



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO:  
LA FARMACOGENÉTICA COMO  
HERRAMIENTA EN EL TRATAMIENTO DE  
ENFERMEDADES ONCOLÓGICAS**

Autor: González Bertolín, Belén

Tutor: Paloma Bermejo Bescós

Convocatoria: Junio 2017

## ÍNDICE

1. Resumen .....	2
2. Introducción y antecedentes .....	2
3. Objetivo .....	5
4. Material y métodos .....	6
5. Resultados y discusión .....	6
5.1 Biomarcadores farmacocinéticos.....	8
5.2 Biomarcadores farmacodinámicos .....	10
5.3 Biomarcadores que evalúan el riesgo de recurrencia .....	15
5.4 Grado de implantación en la práctica clínica.....	17
5.5 Nuevos avances .....	17
5.6 Limitaciones .....	18
6. Conclusiones.....	19
7. Bibliografía.....	20

## RESUMEN

La farmacogenética, mediante el estudio de las variaciones de la secuencia de ADN sobre la respuesta a fármacos, es una disciplina que contribuye al descubrimiento, desarrollo y personalización de los tratamientos oncológicos; ya que el estrecho margen terapéutico y la variabilidad en la respuesta de los individuos, hacen que sea necesario predecir la toxicidad y eficacia de dichos tratamientos.

Mediante el empleo de biomarcadores genómicos y el análisis de polimorfismos tanto a nivel del tumor como de la línea germinal del paciente, se puede evaluar el riesgo de recurrencia, seleccionar a los pacientes que se beneficiarán de ciertas terapias dirigidas, predecir la resistencia a fármacos, predecir la toxicidad de los fármacos antineoplásicos e identificar a los pacientes con peor pronóstico. Estos datos, permitirán que el clínico, tome la decisión más acertada, proporcionando el máximo beneficio al paciente.

Es una disciplina incipiente, con un futuro muy prometedor, por lo que es necesario profundizar en su desarrollo. Esto permitirá minimizar las limitaciones actuales y sentar las bases de la farmacogenética oncológica.

El presente trabajo pretende explicar las bases de esta disciplina, así como la utilidad y el grado de implantación de la misma a nivel oncológico, demostrando que la medicina personalizada en el cáncer no es una mera utopía, sino que se trata de una realidad.

**Palabras clave:** farmacogenética, polimorfismo, cáncer, tratamientos oncológicos.

## INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Los tratamientos antineoplásicos presentan una amplia variabilidad en la respuesta de los individuos. Estas diferencias pueden ser atribuidas a diferentes factores como la edad, el sexo, la función hepática y renal, comorbilidades o la interacción con otros fármacos. Por ello, es habitual que la prescripción de estos tratamientos se realice en base a las características del paciente. Sin embargo, hay que tener en cuenta que dicha variabilidad también depende tanto de las características genéticas del tumor, como de las posibles variaciones del genoma del paciente. Este componente genético es el que explica entre el 20 y el 95% de la variabilidad interindividual de la respuesta a fármacos<sup>1</sup>. En este punto es donde la farmacogenética puede desempeñar un papel fundamental, a la hora de encontrar el tratamiento oncológico adecuado para cada paciente concreto.

La farmacogenética se podría definir como el estudio de la influencia de las variaciones de la secuencia de ADN sobre la respuesta a fármacos<sup>2</sup>. Se basa en el análisis de biomarcadores genéticos predeterminados de los que se sospecha que pueden interferir en el metabolismo, excreción o acción de los fármacos a nivel de las dianas. De este modo, el objetivo último es minimizar los efectos secundarios y aumentar su eficacia.

Los biomarcadores constituyen la herramienta clave en el desarrollo de la farmacogenética. Se puede definir un biomarcador genómico como una característica medible del ADN y/o del ARN, que indica si un proceso biológico es normal, patológico o es el resultado de una respuesta terapéutica u otras intervenciones<sup>2</sup>. Una de las primeras evidencias de que la respuesta farmacológica podía depender de las características genéticas, fue la hemólisis observada durante el tratamiento con antimaláricos, que se producía en aquellos pacientes que presentaban déficit de la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa<sup>3</sup>.

El cáncer es una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. En el año 2012 a nivel mundial, fueron diagnosticados 14,1 millones de nuevos casos; 8,2 millones de personas murieron por cáncer y 32,6 millones de personas habían superado los 5 años de supervivencia al cáncer. Los tumores responsables del mayor número de fallecimientos en 2014 en España fueron el cáncer de pulmón (21.220 muertes) y el cáncer colorrectal (15.449 muertes), seguidos del cáncer de páncreas (6.278 casos), cáncer de mama (6.213 muertes) y de próstata (5.855 muertes)<sup>4</sup>.

Al describir el término cáncer, no podemos considerarlo propiamente una enfermedad, sino como un concepto genérico que engloba a diversos tipos de neoformaciones que pueden aparecer en casi todos los tejidos del organismo. Aunque todos los cánceres presentan un comportamiento biológico común, su aparición, incidencia, curso y factores asociados puede variar sustancialmente, lo cual puede implicar que su tratamiento también debe ser individualizado.

No todas las células neoplásicas son iguales, de hecho la población de células tumorales es bastante heterogénea y no tienen por qué tener la misma capacidad de proliferación indefinida, de invasividad o de diseminación. En el crecimiento y en la división celular participan diferentes procesos de señalización, por lo que el estudio de los mismos a través de las características genéticas del tumor constituye una herramienta muy útil para garantizar la eficacia de los tratamientos dirigidos. De hecho, incluso en un mismo tipo de cáncer se pueden distinguir diferentes subtipos de acuerdo con el perfil genético presente en cada tumor<sup>5</sup>.

