la supervivencia global (Análisis de regression de Coxmultivariante)

	SLP		SG	
	HR (IC <sub>95%</sub> )	P	HR (IC <sub>95%</sub> )	p
<b>ABCB1-C3435T</b>				
<b>CC(Referencia)</b>				
CT	0.41 (0.21-0.79)	0.00806	0.49 (0.06-1.02)	0.0555
TT	0.22 (0.07-0.79)	0.01982	0.12 (0.04-0.90)	0.0398

IC<sub>95%</sub>: 95% Intervalo Confianza; HR: Hazard Ratio, SG: Supervivencia global,  
SLP: Supervivencia libre de progresión

Figura 6. Curva de Kaplan-Meier de la supervivencia libre de progresión según los genotipos de ABCB1-C3435T.



#### 5.1.4.4. Supervivencia

El análisis bivalente mostró una asociación entre el polimorfismo del gen ABCB1-C3435T y exitus ( $p$  (Bonferroni-correctado) = 0.036528, Tabla 13). En particular, las pacientes portadoras del genotipo CC presentaron un mayor riesgo de muerte en comparación con las portadoras del alelo T (RR: 2.09; IC 95%: 1.14-3.83;  $p$  (Bonferroni-correctado) = 0.03276; el estadio de la enfermedad fue la única variable clínica asociada a exitus (Tabla 10).

La curva de Kaplan-Meier para SG según el polimorfismo del gen ABCB1-C3435T se muestra en la (Figura 7) (plog-rank = 0.021). La mediana de SG fue de 73.3 (IC 95%: 62.8-83.9) para el genotipo CC. Para las pacientes con CT y TT, los valores de la mediana de supervivencia no estaban disponibles (Tabla 15).

El análisis de regresión de Cox multivariante ajustado según los estadios se utilizó para investigar más a fondo el impacto de las variantes de ABCB1 rs1045642 en la SG ( $p$  likelihood

## RESULTADOS

*ratio test* =0.01626). El genotipo ABCB1-C3435T TT permaneció significativamente asociado a un SG más alta en comparación con las pacientes con el genotipo CC (HR: 0.12, IC 95%: 0.04-0.90,  $p = 0.0398$ ,

Tabla 13. Asociación de los genotipos de ABCB1, CCND1 and HER2 con exitus y progresión.

GEN	EXITUS				PROGRESIÓN			
	SI (n/%)	NO (n/%)	p-valor Pb-valor	RR IC <sub>95%</sub>	SI (n/%)	NO (n/%)	p-valor Pb-valor	RR IC <sub>95%</sub>
<b>ABCB1 C1236T</b>								
CC	14 (43.8)	20 (37.7)	0.8527		20 (48.8)	13 (31)	0.196	
TC	15 (46.9)	27 (50.9)			17 (41.5)	25 (59.5)		
TT	3 (9.4)	6 (11.3)			4 (9.8)	4 (9.5)		
<b>ABCB1 C3435T</b>								
CC	13 (40.6)	8 (15.1)	0.009132 0.036528		16 (39)	5 (11.9)	0.01119 0.04476	
TC	18 (56.2)	35 (66.0)			22 (53.7)	29 (69)		
TT	1 (3.1)	10 (18.9)			3 (7.3)	8 (19)		
C- (Ref)	31 (96.9)	43 (81.1)	0.04635	0.21 (0.03-1.43)	38 (92.7)	34 (81.0)	0.1151	
T- (Ref)	19 (59.4)	45 (84.9)	0.00819 0.03276	2.09 (1.14-3.83)	25 (61.0)	37 (88.1)	0.004491 0.017964	1.89 (1.17-3.06)
<b>CCND1 rs9344</b>								
AA	7 (21.9)	9 (17)	0.3892		7 (17.1)	9 (21.4)	0.5944	
AG	12 (37.5)	28 (52.8)			18 (43.9)	21 (50)		
GG	13 (40.6)	16 (30.2)			16 (39)	12 (28.6)		
<b>HER2</b>								
AA	23 (71.9)	32 (65.3)	0.9321		27 (69.2)	26 (65)	0.9331	
AG	7 (21.9)	13 (26.5)			9 (23.1)	11 (27.5)		
GG	2 (6.2)	4 (8.2)			3 (7.7)	3 (7.5)		

IC<sub>95%</sub>: Intervalo Confianza 95%; Pb: p-valor con corrección de Bonferroni, Ref: Referencia, RR: Riesgo Relativo.

Tabla 14).

Figura 7. Curva de Kaplan-Meier de la supervivencia global según los genotipos de ABCB1-C3435T.

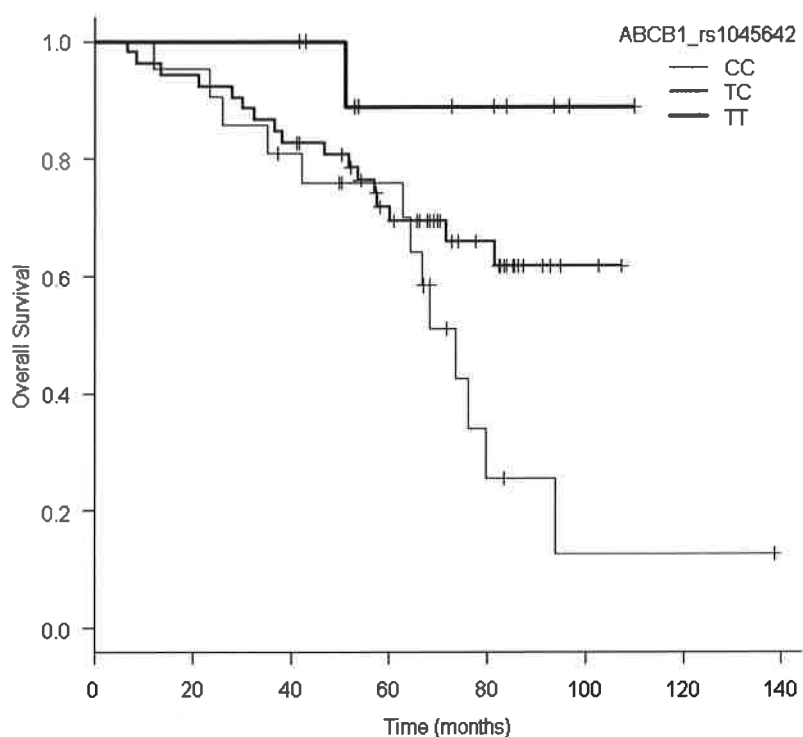


Tabla 15. Supervivencia libre de progresión y supervivencia global de acuerdo con los genotipos de ABCB1-C3435T en pacientes con cancer de mama.

ABCB1-C3435T	Supervivencia libre de progresión	Supervivencia global
	Mediana (IC <sub>95%</sub> )	Mediana (IC <sub>95%</sub> )
CC	12.1(1.9-22.4)	73.3(62.8-83.9)
CT	*	*
TT	*	*

\* El valor de la mediana de supervivencia excede el tiempo de supervivencia de la última observación.

## 5.2. PARTE 2

### 5.2.1. Características de los estudios.

## RESULTADOS

---

Se encontraron un total de 43 estudios con las palabras clave "ABCB1", "polymorphism", "breast", "cancer", "response".

Se excluyeron 19 estudios por estar escritos en japonés, por incluir solamente datos de farmacocinética o por estar realizados en pacientes no diagnosticados de CM.

Se seleccionaron 16 estudios tras eliminar los metaanálisis, un artículo cuyo fármaco utilizado era doxorubicina liposomal, otro que no consideraba la variable respuesta, sino supervivencia como variable dependiente, y otro de modificación en la expresión de ABCB1. De estos 16 se desecharon 2 artículos, ya que uno de ellos no utilizaba los criterios RECIST/WHO como medida de respuesta y otro no tenía desglosados los datos de respuesta para poder ser utilizados posteriormente. Tres artículos pertenecían al mismo grupo de investigación; uno de ellos (Tulsyan et al.) se excluyó por estar contenido en otro (Agarwal et al.). El estudio de Agarwal et al. se utilizó para el análisis general porque era el más reciente e incluía pacientes con varios tipos de presentación de CM. El estudio de Chaturvedi et al. aunque también pertenecía al mismo grupo de investigación fue utilizado para el análisis por subgrupos según el tipo de cáncer pues todas sus pacientes padecían cáncer de mama localmente avanzado (CMLA) y CMM, y estaban disponibles por tanto los datos en función de este estadio. De estos 12 estudios utilizados para el análisis global general se extrajo la información según versaban sobre un polimorfismo u otro resultando en: 9 artículos para el polimorfismo ABCB1-C3435T y 5 artículos para el polimorfismo ABCB1-C1236T. Todas las características de los estudios se resumen en la Tabla 16.



RESULTADOS

Tabla 16. Características de los estudios incluidos en el metaanálisis.