La carcinogénesis es un proceso multifásico resultado de una serie de alteraciones genéticas que afectan a genes reparadores del ADN, oncogenes y a la inactivación de genes supresores. Dentro de la complejidad que conllevan las alteraciones genéticas del tumor, a grandes rasgos, se pueden distinguir dos tipos fundamentales: las que promueven la proliferación celular, por lo que se consideran centrales para el desarrollo del tumor y se denominan desencadenantes o *drivers*. Y en segundo lugar aquellas que tienen un papel secundario en el desarrollo del tumor, son acompañantes de las anteriores y reciben el nombre de pasajeras o *passengers*<sup>6</sup>.

Uno de los genes supresores que puede quedar inactivado durante la carcinogénesis es el gen TP53, este codifica para una fosfoproteína nuclear (p53) que actúa como supresora del crecimiento celular. En presencia de daño no reparado en el ADN, p53 provoca una parada del ciclo que conduce a apoptosis<sup>7</sup>. Por tanto, mutaciones en el gen TP53 provocarían la pérdida de esta función. De hecho, más del 50% de los tumores humanos presentan mutaciones a nivel de este gen<sup>8</sup>.

Dentro de los oncogenes que sufren un proceso de activación durante la carcinogénesis cabe destacar el gen KRAS y el gen BRAF. Los oncogenes RAS (HRAS, NRAS, KRAS) codifican proteínas de membrana con actividad guanosina trifosfatasa, implicadas en la señalización intracelular de señales extracelulares, como son los factores de crecimiento. Las mutaciones en el oncogen KRAS conllevan una ganancia de función, que implica la activación de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK); de modo que la célula tumoral con esta mutación presenta una ventaja en el crecimiento, proliferación celular y resistencia a la apoptosis<sup>7</sup>.

El gen BRAF se puede considerar un segundo mediador de la vía de transmisión de señales tras la activación del KRAS. Las mutaciones activantes de la quinasa serina/treonina BRAF han sido identificadas en el melanoma, en el cáncer de pulmón no microcítico y en el cáncer colorrectal, entre otros. Por tanto este gen, como parte de la vía de transducción de las MAPK, está implicado en procesos celulares como la proliferación celular, diferenciación y regulación transcripcional<sup>9</sup>.

Los elementos fundamentales a considerar en la terapéutica farmacológica del cáncer son: la potencia para destruir o transformar a las células neoplásicas, la especificidad para actuar sobre estas, la aparición de posibles mecanismos de resistencia a los medicamentos antineoplásicos y la toxicidad general y específica de estos medicamentos<sup>5</sup>.

En los distintos tratamientos frente al cáncer existen algunos aspectos comunes que hacen que el tratamiento de esta patología resulte tan complejo. Uno de ellos es la heterogeneidad de la respuesta ante un mismo tratamiento en los distintos pacientes; y el otro, el estrecho margen terapéutico de los fármacos. Debido a esto, el desarrollo de una disciplina como la farmacogenética permite minimizar los efectos adversos, y adaptar cada tratamiento a las características del paciente.

Hay que tener en cuenta la gravedad de las reacciones adversas que implican los tratamientos oncológicos. La toxicidad inducida por la quimioterapia es responsable de una elevada proporción de hospitalizaciones, así como de la prolongación de la estancia hospitalaria. Mediante la aplicación de la farmacogenética de una manera eficaz, la reducción de estas sería significativa; lo cual reportaría beneficios económicos, pero lo que es más importante, beneficios en la calidad de vida del propio paciente.

La farmacogenética, mediante el empleo de biomarcadores, presenta diferentes aplicaciones a nivel de la terapia antineoplásica; por una parte permite evaluar el riesgo de recurrencia ante un determinado cáncer (un ejemplo sería el *Oncotype DX*® en el cáncer de mama); son útiles para seleccionar aquellos pacientes que presentan más probabilidad de beneficiarse de terapias dirigidas concretas, como es el caso de las mutaciones a nivel del gen KRAS en el cáncer colorrectal. Además, permite predecir la aparición de resistencia a fármacos antineoplásicos, como es la mutación EGFR T790M, en el cáncer de pulmón no microcítico. Así como para predecir toxicidad de determinados fármacos; un ejemplo sería la mutación del gen DPYD (DPYD\*2A) que implicaría evitar el empleo de 5-FU. Y por último, también son útiles para determinar aquellos pacientes que presentan un peor pronóstico, como son las mutaciones a nivel del RAS en el cáncer colorrectal<sup>10</sup>.

En definitiva, la farmacogenética va a permitir estratificar a la población en pacientes que probablemente responderán a la terapia antineoplásica o no lo harán, así como en aquellos que experimentarán o no toxicidad, proporcionando la información suficiente al clínico para que la elección del tratamiento sea la más acertada a todos los niveles.

## **OBJETIVO**

El objetivo del trabajo es proporcionar una visión global de la influencia de la farmacogenética en los tratamientos oncológicos. Y explicar las bases que permitan entender los beneficios que puede suponer esta disciplina en el tratamiento de enfermedades oncológicas mediante ejemplos concretos. A su vez, se pretenden explicar las posibles

limitaciones y los nuevos avances que han sido desarrollados en este campo, así como conocer el grado de implantación de la farmacogenética oncológica en la práctica clínica española.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se ha realizado una búsqueda bibliográfica en la base de datos MEDLINE/ PUBMED hasta abril de 2017 utilizando los términos: “pharmacogenetics”, “cancer”, “neoplasms”, seleccionando las revisiones más recientes y con mayor índice de impacto.

Para conocer el grado de implantación de la farmacogenética oncológica en la práctica clínica, se ha recogido información procedente de los médicos del Servicio de Patología del Hospital Universitario 12 de Octubre, así como del Servicio de Oncología y del Servicio de Farmacia del Hospital Universitario La Paz.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los biomarcadores genómicos son necesarios para la implantación de la farmacogenética en la práctica clínica habitual. Un biomarcador farmacogenético es cualquier marcador genético que se asocia con la respuesta a un fármaco. Sin embargo, es necesario integrar este concepto en el campo de la oncología; a este nivel, un biomarcador tumoral es una sustancia o procedimiento realizado en fluidos, células o tejidos (sangre, saliva, orina, mucosa oral, tejido tumoral) que puede permitir obtener información diagnóstica, predictiva o pronóstica sobre un tipo específico de cáncer. Por lo que se distinguen dos tipos de biomarcadores: pronósticos y predictivos. Un biomarcador pronóstico es una característica medible, que proporciona información sobre la probable evolución del cáncer, sin tener en cuenta el tratamiento. Un ejemplo de biomarcador pronóstico es: el perfil de 21 genes de *Oncotype-Dx*®, para cáncer de mama con el receptor de estrógenos/progesterona positivo y nódulos linfáticos negativos<sup>11</sup>. Un biomarcador predictivo es una característica medible, que permite identificar a los pacientes que se pueden beneficiar con mayor probabilidad de un tratamiento, o por el contrario, que identifica a aquellos que presentan mayor predisposición a desarrollar toxicidad al tratamiento. Por tanto, un biomarcador predictivo es aquel que proporciona información de la evolución de un paciente con cáncer ante una terapia específica.

A menudo, los biomarcadores son pronósticos y predictivos y esto puede ocasionar problemas de interpretación. Un ejemplo de esto, es la mutación del gen BRAF, el cual se

considera un biomarcador pronóstico negativo en el cáncer colorrectal, puesto que se asocia con las formas más agresivas de este tipo de cáncer. A su vez, una mutación del gen BRAF, puede ser considerada un biomarcador predictivo positivo en el melanoma, puesto que habrá una mayor respuesta a los fármacos cuyo mecanismo de acción se basa en la inhibición del BRAF. El oncólogo puede emplear numerosos factores pronósticos, extraídos de la información clínica (tamaño del tumor, invasión a nivel nodular, estadio de tumor...) o información procedente de la anatomía patológica, pero estos factores, pese a que son muy útiles para tomar decisiones clínicas, a menudo no son predictivos ni útiles para la elección del mejor fármaco o la mejor combinación de fármacos, que pueda recibir un paciente, para lograr la mayor probabilidad de respuesta. Emplear las características genéticas de cada individuo, como son los polimorfismos genéticos, puede ser una herramienta extremadamente útil a la hora de predecir la toxicidad y eficacia de los fármacos antineoplásicos<sup>11</sup>.

Existen dos tipos principales de variaciones de la secuencia alélica que se han vinculado con la mutabilidad del fenotipo humano: los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, *single nucleotide polymorphism*) e inserciones y deleciones (*indels*).

Un SNP es una variación en la secuencia de ADN que aparece con una frecuencia alélica de 1% o más en la población. O lo que es lo mismo, un determinado alelo mutante, que suele producir un fenotipo anómalo, que se observa en más de un 1% de la población de individuos<sup>1</sup>. Los SNP en la región codificante se clasifican como no sinónimos (si originan una sustitución de un nucleótido que modifica el codón de aminoácidos) o sinónimos (no cambian el codón de aminoácidos pero puede tener consecuencias funcionales). Los no sinónimos pueden cambiar la estructura de la proteína, su estabilidad, afinidades por el sustrato o introducir un codón de terminación. En los SNP sinónimos codificantes se puede ver afectada la estabilidad del transcripto o a nivel del empalme producir variaciones; en ocasiones se ha observado que los polimorfismos sinónimos contribuyen directamente a un rasgo fenotípico.

Los SNP en regiones no codificantes pueden surgir en promotores, intrones y otras regiones reguladoras que pueden afectar a la unión con el factor de transcripción, los intensificadores, la estabilidad del transcripto o del empalme. Dado que el 95% del genoma es intergénico es posible que muchos polimorfismos no afecten de modo directo al transcripto o proteínas codificadas. Sin embargo, los polimorfismos intergénicos pueden tener consecuencias biológicas al alterar la estructura terciaria del ADN, la interacción con la cromatina y las topoisomerasas, o la replicación del ADN. Los SNP de las regiones no

codificantes han sido mucho menos estudiados que los de las regiones codificantes, por lo que son un campo a desarrollar para la determinación de nuevos biomarcadores genómicos.

Con respecto a las *indels*, son un tipo de polimorfismo menos frecuente en el genoma y presentan una frecuencia baja en las regiones codificantes de los genes. Los indels de SNP pueden tener los mismos efectos que las sustituciones de SNP: repeticiones cortas del promotor (que alteren la cantidad del transcripto) o inserciones/delecciones que agreguen o sustraigan aminoácidos<sup>12</sup>.

El número de biomarcadores en los que realmente se recomienda realizar un test genético a la hora de llevar a cabo una decisión terapéutica es limitado. Para ello, es necesario que el biomarcador esté validado. Hay que considerar que existen muchas asociaciones entre polimorfismos y efectos adversos o eficacia a determinados tratamientos, sin embargo, muchas de ellas son contradictorias. Debido a ello, es esencial validar los resultados obtenidos en distintas cohortes antes de su aplicación a la clínica. El problema que se plantea es que la tasa de descubrimiento de biomarcadores es mucho mayor que la velocidad a la que están siendo validados, lo que ha hecho se vea ralentizado el desarrollo y la traslación de los biomarcadores a la clínica<sup>13</sup>.

## BIOMARCADORES FARMACOCINÉTICOS

A modo de síntesis, se podría considerar que un polimorfismo farmacocinético es aquel que afecta a las enzimas que intervienen en el metabolismo de los fármacos y a los transportadores de los que depende el acceso del fármaco a determinados órganos. Por tanto, individuos homocigotos con alelos normales expresan un determinado fenotipo en relación a la metabolización de un fármaco, mientras que otros individuos homocigotos con alelos anómalos, pueden mostrar otro fenotipo, en el cual la metabolización del fármaco es mucho más lenta (metabolizadores lentos) o mucho más rápida (metabolizadores rápidos), o incluso puede llegar a producirse la ausencia total de la actividad de la enzima implicada en la metabolización. Extrapolándolo al campo de los medicamentos antineoplásicos, el hecho de conocer las características genéticas del paciente, que van a afectar a nivel de la metabolización, permitirá predecir la toxicidad y eficacia de los tratamientos.