Referencia	SNP	Tipo cáncer	N	Edad	QT	Esquema	Etnia	Método genotipado	Criterio respuesta	Genotipos C3435T	Genotipos C1236T				
										CC	CT	TT	CC	CT	TT
Kafka et al. 2003	C3435T	CMLA	68	Media 53 (27-78)	QTNA	Basado en antraciclinas	ALEMANES (CAUCÁSICOS)	PCR-SEC	RECIST	14	39	15			
Ashariati et al. 2008	C3435T	CMLA	19	Mediana 46.5	QTNA	ND	INDONESIOS (ASIÁTICOS)	PCR-SEC	RECIST	0	5	14			
Chang et al. 2009	C3435T	CMM	103	Mediana 49	ADY	Antraciclinas + paclitaxel	COREANOS (ASIÁTICOS)	PCR-SEC	RECIST	53	10	40			
George et al. 2009	C3435T	CMLA	76	Media 48.7	QTNA	FAC	INDIOS	PCR-RFLP	RECIST	8	35	23			
Cizmarikova et al. 2010	C3435T	CMLA	38	Media 55	QTNA	Basado en antraciclinas	ESLOVACOS (CAUCÁSICOS)	PCR-RFLP	RECIST	5	25	8			
Zhang et al. 2011	C3435T C1236T	CMLA	119	Mediana 49	QTNA	Basado en antraciclinas	CHINOS (ASIÁTICOS)	PCR-RFLP	RECIST	45	53	21	16	64	41
Ji et al. 2012	C3435T C1236T	PRIMARIO	153	Mediana 48	QTNA	Basado en antraciclinas	CHINOS (ASIÁTICOS)	PCR-RFLP	WHO	34	98	21	19	56	78
Alsaif et al. 2013	C1236T	DE TODOS	100	Media 51.5	ADY	Basado en antraciclinas	ÁRABES	TAQMAN	WHO				73	11	16
Chaturvedi et al. 2013	C3435T C1236T	CMLA y CMM	100	ND	ADY/ QTNA	FAC/FEC	INDIOS	PCR-RFLP	RECIST	10	49	41	20	44	36
Agarwal et al. 2015	C3435T C1236T	DE TODOS	111	Media 48.92	ADY/ QTNA	Basado en antraciclinas	INDIOS	PCR-RFLP	RECIST	15	50	46	23	48	40
Madrid et al. 2016	C3435T C1236T	DE TODOS	83	Media (52 ± 13)	ADY/ QTNA	Basado en antraciclinas	ESPAÑOLES (CAUCÁSICOS)	TAQMAN	RECIST	21	51	11	33	42	8

ADY (Quimioterapia adyuvante), CM (Cáncer de mama), CMLA (Cáncer de mama localmente avanzado), CMM (Cáncer de mama metastásico), FAC (Fluorouracilo-adriamicina-ciclofosfamida), FEC (Fluorouracilo-epirubicina-ciclofosfamida), ND: No disponible, QT (Quimioterapia), QTNA (Quimioterapia Neoadyuvante), Sec (Secuenciación)

## RESULTADOS

### 5.2.2. Metaanálisis

Para el polimorfismo ABCB1-C3435T se incluyeron 9 estudios seleccionados, que sumaban un total de 770 pacientes para calcular la OR combinada (Tabla 16). No se encontró asociación de este polimorfismo con la respuesta a quimioterapia en pacientes con CM en ninguno de los modelos (dominante, recesivo, codominante) (Tabla 17).

Tabla 17. Resumen de las OR (IC 95%) de los distintos modelos genéticos del polimorfismo ABCB1-C3435T y la asociación con la respuesta al tratamiento.

Modelo	Total o subgrupo de pacientes	N	OR (IC 95%)	I <sup>2</sup> (%)	P
Dominante (CT+TT vs CC)	Todos los estudios	8	0.888 (0.558 - 1.413)	21.2	0.261
	Caucásicos	3	1.263 (0.193-8.253)	58.4	0.090
	Asiáticos	3	0.797 (0.497-1.280)	1.7	0.362
	Indios	2	1.168 (0.334 - 4.084)	41.2	0.192
	De todos + primario	3	1.217 (0.643 - 2.302)	6.7	0.342
	CMLA + CMM	6	0.961 (0.436- 2.119)	46	0.099
	RECIST	7	0.807 (0.471 - 1.383)	22.4	0.258
Recesivo (TT vs CT + CC)	Todos los estudios	8	0.993 (0.519 - 1.900)	61.3	0.008
	Caucásicos	3	0.875 (0.316-2.420)	0	0.510
	Asiáticos	3	0.965 (0.267-3.483)	78.9	0.003
	Indios	2	0.948 (0.394 - 2.285)	54.1	0.140
	De todos + primario	3	2.007 (0.695 - 5.798)	60.7	0.078
	CMLA + CMM	6	0.830 (0.455 - 1.513)	45.1	0.091
	RECIST	8	0.812 (0.484 - 1.361)	30.9	0,182

RESULTADOS

Tabla 17. (continuación)

Modelo	Total o subgrupos pacientes	N	OR (IC 95%)	I <sup>2</sup> (%)	P
CT vs CC	Todos los estudios	8	0.834 (0.538 - 1.292)	0	0.467
	Caucásicos	3	1.077 (0.544-2.131)	0	0.760
	Asiáticos	3	0.709 (0.412-1.220)	75.3	0.017
	Indios	2	1.262 (0.468 - 3.404)	0	0.361
	De todos + primario	3	1.008 (0.535 - 1.898)	0	0.466
	CMLA + CMM	6	1.004 (0.426 - 2.368)	38.8	0.147
	RECIST	7	0.808 (0.467 - 1.397)	8.4	0,364
TT vs CC	Todos los estudios	8	1.146 (0.511 - 2.571)	57	0.023
	Caucásicos	3	1.244 (0.096-16.124)	65	0.057
	Asiáticos	3	1.238 (0.366-4.190)	0	0.609
	Indios	2	1.083(0.215 - 5.444)	60.3	0.113
	De todos + primario	3	2.327 (0.756 - 7.161)	41.8	0.179
	CMLA + CMM	6	0.830 (0.455 - 1.513)	45.1	0.091
	RECIST	7	0.848 (0.415 - 1.734)	34.0	0,168
N: Número de estudios, De todos (todos los estadios)					

Para el polimorfismo ABCB1-C1236T, se seleccionaron 5 artículos, suponiendo un total de 566 pacientes, sin encontrar significación estadística de la asociación de este polimorfismo con la respuesta a la quimioterapia en pacientes con CM en ningún modelo (Tabla 18).

## RESULTADOS

Tabla 18. Resumen de las OR (IC 95%) de la asociación de los distintos modelos genéticos del polimorfismo ABCB1-C1236T y la respuesta al tratamiento.

Modelo	Total o subgrupo de pacientes	N	OR (IC 95%)	I <sup>2</sup> (%)	P
Dominante (CT+TT vs CC)	Todos los estudios	5	1.968 (0.609 - 6.362)	79.9	0.001
	Asiáticos	2	0.956 (0.453-2.020)	0	0.640
	De todos	4	2.507 (0.596 - 10.543)	82.5	0.001
	CMLA + CMM	2	1.846 (0.323 - 10.545)	76.3	0.040
	RECIST	3	1.22 (0.53 - 2.82)	39.6	0.1912
	WHO	2	1.029 (0.429 - 2.469)	0	0.5473
Recesivo (TT vs CT + CC)	Todos los estudios	5	1.951 (0.690 - 5.519)	82.2	0.000
	Asiáticos	2	1.045 (0.390-2.804)	72.5	0.057
	De todos	4	2.753 (0.814 - 9.307)	80.7	0.001
	CMLA + CMM	2	0.845 (0.446 - 1.601)	20.3	0.263
	RECIST	3	0.909 (0.531 -1.556)	0	0,399
	WHO	2	1.376 (0.814 - 2.325)	0	0,480
CT vs CC	Todos los estudios	5	1.384 (0.576 - 3.323)	55.4	0.062
	Asiáticos	2	0.867 (0.390-1.928)	0	0.827
	De todos	4	1.578 (0.498 - 5.001)	64.9	0.036
	CMLA + CMM	2	2.117 (0.399 - 11.233)	72	0.059
	RECIST	3	1.275 (0.362 - 4.487)	68.1	0.044
	WHO	2	1.720 (0.278 -10.632)	63.7	0,097

## RESULTADOS

**Tabla 18. (Continuación)**

Modelo	Total o subgrupo de pacientes	N	OR (IC 95%)	I <sup>2</sup> (%)	P
TT vs CC	Todos los estudios	5	2.472 (0.610 - 10.019)	80.5	0.000
	Asiáticos	2	0.963 (0.408-2.271)	13.1	0.283
	De todos	4	3.660 (0.754 - 17.757)	79.1	0.002
	CMLA + CMM	2	1.498 (0.227 - 9.897)	76.3	0.040
	RECIST	3	1.246 (0.320 - 4.861)	60	0.082
	WHO	2	7.106 (0.278 - 181.59)	91.7	0.001
De todos: todos los estadios, N: Número de estudios,					

Tras realizar la estratificación por etnias, por tipo de cáncer y según el criterio de medida de la respuesta según los modelos dominante, recesivo o codominante, no se encontró influencia de estos factores en la respuesta a la quimioterapia en pacientes con CM, ni con el polimorfismo ABCB1-C3435T ni con el ABCB1-C2336T, como muestran los resultados (Tabla 17 y Tabla 18) y las representaciones gráficas del modelo dominante (Figura 8, Figura 9, Figura 10).

## RESULTADOS

Figura 8. Metaanálisis del modelo dominante del polimorfismo ABCB1-C3435T según la etnia.

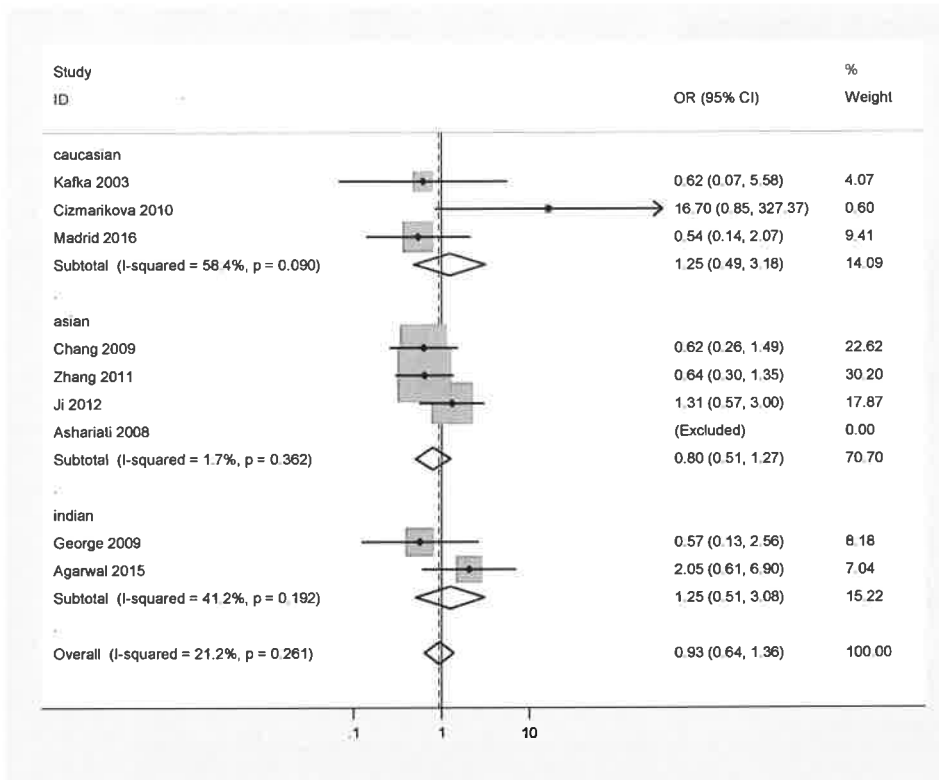
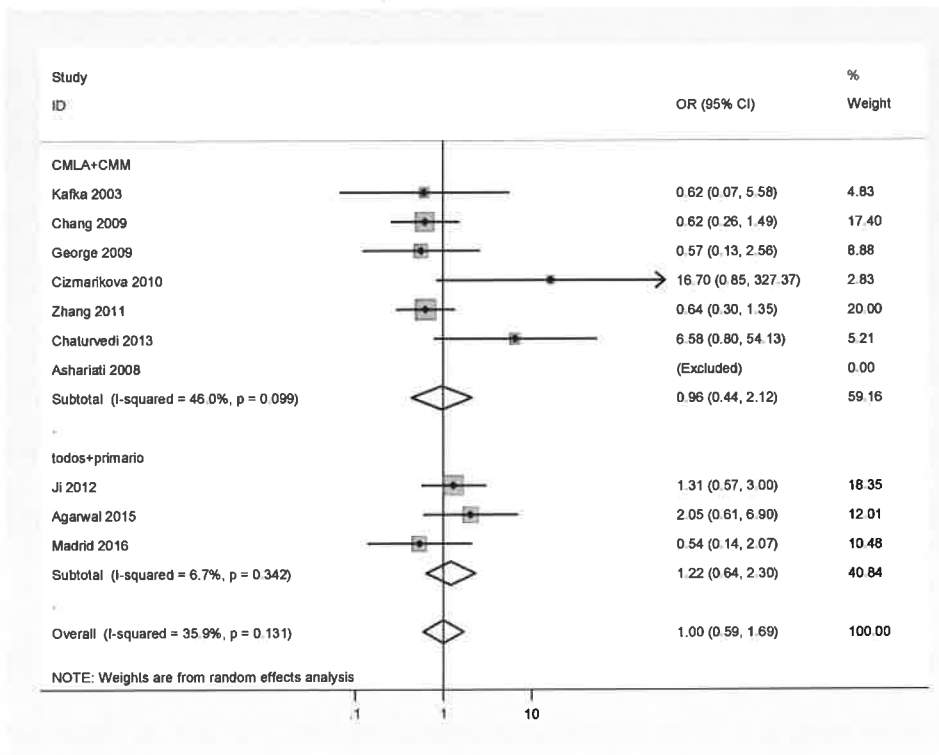
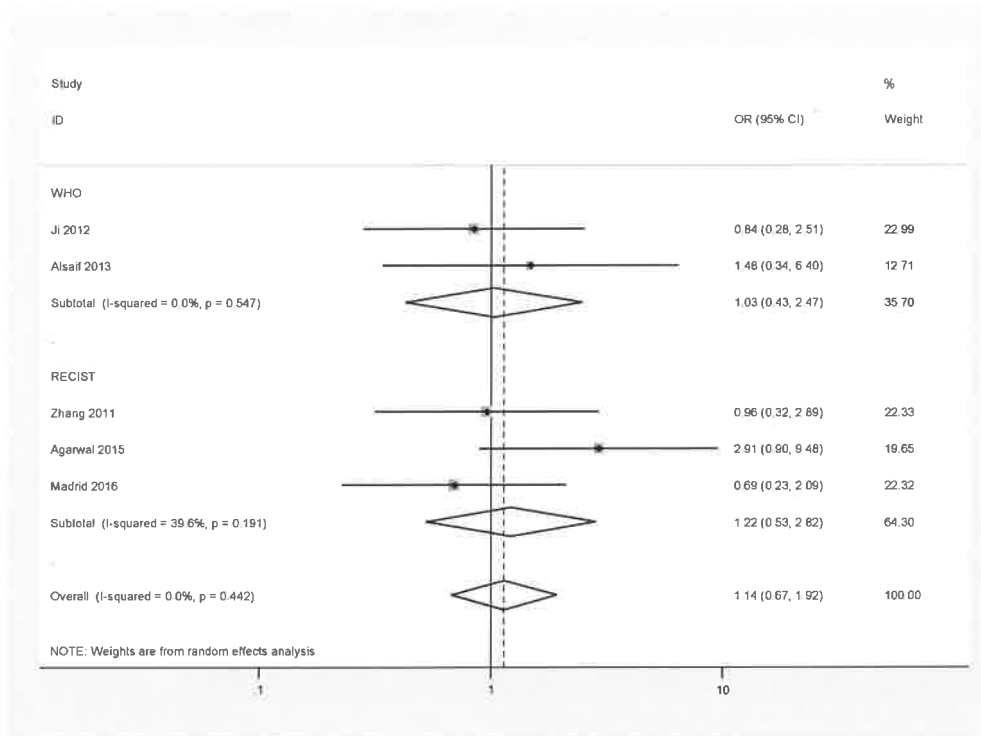


Figura 9. Metaanálisis del modelo dominante del polimorfismo ABCB1-C3435T según el tipo de cáncer.



## RESULTADOS

Figura 10. Metaanálisis del modelo dominante del polimorfismo ABCB1-C1236T según el criterio de evaluación de la respuesta.



### 5.2.3. Test para la heterogeneidad

Los datos sobre la heterogeneidad de los estudios utilizados en cada comparación de los polimorfismos ABCB1 C3435T y C1236T y la respuesta a la quimioterapia son diversos y se muestran detallados por los datos del grado de inconsistencia (índice  $I^2$ ) y el contraste Q de Cochran (heterogeneidad:  $p < 0.05$ ) en las Tabla 17 y Tabla 18, siendo mayores para los modelos del polimorfismo ABCB1-C1236T.

### 5.2.4. Sesgo de publicación

El modelo dominante de ABCB1-C3435T no presentó sesgo de publicación, como muestra el resultado del test de Begg ( $p = 0.293$ ;  $p_{continuitycorrected} = 0.368$ ) y el test de Egger ( $p = 0.891$ ).

El sesgo de publicación tampoco estuvo presente en el modelo dominante de ABCB1-C1236T de acuerdo al test de Begg ( $p = 0.73$ ;  $p_{continuitycorrected} = 0.462$ ) y el test de Egger ( $p =$

## RESULTADOS

0.470). La representación gráfica de estos tests se muestra a continuación (Figura 11 y Figura 12).

Figura 11. Test para el sesgo de publicación del modelo dominante de ABCB1-C3435T (*Begg's funnelplot*).

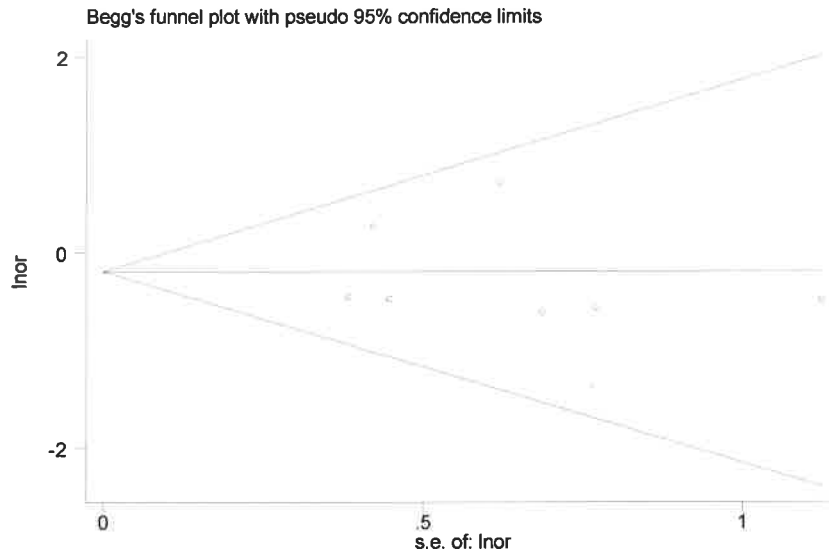
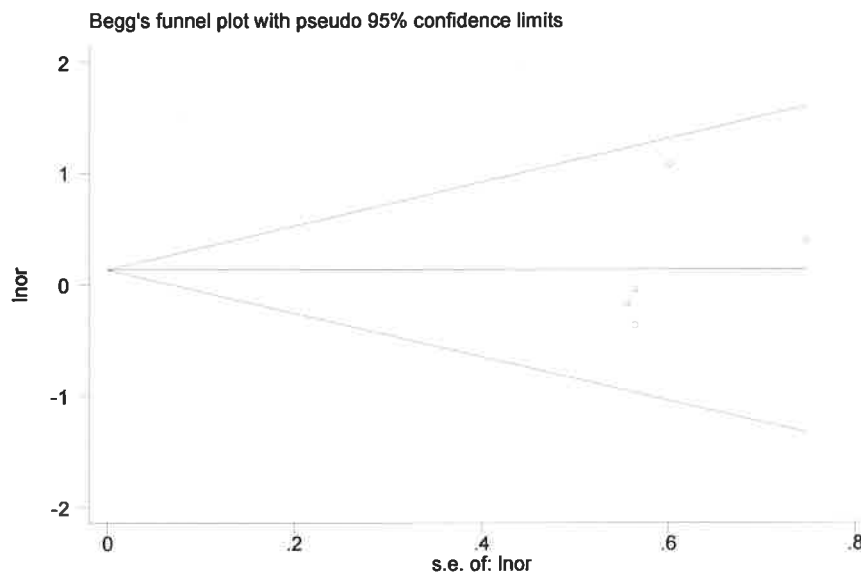
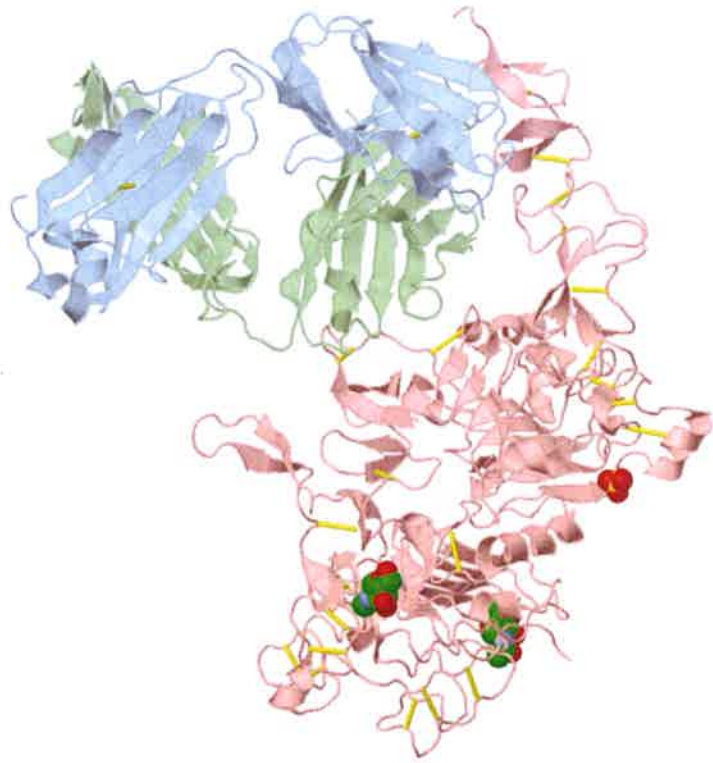