### Gen UGT1A1 y el irinotecán.

El irinotecán es uno de los agentes antineoplásicos empleados en el cáncer colorrectal metastásico. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la topoisomerasa I, necesaria para la separación de la doble hélice de DNA durante la replicación y transcripción. Como

consecuencia de su inhibición, tiene lugar la muerte celular y el consiguiente efecto antineoplásico.

El irinotecán es un profármaco que se activa a nivel hepático por la carboxilesterasa, dando lugar al 7-etil-10-hidroxi-camptotecina (metabolito activo) también denominado SN-38. La uridina difosfato glucuronosiltransferasa (UGT1A1) cataliza la detoxificación del SN-38, obteniendo el SN-38 glucurónido, compuesto más polar e inactivo<sup>3</sup>.

Los principales efectos adversos derivados de este tratamiento son diarrea severa y mielodepresión. Sin embargo, dicha toxicidad no se da en la misma proporción en todos los pacientes. La UGT1A1 es también la enzima implicada en la conjugación de la bilirrubina. De acuerdo con el estudio realizado por Wasserman et al., los pacientes con síndrome de Gilbert (hiperbilirrubinemia no conjugada crónica como consecuencia del déficit de UGT1A1) presentaban mayor toxicidad al ser tratados con irinotecán. Lo que permitió deducir que una menor actividad de la enzima UGT1A1, está asociada a mayor proporción de efectos adversos en el tratamiento con irinotecán<sup>14</sup>.

En la actualidad, se ha demostrado la presencia de un polimorfismo a nivel de la región promotora del gen UGT1A1; esta región contiene secuencias TA repetidas. El polimorfismo consiste en la variación del número de repeticiones de dicha secuencia TA. El genotipo que presenta 6 secuencias TA repetidas es el designado como UGT1A1\*1/\*1 (*wild type* en la población caucásica), este es el que se asocia a una expresión normal y, por tanto, a una actividad de la proteína normal. Mientras que si el promotor contiene una secuencia TA adicional (siete secuencias TA), es el denominado UGT1A1\*28, el cual se relaciona con una menor expresión genética y con una disminución de la actividad enzimática, por lo que los niveles plasmáticos de SN-38 se verán aumentados, presentando una mayor predisposición a sufrir los efectos adversos. Se ha observado como la actividad enzimática está disminuida tanto en pacientes heterocigotos (UGT1A1\*1\*28) como en homocigotos (UGT1A1\*28\*28) para este alelo, aunque el grado de afectación no es el mismo, y por tanto los efectos adversos y las dosis a las que aparecen también son diferentes<sup>7</sup>.

La FDA considera la presencia del genotipo homocigoto (\*28\*28) como un factor de riesgo para el desarrollo de neutropenia severa y recomienda considerar la disminución de la dosis inicial. No obstante, no se han establecido aún guías clínicas que especifiquen la reducción de la dosis<sup>15</sup>.

### Gen DPYD y el 5-fluorouracilo (5-FU)

La dihidropirimidina deshidrogenasa (DPD) es la enzima implicada en el catabolismo de las bases pirimidínicas uracilo y timina. Además también interviene en el metabolismo del fármaco 5-FU, dado que este es un análogo de pirimidina. El 5-FU es uno de los fármacos quimioterápicos más frecuentes empleados en una amplia variedad de tumores sólidos, entre ellos el cáncer colorrectal. El 5-FU es metabolizado a su forma inactiva, el 5-dihidrofluorouracilo, por la DPD, la cual ha sido considerada responsable de la degradación de más del 80% de la dosis intravenosa de 5-FU<sup>15,16</sup>.

El gen DPYD, que codifica para dicha enzima, es sumamente polimórfico. Se han descrito un amplio número de mutaciones que explican las grandes variaciones interindividuales en la actividad de la enzima. La mutación más común se produce a nivel de la secuencia de reconocimiento de splicing, tiene lugar la transición de guanina a adenina, lo que provoca la delección del exón 14, como consecuencia, se genera una proteína truncada que produce un descenso de la actividad de la DPD<sup>3</sup>. Esta mutación es designada como IVS14+1G>A, aunque también se denomina DPYD\*2A.

Dado que la enzima está implicada en la inactivación del 5-FU, el descenso de su actividad puede tener importantes efectos a nivel de su toxicidad. La biodisponibilidad del mismo se verá aumentada, provocando toxicidad neurológica, gastrointestinal y hematopoyética. La FDA advierte del riesgo asociado en la utilización de 5-FU en los pacientes con una actividad reducida de la DPD, aunque no se consideran obligatorios los test genéticos para el análisis del DPYD previa administración de 5-FU. De acuerdo con las recomendaciones propuestas por el CPIC (*Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium*) los pacientes homocigotos para el gen DPYD\*2A o aquellos que presenten ausencia de actividad de la enzima, deberían recibir un fármaco alternativo. Mientras que los pacientes heterocigotos o que presentan una actividad enzimática intermedia, deberían iniciar un tratamiento con una reducción de la dosis de 5-FU de al menos un 50%, acompañado de la determinación periódica de los niveles plasmáticos<sup>17</sup>.

### BIOMARCADORES FARMACODINÁMICOS

Las terapias dirigidas han supuesto un avance respecto a la quimioterapia clásica, permitiendo disminuir los efectos adversos y mejorando la supervivencia de muchos pacientes. Sin embargo, ciertas mutaciones a nivel de las dianas moleculares o en las vías de transducción implicadas en la génesis del cáncer pueden ser responsables de la ineffectividad de dichas terapias. El estudio y determinación de diferentes biomarcadores puede permitir seleccionar a

la población que se beneficiará de las mismas. A continuación se comentan algunos ejemplos concretos.

### Genes RAS y anticuerpos monoclonales dirigidos frente al EGFR

La vía de señalización mediada por el EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) participa en mecanismos de regulación de proliferación, diferenciación, apoptosis y angiogénesis. La activación constitutiva de dicha vía tiene lugar en la mayoría de cánceres epiteliales. Este hecho explica que el EGFR sea una de las dianas terapéuticas empleadas en las terapias dirigidas del cáncer colorrectal metastásico. En la actualidad están comercializados dos inhibidores específicos del EGFR: cetuximab y panitumumab. El cetuximab es un anticuerpo IgG1 monoclonal quimérico<sup>18</sup>, mientras que el panitumumab es un anticuerpo monoclonal IgG2 completamente humano<sup>19</sup>. Ambos reconocen el dominio extracelular del EGFR.

En la vía de señalización del EGFR, una vez que el ligando (EGF) se une al receptor y es activado, la señal puede dirigirse por tres grandes vías: activación de RAS-RAF-MEK-ERK, mediante la activación de PI3K-AKT-PTEN-mTOR y a través de la vía de STAT3. Cualquier mutación a nivel de los genes que codifican para los productos de estas vías, como puede ser KRAS, BRAF, PIK3CA..., se puede considerar una mutación *driver*, ya que contribuye a la proliferación, supervivencia, angiogénesis y metástasis de la célula y, por tanto, al desarrollo tumoral<sup>6</sup>.

Se han identificado tres genes dentro de la familia RAS: KRAS, HRAS y NRAS. Estos genes codifican para las proteínas ras las cuales presentan una actividad GTPasa intrínseca. En su forma inactiva ras está unida a GDP y al ser estimulada, tiene lugar la formación de GTP-ras, que es la forma activa. Gracias a su actividad GTPasa revierte a su forma inactiva. Si se produce una mutación a nivel de estos genes (siendo la más habitual la del gen KRAS), la actividad GTPasa queda bloqueada y la proteína ras permanece constitutivamente activada, incluso en ausencia de señal procedente del ligando (EGF)<sup>6</sup>.

En el caso de que el paciente presente la mutación a nivel de los genes RAS, el tratamiento con los anticuerpos monoclonales cetuximab y panitumumab, no será efectivo, dado que la activación de la vía es independiente de la actividad del EGFR. De este modo las mutaciones de genes RAS constituyen los biomarcadores de respuesta a los tratamientos dirigidos frente al EGFR, permitiendo predecir la resistencia a dichos fármacos y constituyendo un factor predictivo negativo relevante.

Actualmente la EMA recoge en la ficha técnica de ambos fármacos que el tratamiento solo está indicado para los pacientes con cáncer colorrectal metastásico que presenten el RAS

no mutado o *wild type*; siendo necesario determinar el estado mutacional en los exones 2, 3 y 4 tanto de KRAS como de NRAS. Aunque en un principio sólo se requería el análisis del exón 2 del gen KRAS (dado que es el exón en el que se localizan las mutaciones con mayor frecuencia), posteriormente se evidenció la necesidad de determinar NRAS y ampliar el número de exones analizados<sup>18,19</sup>. Entre los métodos empleados en la determinación del estado mutacional de los genes RAS se encuentran: secuenciación (Sanger, masiva...), pirosecuenciación, reacción en cadena de la polimerasa asociada a transcriptasa inversa (RT-PCR)...

Pese a todo, se ha determinado que algunos de los pacientes que presentan los genes RAS no mutados o nativos, no se benefician de la terapia con anti-EGFR. Como ya se ha comentado, existen otros genes implicados en esta vía de señalización, por lo que las mutaciones de los mismos podrían ser los responsables de la activación de la vía, explicando la falta de respuesta a estos fármacos. El metanálisis realizado por Therkildsen et al., sugiere la necesidad de determinar también las mutaciones a nivel de BRAF, PKI3CA y PTEN para predecir la resistencia de los pacientes a estas terapias<sup>20</sup>.

### Gen BRAF y melanoma

Hasta hace unos años las alternativas terapéuticas empleadas en el tratamiento del melanoma eran muy limitadas, puesto que los tratamientos clásicos utilizados, dacarbazina y temozolomida, mostraban unas tasas de respuesta muy reducidas y ninguna mejora en la supervivencia. Afortunadamente, tras el descubrimiento de la implicación de las mutaciones del oncogen BRAF en el melanoma, se han ido desarrollando las nuevas terapias dirigidas<sup>10</sup>.

Las mutaciones somáticas a nivel del BRAF han sido encontradas en un 37-50% de los melanomas malignos, las más prevalentes tienen como resultado la sustitución del aminoácido valina en el codón 600, por lo que se denominan mutaciones BRAF V600. Aproximadamente en el 80-90% se produce la mutación BRAF c.1799T>A en el dominio quinasa del exón 15, denominada V600E, dado que como consecuencia de la misma se produce la sustitución de valina (V) por ácido glutámico (E). En un 5-12% tiene lugar V600K (sustitución de valina por lisina), y en un 5% o menos se sustituye valina por arginina (V600R) o por ácido aspártico (V600D)<sup>9,21</sup>. Estas se conocen como mutaciones activadoras, dado que aumentan la actividad de la proteína BRAF, produciendo la activación constitutiva de la vía de señalización MAPK<sup>9,15</sup>, promoviendo la proliferación celular y el desarrollo tumoral en ausencia de factores de crecimiento.