Figura 12. Test para el sesgo de publicación del modelo dominante de ABCB1-C1236T (*Begg's funnelplot*).







## DISCUSIÓN

### 6. DISCUSIÓN

El manejo terapéutico actual de las pacientes con CM HER2 positivo, incluyendo varias combinaciones de agentes quimioterápicos, fármacos dirigidos a la diana HER2 y terapia hormonal, ha mejorado mucho los resultados en estas pacientes. A pesar de que estos esquemas suelen lograr resultados favorables, la resistencia a los tratamientos sigue siendo un reto para los clínicos. Los polimorfismos de los genes ABCB1, HER2, y CCND1 se han propuesto como potenciales predictores de los resultados clínicos a los esquemas de trastuzumab(35,36). En el presente estudio, se evaluaron los resultados clínicos de 84 pacientes con CM HER2-positivo tratadas con esquemas de trastuzumab. El alelo T del polimorfismo ABCB1-C3435T demostró ser un buen factor pronóstico para la resistencia, SLP y SG en estas pacientes.

La asociación del polimorfismo ABCB1-C3435T con los resultados del tratamiento en pacientes con CM tratados con quimioterapia neoadyuvantese sugirió inicialmente en un estudio de 68 pacientes con CM localmente avanzado, que mostró una mejor RC clínica en pacientes portadoras del genotipo TT de ABCB1-C3435T (OR: 4.38, IC 95%: 1.2-16.1, p=0.029) (Tabla 19)(84).

## DISCUSIÓN

Tabla 19. Resultados clínicos de pacientes con CM según los polimorfismos de ABCB1.

Referencia	SNP	Pacientes	N	Fármaco	Respuesta	SLP	SG
Kafka et al. 2003	C3435T	CMLA	68	QTNA	cRC (TT vs CT) 87% vs 62% cRC (TT vs CC) 87% vs 64% OR:4.38; CI 95% (1.2-16.1); p=0.029	No datos	No datos
Chen et al. 2012	C3435T	CMLA CMM	464	QTNA	NS	No datos	No datos
Wu et al. 2012	C3435T C1236T G2677T/A	CM	148	QTNA	3435 alelo T- vs CC (43.4% vs 23.8%; OR:2.695; p=0.02) Haplotipo 3435T-1236T-2677T (63.6% vs 20%; OR:8.064; IC <sub>95%</sub> : 1.085-58.823; p=0.041).	Genotipo 3435-CC: (HR:1.664; IC <sub>95%</sub> : 1.022- 2.708, p=0.041).	No datos
Tulsyan et al. 2014	C3435T C1236T G2677T/A	CM	58	QTNA	ABCB1 1236, 2677, 3435, CYP3A5*3 y CYP1B1*3 genotipo combinado (p=0.024) (57.4% vs 81.8%; OR <sub>no-respondedores/respondedores</sub> : 3.33; p=0.150)	No datos	No datos
Ji et al. 2012	C3435T C1236T G2677T/A	CM	153	QTNA	Genotipo 3435-TT vs alelo C (33.3 vs 71.2%; p=0.001). Haplotipo 3435T-1236T (59.8% vs 82.9%; p=0.011) Haplotipo 3435T-1236T-2677T (58% vs 77.4%; p=0.019)	No datos	No datos
Chaturvedi et al. 2013	C1236T	CM	100	QTNA	T-alelo vs CC (58.3% vs 85%; OR <sub>no-respondedores/respondedores</sub> : 4.63; p=0.021) genotipo CT respuesta (OR=5.17; p=0.018) Modelo dominante (OR:4.67; p=0.021)	No datos	No datos
Agarwal et al. 2015	C3435T C1236T G2677T/A	CM	111	QTNA	1236 CT genotipo: no respondedores vs respondedores (51.1% vs 37.9%; p=0.013).	No datos	No datos
Kim et al. 2012	C1236T G2677T/A	HER2+ CMM	57	ADY + TRAST	No datos	2677 T-portadores: mayor SLP (p=0.037) genotipo 3435 CC: SLP + corta (p=0.039) 1236 CC y/o 2677 TT: SLP + larga (p=0.006)	No datos
Chang et al. 2009	C3435T G2677T/A	CMM	108	ADY	No datos	NS	genotipo 3435 CC (13.6 vs 18.5 meses; p=0.06).
Kim et al. 2015	C3435T	CM	216	QTNA	No datos	No datos	genotipo TT vs C-alelo: + larga SG (HR:0.223; p=0.024)
ADY (Quimioterapia adyuvante), cRC: Respuesta Completa clínica, CM (cancer mama), CMM (cancer mama metastásico), QTNA: Quimioterapia neoadyuvante, NS: No asociación significativa, SLP (Supervivencia libre de progresión), SG (Supervivencia global), TRAST (trastuzumab)							

Otros estudios han mostrado resultados contradictorios. En nuestras pacientes, el polimorfismo del gen ABCB1-C3435T no influyó en la respuesta al tratamiento, como se demostró en un metaanálisis que incluía 464 pacientes (40) y en otro posterior que incluía (608) (43). Otros estudios han intentado refutar esta falta de asociación con la respuesta al tratamiento, pero no han logrado encontrar consistencia en el efecto del alelo T sobre el resultado clínico. En un estudio de pacientes chinas con CM, las que presentaron el alelo T de ABCB1-C3435T mostraron una respuesta mejorada a quimioterapia neoadyuvante (43.4% vs 23.8%, OR: 2.695,  $p=0.02$ , (Tabla 19)(41). Este efecto fue particularmente incrementado en pacientes que presentaron el haplotipo 3435T-1236T-2677T (63.6% vs 20%, OR: 8.064; IC 95%: 1.085-58.823;  $p = 0.041$ ) (41,48)(Tabla 19).

Por otro lado, las pacientes con genotipo TT de ABCB1-C3435T mostraron peor respuesta a quimioterapia neoadyuvante (33.3 vs 71.2%,  $p=0.001$ ) (Tabla 19)(42). Los haplotipos ABCB1 3435T-1236T y 3435T-1236T-2677T también mostraron tasas de respuesta más bajas (59.8% vs 82.9%,  $p=0.011$  y 58% vs 77.4%,  $p=0.019$ , respectivamente).

Otros polimorfismos en ABCB1 se han explorado como biomarcadores de respuesta. El alelo T del polimorfismo del gen ABCB1-C1236T se asoció con una peor respuesta (58.3% vs 85%, OR no-respondedores/respondedores: 4.63;  $p=0.021$ ) en 100 pacientes con CM de la India tratados con quimioterapia neoadyuvante (fluorouracilo, ciclofosfamida más epirubicina o doxorubicina)(43,47). Una tendencia similar fue demostrada por las portadoras del alelo T en una pequeña cohorte de 58 pacientes tratadas con quimioterapia neoadyuvante (57.4% frente a 81.8%, OR no respondedores/respondedores: 3.33;  $p = 0.150$ ), pero sin asociación estadísticamente significativa, probablemente debido al pequeño tamaño de la muestra(48) (Tabla 19). Un metaanálisis realizado por este grupo de investigación, que incluyó 3 estudios (373 pacientes), encontró una tendencia a la respuesta a la quimioterapia en pacientes con CM (OR: 1.77; IC 95%: 1.01-3-10;  $p = 0.05$ ). En nuestras pacientes, el polimorfismo genético ABCB1-C1236T no influyó en la respuesta ni en ningún otro resultado clínico.

## DISCUSIÓN

---

El efecto protector del alelo T de ABCB1-C3435T en la SLP se demuestra más consistentemente entre todos los estudios. En nuestras pacientes, el genotipo CC de ABCB1-C3435T se asoció a una peor SLP (Tabla 14), como ocurrió en 762 pacientes con CM después de un tratamiento con quimioterapia basada en antraciclinas (HR: 1.664; IC 95%: 1.022-2.708;  $p=0.041$ ) (41). Los resultados fueron similares para 57 pacientes con CMMHER2-positivas tratadas con taxanos más trastuzumab ( $p=0.039$ ), que también mostraron una SLP más prolongada en las portadoras de ABCB1 2677-T y 1236-CC y/o 2677-TT ( $p = 0.037$  y  $p = 0.006$ , respectivamente) (34). Sin embargo, el polimorfismo ABCB1-C3435T no influyó en la SLP en 108 pacientes MBC tratadas con antraciclinas y paclitaxel(46). Además, ni las variantes de ABCB1-C1236T o G2677T/A mostraron asociación con SLP/SG en 762 pacientes tratadas con quimioterapia neoadyuvante basada en antraciclina(41)(Tabla 19).

En cuanto a la SG, nuestro estudio también ha confirmado el buen pronóstico del efecto del alelo T de ABCB1-C3435T en pacientes con CM. Las pacientes con genotipo ABCB1-3435TT mostraron un SG más larga (HR: 0.12;  $p = 0.0398$ ), como se ha visto recientemente en 216 pacientes con CM tratadas con quimioterapia neoadyuvante (HR: 0.223;  $p = 0.024$ )(45). En nuestras pacientes, el análisis multivariante demostró que el polimorfismo ABCB1-C3435T es el único factor independiente asociado a la SG, mientras que el estudio de Kim et al. se perdió la significación estadística tras el ajuste por ECOG, histología, receptor triple negativo, estadio inicial del fenotipo y respuesta patológica. Sin embargo, el efecto protector del alelo T se mantuvo, mostrando una tendencia similar hacia una SG más larga en pacientes con genotipo ABCB1-3435 TT (HR: 0.245;  $p = 0.054$ )(45). Sólo un estudio ha intentado cuestionar el papel protector del alelo T de ABCB1-C3435T en la supervivencia de las pacientes con CM. Las pacientes con genotipo CT de ABCB1-C3435T mostraron una tendencia a una SG más corta en comparación con las pacientes con genotipo CC de ABCB1-C3435T (13.6 vs 18.5 meses;  $p=0.06$ ) en 108 pacientes con CMM tratadas con antraciclinas y paclitaxel (Tabla 19)(46). En el análisis multivariante, el genotipo CT de ABCB1-C3435T dio como resultado un factor independiente

de mal pronóstico (HR: 3.51;  $p=0.026$ ). Sin embargo, en este estudio, los datos de laHR relacionada con las pacientes que presentaron genotipo TT no fueron revelados; por lo tanto, el efecto global del alelo T en esta población no pudo ser evaluado.

CCND1 es con frecuencia mutado, amplificado y sobreexpresado en pacientes con CM(51,85). El polimorfismo genético CCND1-A870G se ha relacionado con el aumento de la expresión de CCND1 (51). Nuestras pacientes que presentaron el alelo A del polimorfismo CCND1-rs9344 tendieron a tener tasas de respuesta más altas (92.7% vs 75.0%, IC 95%: 0.99-1.55;  $p=0.0562$ ) como se describió en 234 pacientes con CM HER2-positivo tratadas previamente con antraciclinas, taxanos y trastuzumab cuando se añadió lapatinib a capecitabina (35% frente a 11%,  $p=0.001$ ). Estas pacientes también mostraron una mayor mediana al tiempo a la progresión(7.9 vs 3.4 meses,  $p <0.001$ ) (54). En consonancia con estos datos, la supervivencia fue particularmente mayor en pacientes con CM que presentaron el genotipo AA CCND1-rs9344 con estadio III-IV o tumores con receptores de estrógeno/progesterona negativos, de acuerdo con los resultados del ShanghaiBreastCancerStudy, compuesto por 1130 casos y 1196 controles (52). Las HR ajustadas para SLE asociadas con el genotipo AA fueron de 0.41; IC 95%: 0.19-0.91 para estadios III/IV y 0.35 (IC 95%: 0,15-0,80) y 0.32 (IC 95%: 0,13-0,79) para RE/RP negativos de pacientes con CM GA y AA, respectivamente. Una tendencia similar fue observada para la SG. Sin embargo, CCND1-rs9344 no se asoció a SLEoSG en 216 pacientes con CM y ganglios linfáticos positivos (53), como se describe en nuestra cohorte.

La asociación entre el polimorfismo Ile655Val y el riesgo a sufrir CMha sido estudiado, pero los resultados son contradictorios (59-61), y su influencia en el resultado clínico a esquemas de trastuzumab ha sido escasamente explorado (32). Las pacientes portadores del alelo Val presentaron mejor SLE (SLEa 5 años 100% vs 83%,  $p=0.008$ ) y SLE a distancia (SLEa 5 años 100% vs 89%,  $p=0.031$ ) en 212 pacientes con CM HER2-positivo tratadas con quimioterapia y trastuzumab(32). En nuestras pacientes, este polimorfismo no mostró influencia en ningún resultado clínico.

La resistencia a los esquemas de trastuzumab fue uno de los principales objetivos de este estudio. El alelo T de ABCB1-C3435T tuvo un efecto protector sobre la resistencia en contraste con los resultados de Chang et al. (46) que no pudo encontrar una asociación entre los polimorfismos ABCB1 y la resistencia en 108 pacientes con CMM tratadas con antraciclinas y paclitaxel. En la cohorte de Chang et al. (46), el mayor porcentaje de pacientes resistentes y el hecho de que todas eran metastásicas pudo haber sido la causa de esta diferencia.

La principal limitación de nuestro estudio es el tamaño muestral, que puede haber sido responsable de la falta de asociación de algunos SNPs. A pesar del limitado tamaño de la muestra, el valor pronóstico del polimorfismo del gen ABCB1-C3435T para predecir los resultados clínicos en estos pacientes fue evidente. Sin embargo, estudios adicionales con muestras más amplias ayudarían a confirmar estos resultados.

En resumen, el presente estudio y otros muestran una asociación del polimorfismo del gen ABCB1-C3435T sobre los resultados clínicos en pacientes con CM, que colocan a ABCB1 como un biomarcador pronóstico a los esquemas de trastuzumab.

En cuanto a la influencia de los polimorfismos en ABCB1 sobre la respuesta a esquemas de trastuzumab, nuestro estudio no consiguió encontrar una asociación. Tras realizar un metaanálisis para aumentar la precisión de esta medida, y resolver la limitación del tamaño muestral, los resultados de la evaluación de 9 estudios que incluían 770 pacientes, confirmaron la ausencia de la asociación entre la respuesta a la quimioterapia y ABCB1-C3435T. Estos resultados están en concordancia con lo publicado por Chen et al. (40) y Chaturvedi et al. (43). El metaanálisis de Chen et al. comprendió 7 estudios (464 pacientes), tres de los cuales fueron desarrollados en caucásicos, 3 en asiáticos y uno en etnia mixta (brasileños). Todos sus pacientes padecían CM en estadios avanzados (6 CMLA y 1 CMM), y el tamaño muestral de los estudios variaba entre 19-119 casos. El metaanálisis de Chaturvedi et al. incluyó 608 pacientes y 8 estudios. Todos ellos estaban incluidos en el metaanálisis de

Chenet al., excepto el estudio de Ji et al.(42)realizado en asiáticos, y los datos de su propio estudio en una población india(43).

El hecho de que este polimorfismo sí esté asociado con resistencia y SLP y SG, pero no con respuesta, nos hace pensar que el efecto podría estar relacionado con el tiempo. Las pacientes de nuestro estudio en un alto porcentaje presentaron estadios tempranos de CM y sus tasas de respuesta fueron muy altas (RC + RP: 86.7%) sin haber diferencia en los genotipos, sin embargo cuando hablamos de SLP,aproximadamente a los 20 meses el 57.1% de las pacientes con genotipo CC habían progresado mientras que las pacientes con genotipo TT habían progresado en un 27.5% (Figura 6). En cuanto a la SG, las pacientes portadoras del genotipo TT presentaron una SG del 85% aproximadamente a los 60 meses y este efecto se mantuvo hasta el final del estudio. Las pacientes con genotipo CC experimentaron una drástica bajada de la SG a partir de los 70 meses de un 51.1%, a un 25.5% a los 80 meses (Figura 7). Por eso podemos decir que el alelo T es un buen factor pronóstico de SLP y SG.Un metaanálisis que evalúe la resistencia, SLP y SG en pacientes con CM en función de los distintos modelos del polimorfismo ABCB1-C3435T podría ser útil para establecer si los resultados obtenidos en nuestro estudio se pueden extrapolar.

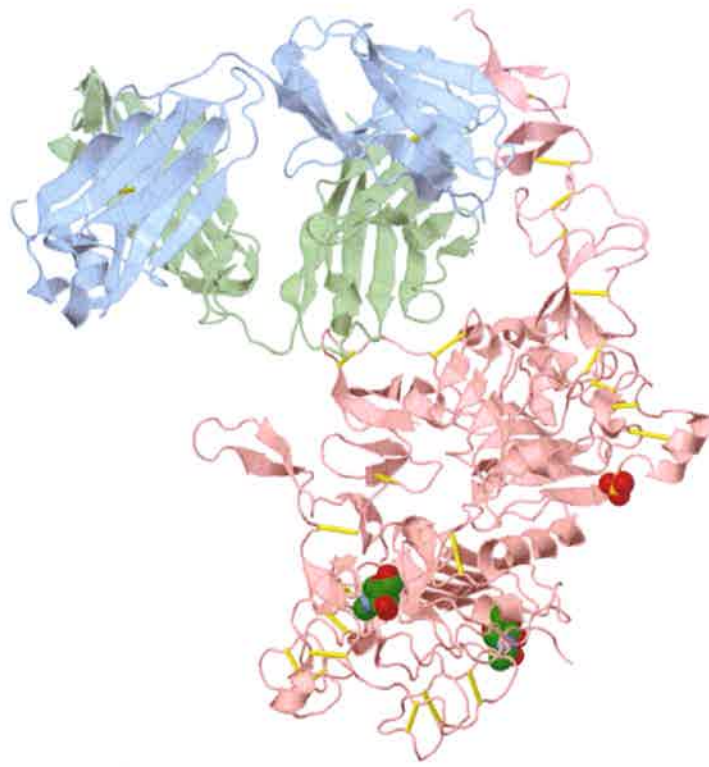
En nuestro metaanálisis el análisis por estratos tampoco ha mostrado asociación en el análisis por tipos de cáncer (primario + todos los tipos de cáncer vs CMLA + CMM) en ningún modelo genético del polimorfismo ABCB1-C3435T y la respuesta a la quimioterapia con una gran heterogeneidad especialmente en el subgrupo de pacientes con CMLA + CMM( $I^2 = 46.0\%$ ;  $p = 0.099$ ).