El vemurafenib es un inhibidor de la serina-treonina quinasa BRAF, indicado para el tratamiento en monoterapia de pacientes con melanoma no resecable o metastásico<sup>21</sup>. Ha demostrado ejercer un beneficio clínico en la mayoría de los pacientes con mutaciones BRAF V600E<sup>22</sup>, dado que al inhibir a BRAF permiten una disminución de la actividad de la vía, disminuyendo los efectos proliferativos, angiogénicos, metastatizantes... que intervienen el desarrollo tumoral. Debido a ello, los pacientes que presenta la mutación BRAF V600E presentarán sensibilidad frente a este inhibidor. Siendo necesario determinar el estado mutacional del BRAF, antes de comenzar el tratamiento con vemurafenib.

Para determinar el estado mutacional del oncogen BRAF se necesita la realización de un test validado. Uno de los empleados en los ensayos clínicos es el denominado Test de Cobast® 4800 basado en la reacción en cadena de la polimerasa. Este test evalúa el DNA aislado de la muestra de tejido tumoral y detecta con elevada sensibilidad la mutación predominante (BRAF V600E), aunque también se han detectado V600D y V600K con una sensibilidad menor<sup>21</sup>.

Otro de los fármacos empleados es el dabrafenib, inhibidor de las quinasas RAF. Dado que las mutaciones activantes de BRAF producen una activación constitutiva de la vía RAS/RAF/MEK/ERK, al inhibir las quinasas RAF, disminuirán también los diferentes efectos proliferativos, angiogénicos, de supervivencia... Con este fármaco también es necesario la determinación del estado mutacional de BRAF, de modo que únicamente los pacientes con mutación BRAF V600, serán los indicados para este tratamiento<sup>23</sup>.

La inicial eficacia y mejoría clínica proporcionada por estos nuevos tratamientos en el melanoma metastásico, se ha visto truncada por la aparición de resistencias que se producen en la mayoría de los pacientes en el primer año de tratamiento<sup>9,24</sup>. Entre los mecanismos de resistencia más comunes descritos, se incluyen las mutaciones a nivel de RAS y MEK, lo que ocasiona la consiguiente activación de la vía MAPK. Por ello, la combinación del dabrafenib y un inhibidor del MEK como el trametinib parecía una alternativa lógica para combatir dicha resistencia. De hecho, los estudios realizados obtuvieron resultados alentadores, ya que demostraron un aumento de la supervivencia de los pacientes tratados con la combinación de fármacos en comparación con un tratamiento en monoterapia con vemurafenib en aquellos pacientes que presentaban mutaciones BRAF V600, obteniendo un tiempo de supervivencia libre de progresión de 11,4 meses aquellos pacientes tratados con la combinación de fármacos frente a los 7,3 meses del grupo de pacientes tratados únicamente con vemurafenib<sup>25</sup>. En 2015, la FDA aprobó la combinación de ambos fármacos como tratamiento del melanoma. La

EMA también lo aprobó en el mismo año y se encuentra recogido en la ficha técnica del Tafinlar®<sup>23</sup>, donde se especifica que el empleo de dabrafenib en combinación con trametinib, retrasa la aparición de resistencias. También queda reflejada la necesidad de determinar el estado mutacional de BRAF con anterioridad a la administración de la combinación de fármacos.

A pesar de todo, existen otros mecanismos de resistencia como pueden ser el *splicing* alternativo o la amplificación del gen BRAF V600, la adquisición de mutaciones a nivel del gen NRAS, las mutaciones a nivel PI3K/AKT1...<sup>9</sup> por lo que es necesario seguir investigando para mejorar la efectividad de estos tratamientos. Sin olvidar la necesidad de desarrollar nuevos tratamientos para aquellos pacientes con melanoma que no presenten mutaciones BRAF V600.

En la siguiente tabla se resumen los principales biomarcadores clínicos relacionados con los fármacos aprobados por la FDA en función del tipo de neoplasia<sup>15</sup>:

Enfermedad	Biomarcador	Fármacos	Frecuencia
Cáncer de mama	HER2	Trastuzumab, lapatinib, pertuzumab, trastuzumab emtansina	20%
	ESR1	Exemestano, letrozol, anastrozol, fulvestrant, tamoxifeno	60%
Cáncer colorrectal	KRAS, NRAS	Cetuximab, panitumumab	35%-40%
	EGFR	Cetuximab, panitumumab	35%-40%
	DPYD	5-Fluorouracilo, capecitabina	< 5%
	UGT1A1	Irinotecán	30%
Cáncer de pulmón	ALK	Crizotinib, ceritinib	5%-7%
	EGFR	Erlotinib, gefitinib, afatinib, osimertinib	15%-20%
Melanoma	BRAF	Vemurafenib, dabrafenib, trametinib	50%-60%
Leucemia promielocítica aguda	PML-RAR $\alpha$	Trióxido de arsénico, tretinoína	> 95%
Leucemia mieloide crónica	BCR-ABL	Imatinib, dasatinib, nilotinib, bosutinib, ponatinib, omacetaxina mepesuccinat	> 95%
	UGT1A1	Nilotinib	30%
Linfoma cutáneo de células T	CD-25/IL2RA	Denileukin diftitox	75%
Leucemia linfática crónica	del(17p)	Ibrutinib	3%-8% al diagnóstico
	CD20/MS4A1	Obinutuzumab, rituximab	25%
Leucemia linfática aguda	TPMT	6-mercaptopurina, tioguanina	< 5%
Linfoma no Hodgkin	CD20/MS4A1	Rituximab, tositumomab	> 90%

## BIOMARCADORES QUE EVALÚAN EL RIESGO DE RECURRENCIA

La determinación del perfil genético del tumor permite obtener información de gran utilidad para el oncólogo, puesto que además de predecir el pronóstico de la enfermedad, en algunos casos permiten establecer el tratamiento más efectivo para el paciente.

En la actualidad los principales test genéticos se han desarrollado en el cáncer de mama. A nivel de este tipo de cáncer, se han empleado diferentes variables clínicas (tamaño del tumor, afectación ganglionar, grado histológico...) además de biomarcadores (receptor estrogénico (RE), receptor de progesterona (RP), el receptor del factor de crecimiento humano tipo 2 (HER2)) para estratificar a los pacientes y en base a ello establecer el riesgo de recurrencia y seleccionar el tratamiento más adecuado. Gracias al desarrollo de los microarrays de expresión génica, se han podido analizar simultáneamente la expresión de miles de genes, permitiendo caracterizar molecularmente cada tumor y en base a ello, clasificarlos en diferentes subtipos. Las diferentes plataformas genómicas han analizado múltiples características genéticas permitiendo confirmar la existencia de cuatro subtipos principales de cáncer de mama: hormonodependientes o luminales, que a su vez se dividen en luminal A y luminal B; tipo HER2 (*HER2-enriched*) y los tumores triple negativos (HER2 negativo con receptor hormonal negativo) donde se encuadra el *basal like* entre otros<sup>10,26</sup>. Determinar el subtipo de cáncer se considera fundamental para predecir el riesgo y establecer la estrategia terapéutica.

Entre los perfiles moleculares pronósticos se encuentran el *Mammaprint*® y el *Oncotype DX*® dentro de los de primera generación. Y entre los de segunda generación destacan *PAM50*® y *Endopredict*®. Todos emplean como método de análisis la reacción en cadena de la polimerasa asociada a transcriptasa inversa, excepto *Mammaprint*® en el que se utilizan microarrays.

*Mammaprint*® analiza 70 genes para calcular una “puntuación de recurrencia” (*recurrence score*), que permite clasificar a los pacientes que presentan un alto o bajo riesgo de recidiva. Ha sido desarrollado para pacientes con cáncer de mama, menores de 61 años, que presenten un estadio I/II, nódulos linfáticos negativos o entre uno o tres nódulos linfáticos positivos. Permite predecir con mayor exactitud la recurrencia en los primeros cinco años.

*Oncotype DX*® analiza 21 genes y también obtiene una puntuación de recurrencia basada en el valor de los genes de cada grupo (proliferación, estrógenos HER2 e invasión) y en la expresión de genes específicos (CD68, GSTM1 y BAG1). Con los resultados obtenidos

permiten clasificar a los pacientes en función del riesgo de recurrencia en 10 años, existiendo tres niveles: bajo, intermedio y alto.

*Endopredict*® realiza el análisis de 12 genes (ocho genes tumorales, tres genes de normalización y un gen de control de ADN). Según los niveles de expresión de los genes se establece el parámetro EP, con un rango de valores entre 0-15. Este dato sumado a los parámetros clínicos patológicos (tamaño del tumor, grado de afectación ganglionar...), permite obtener el valor EPclin-score, clasificando a los pacientes en dos grupos de riesgo: alto o bajo. De este modo, combina la determinación genética con las características clínico-patológicas del paciente. Con la aplicación de este test se pretende optimizar el empleo de la terapia adyuvante, lo cual puede conducir a una mejoría en la progresión de los pacientes diagnosticados en los primeros estadios.

*PAM50*® ha sido diseñado para analizar 50 genes, de modo que permite identificar y clasificar a los pacientes en los subtipos del cáncer de mama ya comentados. Cada subtipo presenta una información clínica y pronóstica asociada, que permite guiar al clínico en cuanto al tratamiento que debería seleccionar<sup>10</sup>.

Los pacientes que presente bajo riesgo de recidiva probablemente no obtendrán beneficio del tratamiento con tamoxifeno o tamoxifeno con quimioterapia, presentando menor proporción de efectos adversos y una mejor calidad de vida. Aquellos pacientes que presenten un riesgo intermedio de recidiva, no está clara la estrategia terapéutica a seguir, y en este caso será el especialista quién deberá sopesar diferentes aspectos para tomar la decisión. Los pacientes con un alto riesgo de recidiva se verán beneficiados de un tratamiento quimioterápico seguido de tamoxifeno<sup>10</sup>.

La clasificación realizada en base a los resultados obtenidos en el test es lo que se denomina clasificación molecular. En ocasiones esta no coincide con la clasificación patológica clásica, por ello, pese a que se realicen este tipo de procedimientos, hay que seguir determinando biomarcadores como RE y HER2. Estos tipos de tests requieren un mayor desarrollo que permita disminuir los posibles fallos que puedan presentar. Sin embargo, es necesario remarcar el papel que han desempeñado al permitir una mejor comprensión de las vías moleculares específicas de cada subtipo, a la vez que han sido útiles para el descubrimiento de nuevas dianas, lo que se traduce en nuevos tratamientos, además de las mejorías en la selección de los tratamientos disponibles<sup>26</sup>. En definitiva, actualmente estos tipos de tests no deben sustituir a la valoración pronóstica mediante variables clínicas, sino

que deben complementarla, poniendo a disposición del especialista una mayor información, que le permita tomar la decisión terapéutica más acertada.

### Grado de implantación en la práctica clínica

La farmacogenética oncológica es una disciplina que se encuentra integrada en el Sistema Nacional de Salud. A nivel de los hospitales españoles, se realizan un número considerable de tests genéticos demandados por los servicios de oncología. En la Comunidad de Madrid existen centros de referencia como el Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz o el Hospital Universitario 12 de Octubre, cuyos laboratorios realizan los test demandados por otros hospitales.

En el cáncer colorrectal en el Hospital Universitario 12 de Octubre, se realiza de forma rutinaria en aquellos pacientes que presenten al menos un estadio T3N0 (el tumor invade hasta los tejidos pericólicas, pero no existe metástasis en ganglios linfáticos regionales) la determinación del estado mutacional de los genes KRAS y NRAS, el estado mutacional del gen BRAF (V600), y la inestabilidad de microsatélites (MSI) en tejido tumoral. Además en aquellos pacientes que presentan toxicidad clínica al 5-FU también se caracteriza el gen DPYD. Aunque sería recomendable realizarlo de forma previa a la administración de quimioterapia, en la actualidad no existe ese grado de implantación. En el cáncer de mama, el biomarcador relacionado con la farmacogenética que se lleva a cabo de forma rutinaria es la determinación de HER2. Se considera recomendable la realización de la plataforma de expresión génica *Mammaprint*® y *Oncotype DX*®, aunque no se realizan de forma sistemática. En el melanoma el único biomarcador farmacogenético rutinario es la determinación del BRAF (V600).