En cuanto a ABCB1-C1236T tampoco se encontró en el metaanálisis asociación entre la respuesta a la quimioterapia y los distintos modelos genéticos.La estratificación por etnia, tipo de cáncer y criterio de evaluación de la respuesta no aportó información sobre la posible influencia de estas variables en la respuesta a quimioterapia en pacientes con CM. Este dato está en línea con el metaanálisis realizado por el grupo de investigación de la India que



comprendió 3 estudios, 2 en asiáticos y el suyo en población india incluyendo 373 pacientes. No encontraron una asociación entre el polimorfismo ABCB1-C1236T y la respuesta a la quimioterapia en pacientes con CM pero sí una tendencia (OR: 1.77; IC 95%: 1.01-3.10;  $p = 0.05$ ) (43). Nuestro metaanálisis incluyó todos los estudios hasta la fecha con un total de 5 estudios y 566 pacientes aumentando la potencia del estudio y por lo tanto confirmando la no asociación de este polimorfismo con la respuesta a la quimioterapia en pacientes con CM.

En nuestro metaanálisis, una limitación es la alta heterogeneidad que se ha encontrado en las distintas comparaciones, sobre todo en relación al polimorfismo ABCB1-C1236T. Esta heterogeneidad podría ser debida a que el análisis abarca pocos estudios (5 en el global), número que en el análisis de subgrupos en ocasiones se reduce a comparaciones de 2 estudios.

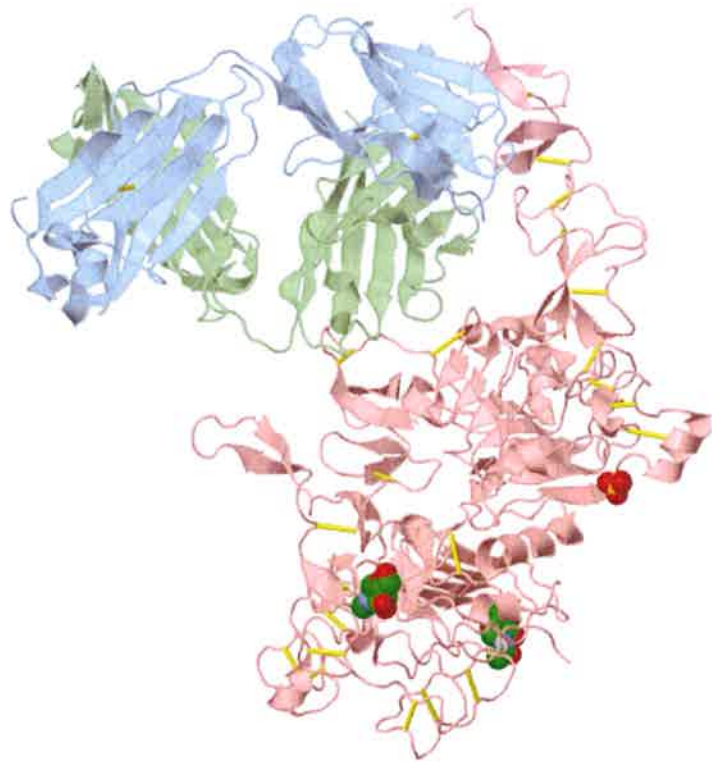


## CONCLUSIONES



### 7. CONCLUSIONES

5. El alelo T del polimorfismo del gen ABCB1-C3435T ha demostrado ser un buen factor de pronóstico para la resistencia, exitus, progresión, SLP y SG en las pacientes con CM HER2-positivo.
6. Los polimorfismos ABCB1-C1236T, CCND1-A870G y HER2-Ile655Val no se asociaron a la resistencia, respuesta, SLP y SGen las pacientes con CM HER2-positivo.
7. El polimorfismo del gen ABCB1-C3435T no se asoció a la respuesta a esquemas con trastuzumab en nuestras pacientes con CM HER2-positivo, efecto que fue confirmado en un metaanálisis de 9 estudios.
8. El metaanálisis de 5 estudios confirmó la ausencia de asociación entre ABCB1-C1236T y la respuesta a la quimioterapia.



## REFERENCIAS



**8. REFERENCIAS**

1. WHO. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN 2012 [Internet]. globocan.iarc.fr. [cited 2014 Aug 7]. Available from: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)
2. El Cáncer en España 2014 [Internet]. seom.org. [cited 2016 Sep 8]. Available from: <http://www.seom.org/es/prensa/el-cancer-en-espanyacom/104582-el-cancer-en-espana-2014>
3. Factores de riesgo del cáncer de mama. AECC [Internet]. aecc.es. [cited 2016 Dec 27]. Available from: <https://www.aecc.es/SOBREELCANCER/CANCERPORLOCALIZACION/CANCERMAMA/PREVENCIÓN/Paginas/factoresderiesgo.aspx>
4. Síntomas cáncer de mama. AECC [Internet]. aecc.es. [cited 2012 Aug 29]. Available from: <https://www.aecc.es/SobreElCancer>
5. WHO. Pathology and Genetics of Tumours of the Breast and Female Genital Organs. WHO Classification of Tumours. Chapter 1:Tumours of the Breast [Internet]. iarc.fr. [cited 2016 Dec 1]. Available from: <http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb4/bb4-chap1.pdf>
6. Dueñas García M, Sánchez-Muñoz A, Sánchez Rovira P. Papel del oncólogo en el diagnóstico y el seguimiento del cáncer. Primer libro blanco de la oncología médica en España. SEOM [Internet]. Dispublic SL, editor. seom.org. 2007 [cited 2016 Nov 7]. pp. 133–55. Available from:

[http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/sociosyprofs/planif\\_oncologica\\_esp](http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/sociosyprofs/planif_oncologica_esp)

## REFERENCIAS

---

- ana/libroblanco.pdf
7. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol*. 2010 Jun;17(6):1471–4.
  8. Álvarez Hernández C, Vich Pérez P, Brusint B, Cuadrado Rouco C, Díaz García N, Robles Díaz L. Actualización del cáncer de mama en Atención Primaria (III/V). *SEMERGEN - Medicina de Familia*. 2014 Nov;40(8):460–72.
  9. Perou CM, Sørbye T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000 Aug 17;406(6797):747–52.
  10. Yu K, Lee CH, Tan PH, Tan P. Conservation of breast cancer molecular subtypes and transcriptional patterns of tumor progression across distinct ethnic populations. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2004 Aug 15;10(16):5508–17.
  11. Weigelt B, Hu Z, He X, Livasy C, Carey LA, Ewend MG, et al. Molecular portraits and 70-gene prognosis signature are preserved throughout the metastatic process of breast cancer. *Cancer Res*. 2005 Oct 15;65(20):9155–8.
  12. Hudis CA. Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med*. 2007 Jul 5;357(1):39–51.
  13. Cho H-S, Mason K, Ramyar KX, Stanley AM, Gabelli SB, Denney DW, et al. Structure of the extracellular region of HER2 alone and in complex with the Herceptin Fab. *Nature*. 2003 Feb 13;421(6924):756–60.
  14. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol*.



## REFERENCIAS

---

- 2001 Feb;2(2):127–37.
15. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987 Jan 9;235(4785):177–82.
  16. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, Ullrich A, McGuire WL. HER-2/neu oncogene protein and prognosis in breast cancer. *J Clin Oncol*. 1989 Aug;7(8):1120–8.
  17. 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. *N Engl J Med*. 2001 Mar 15;344(11):783–92.
  18. Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J. Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol Med*. 2001 May;7(5):201–4.
  19. 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 Sep;17(9):2639–48.
  20. AEMyPS. Ficha técnica Herceptin. AEMPS - Centro de Información online de Medicamentos de la AEMPS (CIMA) - Buscador principal [Internet]. *agemed.es*. [cited 2013 Feb 27]. Available from: <http://www.agemed.es>
  21. Izumi Y, Xu L, di Tomaso E, Fukumura D, Jain RK. Tumour biology: herceptin acts as an anti-angiogenic cocktail. *Nature*. 2002 Mar 21;416(6878):279–80.
  22. Albanell J, Codony J, Rovira A, Mellado B, Gascón P. Mechanism of action of anti-HER2

## REFERENCIAS

---

- monoclonal antibodies: scientific update on trastuzumab and 2C4. *Adv Exp Med Biol.* 2003;532:253–68.
23. Baselga J, Tripathy D, Mendelsohn J, Baughman S, Benz CC, Dantis L, et al. Phase II study of weekly intravenous recombinant humanized anti-p185HER2 monoclonal antibody in patients with HER2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 1996 Mar;14(3):737–44.
24. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, Gutheil JC, Harris LN, Fehrenbacher L, et al. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2002 Feb 1;20(3):719–26.
25. Slamon D, Eiermann W, Robert N, Pienkowski T, Martín M, Press M, et al. Adjuvant trastuzumab in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med.* 2011 Oct 6;365(14):1273–83.
26. 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 Sep 1;25(25):3853–8.
27. 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 Mar;61(3):509–14.
28. Lee YR, Huh SJ, Lee DH, Yoon HH, Seol Y-M, Choi Y-J, et al. Phase II Study of Vinorelbine Plus Trastuzumab in HER2 Overexpressing Metastatic Breast Cancer Pretreated with Anthracyclines and Taxanes. *J Breast Cancer.* 2011 Jun;14(2):140–6.
29. Dawood S, Broglio K, Buzdar AU, Hortobagyi GN, Giordano SH. Prognosis of women

## REFERENCIAS

---

- with metastatic breast cancer by HER2 status and trastuzumab treatment: an institutional-based review. *J Clin Oncol*. 2010 Jan 1;28(1):92–8.
30. 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 Feb;22(2):128–35.
31. 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. *The Oncologist*. 2008 Jun;13(6):620–30.
32. Han X, Diao L, Xu Y, Xue W, Ouyang T, Li J, et al. Association between the HER2 Ile655Val polymorphism and response to trastuzumab in women with operable primary breast cancer. *Annals of Oncology*. 2014 Jun;25(6):1158–64.
33. Tanioka M, Sakai K, Sudo T, Sakuma T, Kajimoto K, Hirokaga K, et al. Transcriptional CCND1 expression as a predictor of poor response to neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab in HER2-positive/ER-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Sep 9.
34. Kim J-W, Kim JH, Im S-A, Kim YJ, Han H-S, Kim J-S, 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.
35. Madrid Paredes A, Cañadas-Garre M, Sánchez-Pozo A, Calleja-Hernández MÁ. De novo resistance biomarkers to anti-HER2 therapies in HER2-positive breast cancer. *Pharmacogenomics*. 2015 Aug 10;:1–16.
36. Madrid Paredes A, Cañadas-Garre M, Sánchez-Pozo A, Calleja-Hernández MÁ. Non-

## REFERENCIAS

---

- HER2 signaling pathways activated in resistance to anti-HER2 therapy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* Springer US; 2015 Sep 23;:1–13.
37. Zhou S-F. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition. *Xenobiotica.* 2008 Jul;38(7-8):802–32.
38. Leonessa F, Clarke R. ATP binding cassette transporters and drug resistance in breast cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2003 Mar;10(1):43–73.
39. Brambila-Tapia AJ-L. MDR1 (ABCB1) polymorphisms: functional effects and clinical implications. *Rev Invest Clin.* 2013 Sep;65(5):445–54.
40. Chen G, Quan S, Hu Q, Wang L, Xia X, Wu J. Lack of association between MDR1 C3435T polymorphism and chemotherapy response in advanced breast cancer patients: evidence from current studies. *Mol Biol Rep.* 2012 May;39(5):5161–8.
41. Wu H, Kang H, Liu Y, Tong W, Liu D, Yang X, et al. Roles of ABCB1 gene polymorphisms and haplotype in susceptibility to breast carcinoma risk and clinical outcomes. *J Cancer Res Clin Oncol* [Internet]. 2012 Sep;138(9):1449–62. Available from: <http://gerion.greendata.es:443/sfxlcl3?sid=EMBASE&issn=01715216&id=doi:10.1007%2Fs00432-012-1209-z&atitle=Roles+of+ABCB1+gene+polymorphisms+and+haplotype+in+susceptibility+to+breast+carcinoma+risk+and+clinical+outcomes&stitle=J.+Cancer+Res.+Clin.+Oncol.&title=Journal+of+Cancer+Research+and+Clinical+Oncology&volume=138&issue=9&page=1449&epage=1462&aualast=Wu&aufirst=Huizhe&aunit=H.&aufull=Wu+H.&coden=JCROD&isbn=&pages=1449-1462&date=2012&aunit1=H&aunitm=>
42. Ji M, Tang J, Zhao J, Xu B, Qin J, Lu J. Polymorphisms in genes involved in drug detoxification and clinical outcomes of anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy

## REFERENCIAS

---

- in Chinese Han breast cancer patients. *Cancer Biol Ther.* 2012 Mar;13(5):264–71.
43. Chaturvedi P, Tulsyan S, Agarwal G, Lal P, Agarwal S, Mittal RD, et al. Influence of ABCB1 genetic variants in breast cancer treatment outcomes. *Cancer Epidemiol.* Elsevier Ltd; 2013 Oct 1;37(5):754–61.
44. Ghafouri H, Ghaderi B, Amini S, Nikkhoo B, Abdi M, Hoseini A. Association of ABCB1 and ABCG2 single nucleotide polymorphisms with clinical findings and response to chemotherapy treatments in Kurdish patients with breast cancer. *Tumour Biol.* 2016 Jun;37(6):7901–6.
45. Kim H-J, Im S-A, Keam B, Ham HS, Lee K-H, Kim T-Y, et al. ABCB1 polymorphism as prognostic factor in breast cancer patients treated with docetaxel and doxorubicin neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Sci.* 2015 Jan;106(1):86–93.
46. Chang H, Rha SY, Jeung H-C, Im C-K, Ahn JB, Kwon WS, et al. Association of the ABCB1 gene polymorphisms 2677G>T/A and 3435C>T with clinical outcomes of paclitaxel monotherapy in metastatic breast cancer patients. *Annals of Oncology.* 2009 Feb;20(2):272–7.
47. Agarwal G, Tulsyan S, Lal P, Mittal B. Generalized Multifactor Dimensionality Reduction (GMDR) Analysis of Drug-Metabolizing Enzyme-Encoding Gene Polymorphisms may Predict Treatment Outcomes in Indian Breast Cancer Patients. *World Journal of Surgery.* Springer International Publishing; 2015 Oct 24;:1–11.
48. Tulsyan S, Chaturvedi P, Singh AK, Agarwal G, Lal P, Agrawal S, et al. Assessment of clinical outcomes in breast cancer patients treated with taxanes: multi-analytical approach. *Gene* [Internet]. 2014 Jun 10;543(1):69–75. Available from: [http://gerion.greendata.es:443/sfxIcl3?sid=EMBASE&issn=18790038&id=doi:10.1016%](http://gerion.greendata.es:443/sfxIcl3?sid=EMBASE&issn=18790038&id=doi:10.1016%2014061054316975)

- 2Fj.gene.2014.04.004&atitle=Assessment+of+clinical+outcomes+in+breast+cancer+patients+treated+with+taxanes%3A+Multi-analytical+approach&stitle=Gene&title=Gene&volume=543&issue=1&spage=69&epage=75&aulast=Tulsyan&aufirst=Sonam&aunit=S.&aufull=Tulsyan+S.&coden=GENED&isbn=&pages=69-75&date=2014&aunit1=S&aunitm=
49. Lévy P, Gligorov J, Antoine M, Rezai K, Lévy E, Selle F, et al. Influence of ABCB1 polymorphisms and docetaxel pharmacokinetics on pathological response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* [Internet]. 2013 Jun;139(2):421–8. Available from: <http://gerion.greendata.es:443/sfxlcl3?sid=EMBASE&issn=01676806&id=doi:10.1007%2Fs10549-013-2545-7&atitle=Influence+of+ABCB1+polymorphisms+and+docetaxel+pharmacokinetics+on+pathological+response+to+neoadjuvant+chemotherapy+in+breast+cancer+patients&stitle=Breast+Cancer+Res.+Treat.&title=Breast+Cancer+Research+and+Treatment&volume=139&issue=2&spage=421&epage=428&aulast=L%C3%A9vy&aufirst=Pierre&aunit=P.&aufull=L%C3%A9vy+P.&coden=BCTRD&isbn=&pages=421-428&date=2013&aunit1=P&aunitm=>
50. Tecza K, Pamula-Pilat J, Lanuszewska J, Grzybowska E. Genetic polymorphisms and response to 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer patients. *Oncotarget*. 2016 Aug 4.
51. Ewen ME, Sluss HK, Sherr CJ, Matsushime H, Kato J, Livingston DM. Functional interactions of the retinoblastoma protein with mammalian D-type cyclins. *Cell*. 1993 May 7;73(3):487–97.
52. Shu XO, Moore DB, Cai Q, Cheng J, Wen W, Pierce L, et al. Association of cyclin D1

## REFERENCIAS

---

- genotype with breast cancer risk and survival. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005 Jan;14(1):91–7.
53. Knechtel G, Hofmann G, Gerger A, Renner W, Langsenlehner T, Szkandera J, et al. Analysis of common germline polymorphisms as prognostic factors in patients with lymph node-positive breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2010 Dec;136(12):1813–9.
54. Labonte MJ, Wilson PM, Yang D, Zhang W, Ladner RD, Ning Y, et al. The Cyclin D1 (CCND1) A870G polymorphism predicts clinical outcome to lapatinib and capecitabine in HER2-positive metastatic breast cancer. *Annals of Oncology.* 2012 Jun;23(6):1455–64.
55. Lien H-C, Chen Y-L, Juang Y-L, Jeng Y-M. Frequent alterations of HER2 through mutation, amplification, or overexpression in pleomorphic lobular carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res Treat.* 2015 Apr;150(2):447–55.
56. Arteaga CL, Engelman JA. ERBB receptors: from oncogene discovery to basic science to mechanism-based cancer therapeutics. *Cancer Cell.* 2014 Mar 16;25(3):282–303.
57. Fleishman SJ, Schlessinger J, Ben-Tal N. A putative molecular-activation switch in the transmembrane domain of erbB2. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002 Dec 9;99(25):15937–40.
58. Takano K, Ogasahara K, Kaneda H, Yamagata Y, Fujii S, Kanaya E, et al. Contribution of hydrophobic residues to the stability of human lysozyme: calorimetric studies and X-ray structural analysis of the five isoleucine to valine mutants. *J Mol Biol.* 1995 Nov 16;254(1):62–76.
59. 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. *JNCI Journal of the National Cancer Institute.* 2000 Feb 29;92(5):412–7.

## REFERENCIAS

---

60. Tao W, Wang C, Han R, Jiang H. HER2 codon 655 polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2009 Feb 28;114(2):371–6.
61. 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* [Internet]. 2010 Jun 4;125(1):237–41. Available from: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=20524057&retmode=ref&cmd=prlinks>
62. Robinson AG, Turbin D, Thomson T, Yorida E, Ellard S, Bajdik C, et al. Molecular predictive factors in patients receiving trastuzumab-based chemotherapy for metastatic disease. *CLBC*. 2006 Aug;7(3):254–61.
63. Wang SE, Xiang B, Guix M, Olivares MG, Parker J, Chung CH, et al. Transforming growth factor beta engages TACE and ErbB3 to activate phosphatidylinositol-3 kinase/Akt in ErbB2-overexpressing breast cancer and desensitizes cells to trastuzumab. *Mol Cell Biol*. 2008 Sep;28(18):5605–20.
64. Straussman R, Morikawa T, Shee K, Barzily-Rokni M, Qian ZR, Du J, et al. Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. *Nature*. 2012 Jul 26;487(7408):500–4.
65. Wheeler DL, Iida M, Dunn EF. The role of Src in solid tumors. *The Oncologist*. 2009 Jul;14(7):667–78.
66. Cheng H, Ballman K, Vassilakopoulou M, Dueck AC, Reinholz MM, Tenner K, et al. EGFR expression is associated with decreased benefit from trastuzumab in the NCCTG N9831 (Alliance) trial. *Br J Cancer*. 2014 Sep 9;111(6):1065–71.



## REFERENCIAS

---

67. Nahta R, Yuan LXH, Zhang B, Kobayashi R, Esteva FJ. Insulin-like growth factor-I receptor/human epidermal growth factor receptor 2 heterodimerization contributes to trastuzumab resistance of breast cancer cells. *Cancer Res.* 2005 Dec 1;65(23):11118–28.
68. Lee HJ, Seo AN, Kim EJ, Jang MH, Kim YJ, Kim JH, et al. Prognostic and predictive values of EGFR overexpression and EGFR copy number alteration in HER2-positive breast cancer. *Br J Cancer.* 2015 Jan 6;112(1):103–11.
69. Shattuck DL, Miller JK, Carraway KL, Sweeney C. Met receptor contributes to trastuzumab resistance of Her2-overexpressing breast cancer cells. *Cancer Res.* 2008 Mar 1;68(5):1471–7.
70. Vaught D, Brantley-Sieders DM, Chen J. Eph receptors in breast cancer: roles in tumor promotion and tumor suppression. *Breast Cancer Res.* 2008;10(6):217.
71. Liang K, Esteva FJ, Albarracin C, Stemke-Hale K, Lu Y, Bianchini G, et al. Recombinant human erythropoietin antagonizes trastuzumab treatment of breast cancer cells via Jak2-mediated Src activation and PTEN inactivation. *Cancer Cell.* 2010 Nov 16;18(5):423–35.
72. Montemurro F, Prat A, Rossi V, Valabrega G, Sperinde J, Peraldo-Neia C, et al. Potential biomarkers of long-term benefit from single-agent trastuzumab or lapatinib in HER2-positive metastatic breast cancer. *Mol Oncol.* 2014 Feb;8(1):20–6.
73. Prempree T, Wongpaksa C. Mutations of HER2 gene in HER2-positive metastatic breast cancer. *ASCO Meeting Abstracts.* 2006 Jun 20;24(18\_suppl):13118.
74. Grob T, M S, A Q, A M, Sauter G. Concomitant mutation and amplification of the ERBB2 (HER2) gene in human tumors. [Internet]. Vol. 32, *J Clin Oncol.* [cited 2014 Nov 21]. pp. suppl–abstr11071. Available from: <http://meetinglibrary.asco.org/content/133558-144>

## REFERENCIAS

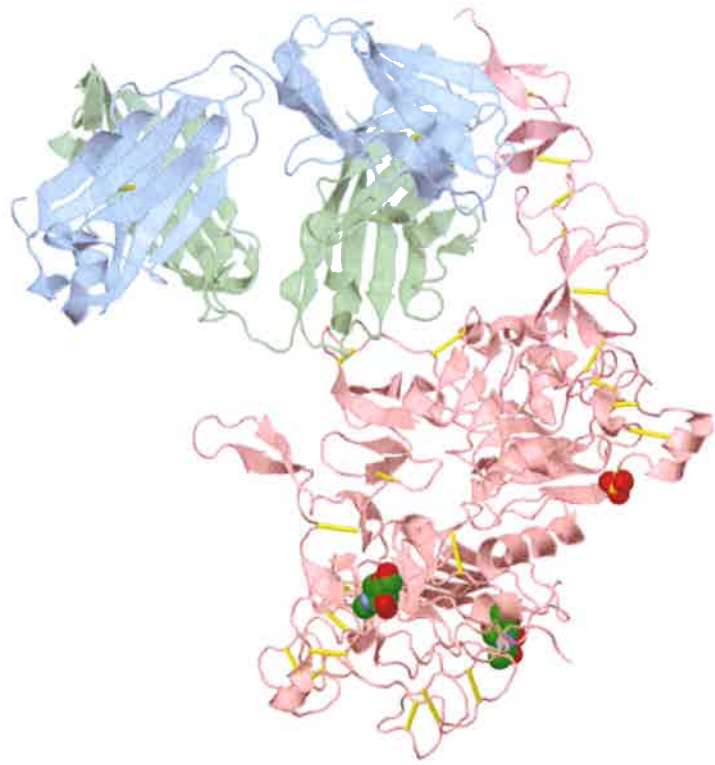
---

75. Brunetto E, Ferrara AM, Rampoldi F, Talarico A, Cin ED, Grassini G, et al. CDC25A protein stability represents a previously unrecognized target of HER2 signaling in human breast cancer: implication for a potential clinical relevance in trastuzumab treatment. *Neoplasia*. 2013 Jun;15(6):579–90.
76. Pandey JP, Namboodiri AM, Kistner-Griffin E, Iwasaki M, Kasuga Y, Hamada GS, et al. Racially restricted contribution of immunoglobulin Fc $\gamma$  and Fc $\gamma$  receptor genotypes to humoral immunity to human epidermal growth factor receptor 2 in breast cancer. *Clin Exp Immunol*. 2013 Mar;171(3):273–7.
77. Pandey JP, Kistner-Griffin E, Black L, Namboodiri AM, Iwasaki M, Kasuga Y, et al. IGKC and Fc $\gamma$ R genotypes and humoral immunity to HER2 in breast cancer. *Immunobiology*. 2014 Feb;219(2):113–7.
78. 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). Vol. 45, *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*. 2009. pp. 228–47.
79. Bevers TB, Anderson BO, Bonaccio E, Buys S, Buys S, Daly MB, et al. NCCN clinical practice guidelines in oncology: breast cancer screening and diagnosis. Vol. 7, *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*. 2009. pp. 1060–96.
80. R: The R Project for Statistical Computing [Internet]. R-project.org. [cited 2016 Nov 16]. Available from: <http://www.R-project.org/>.
81. Rodriguez S, Gaunt TR, Day INM. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol*. 2009 Feb 15;169(4):505–14.
82. Gaunt TR, Rodriguez S, Day IN. Cubic exact solutions for the estimation of pairwise

## REFERENCIAS

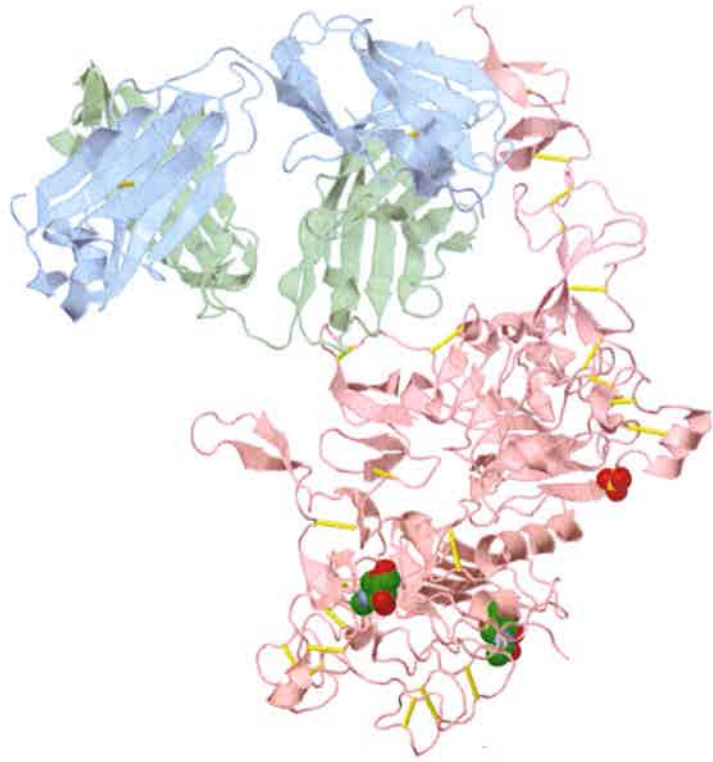
---

- haplotype frequencies: implications for linkage disequilibrium analyses and a web tool 'CubeX'. *BMC Bioinformatics*. 2007;8:428.
83. Zamora J, Abraira V, Muriel A, Khan K, Coomarasamy A. Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data. *BMC Med Res Methodol*. 2006 Jul 12;6:31.
84. Kafka A, Sauer G, Jaeger C, Grundmann R, Kreienberg R, Zeillinger R, et al. Polymorphism C3435T of the MDR-1 gene predicts response to preoperative chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Int J Oncol*. 2003 May;22(5):1117–21.
85. Sutherland RL, Musgrove EA. Cyclin D1 and mammary carcinoma: new insights from transgenic mouse models. *Breast Cancer Res*. 2002;4(1):14–7.



ANEXO





## DIFUSIÓN CIENTÍFICA



## 10. DIFUSIÓN CIENTÍFICA

### PUBLICACIONES

Los resultados de esta tesis han sido parcialmente publicados como un artículo original en la revista *Pharmacological Research* (Factor de impacto: 4.816; Categoría: Pharmacology and Pharmacy, 27/255; Cuartil 1), y como dos artículos de revisión en *Breast Cancer Research and Treatment* (Factor de impacto: 4.085; Categoría: Oncology, 57/213; Cuartil 2) y *Pharmacogenomics* (Factor de impacto: 2.710; Categoría: Pharmacology and Pharmacy, 93/255; Cuartil 2).

### CAPÍTULO DE LIBRO

- *“Detección de marcadores genéticos implicados en la resistencia al tratamiento con trastuzumab en pacientes con cáncer de mama”*. ISBN: 978-84-941986-3-2.

### COMUNICACIONES ORALES A CONGRESOS

- *“Los polimorfismos FCGR2A- H131R y FCGR3A-F158V y la resistencia a trastuzumab en cáncer de mama HER2-positivo”*. 61 Congreso Sociedad Española Farmacia Hospitalaria. Gijón, 4-7 Octubre 2016.

- *“El polimorfismo CCND1 rs9344 como posible predictor de respuesta en pacientes con cáncer de mama HER2 positivo”*. 60 Congreso Sociedad Española Farmacia Hospitalaria. Valencia, 10-13 Noviembre 2015.

### COMUNICACIÓN TIPO POSTER A CONGRESOS

- *“Detection of genemarkers involved in resistance to trastuzumab and lapatinib in her-2 positive breast cancer patients”*. Congreso Internacional de la Asociación Americana de Farmacéuticos de Hospital. Orlando. Diciembre 2013.