### Nuevos avances

En la actualidad, se encuentran en fase de estudio las determinaciones de biomarcadores en el plasma o suero del paciente, lo que también se conoce como biopsia líquida. Esta técnica se basa en la caracterización molecular de células tumorales circulantes (CTC) y en la búsqueda de DNA libre circulante (cfDNA) en el suero del paciente, empleando técnicas muy sofisticadas de alta sensibilidad<sup>27</sup>. Los cfDNA consisten en pequeños fragmentos de DNA que se localizan en el torrente circulatorio como resultado de la liberación de fragmentos de DNA procedentes de numerosos mecanismos, entre ellos: células del tumor primario, de zonas de metástasis o de células tumorales circulantes; también pueden ser el resultado de la acción de

los macrófagos a nivel celular<sup>10</sup>. En el cáncer colorrectal metastásico, se han realizado estudios sobre el estado mutacional de KRAS a partir de muestras de sangre periférica mediante la caracterización de cfDNA, obteniendo una correlación con la biopsia tumoral superior al 90%<sup>28</sup>. Si este ámbito de investigación llega a establecerse en la práctica clínica habitual, puede suponer un gran avance para la disciplina oncológica; dado que permitiría realizar estudios moleculares en aquellos casos en los que no exista tejido tumoral suficiente o en los que el acceso al tejido no sea posible. Además, al tratarse de una muestra cuyo acceso es relativamente sencillo, podría emplearse en la monitorización del tratamiento, relacionando la ausencia de cfDNA con una adecuada efectividad y respuesta al tratamiento con la terapia dirigida; mientras que la reaparición de los mismos se asociaría con la recidiva<sup>27</sup>.

### Limitaciones

A pesar de la evidente utilidad de la farmacogenética, hay que considerar que para cada fármaco, están implicadas varias vías metabólicas, las cuales pueden interactuar entre sí, y que la respuesta a los fármacos puede depender del tipo de medicamento recibido, del sexo, de la raza o de la edad del paciente. Debido a ello, los estudios farmacogenéticos en ocasiones conducen a resultados confusos y contradictorios que obligan a tener cautela en la interpretación de los resultados y exigen validaciones posteriores en estudios clínicos prospectivos<sup>7</sup>.

Otro de los aspectos en los que se debe seguir trabajando es en la elaboración y el establecimiento de Guías Oficiales de Farmacogenética. La implantación de estas permitiría homogenizar criterios, además de proporcionar información clínica sobre interpretación y utilidad de los resultados, sin olvidar la disminución de problemas de reproducibilidad entre los diferentes laboratorios, al establecer la metodología de forma exacta y precisa.

Ya ha sido mencionado el problema derivado de la validación de biomarcadores. Para que un test genético pueda ser empleado en la práctica clínica debe proporcionar información fiable, predictiva y validada, que no sea posible obtener por otras técnicas. Para ello, se requieren ensayos clínicos que respalden su efectividad y eficacia. Sin embargo, esta necesidad de ensayos clínicos prospectivos y aleatorizados, como método para justificar la implementación, supone en muchos casos un retraso, que puede redundar en que los pacientes no reciban el tratamiento que podría salvar sus vidas o aumentar su supervivencia.

## CONCLUSIONES

Las diferencias en las respuestas a fármacos han sido observadas de manera empírica a lo largo de los años. Sin embargo, también se ha evidenciado que estas diferencias son menores entre gemelos homocigotos. Lo que pone en evidencia que esta variabilidad presenta un importante componente genético. El estudio entre los genes y la respuesta a los fármacos permite predecir la variabilidad interindividual.

La farmacogenética pretende optimizar las diferentes opciones de tratamiento según el perfil genético del paciente y el genoma del tumor, para obtener la máxima eficacia y la mínima toxicidad secundaria a los medicamentos antineoplásicos.

A nivel del tratamiento oncológico, la marcada heterogeneidad en la respuesta ante un mismo tratamiento en los diferentes pacientes y el estrecho margen terapéutico de los fármacos, hacen de la farmacogenética una disciplina necesaria para optimizar el tratamiento de esta patología. Además, en esta patología existe la posibilidad de evaluar dos tipos de material genético: el del paciente (línea germinal) y el del tumor (línea somática). Esto se suma a los beneficios que reportarán en el paciente, dado que su implantación generalizada supondrá un descenso considerable de las hospitalizaciones secundarias a las reacciones adversas derivadas de la quimioterapia, así como beneficios económicos, puesto que además de la gravedad de los efectos adversos, hay que considerar el elevado coste que suponen muchos tratamientos quimioterápicos. La farmacogenética oncológica informa al clínico sobre los posibles riesgos de recurrencia, lo que le permitirá elegir el tratamiento que reportará un mayor beneficio, permitiendo estratificar a la población seleccionando a aquellos pacientes que se beneficiarán de los tratamientos dirigidos y conocer las posibles resistencias a ciertos tratamientos, así como los tumores que presentan peor pronóstico.

Los biomarcadores constituyen la herramienta clave de esta disciplina. El análisis de polimorfismos proporciona información crítica sobre la selección de un tratamiento específico, lo que mejorará la tasa de respuesta y la supervivencia de los pacientes.

Pese al elevado número de fármacos que requieren el análisis de biomarcadores, no todos se realizan en la práctica clínica de forma rutinaria. Esto se debe en parte a la necesidad de validación de los biomarcadores, la cual en muchos casos puede suponer un retraso, al prolongar el proceso de implantación aunque el fármaco ya haya sido aprobado, y por otro, a que la disciplina aún no está completamente integrada en los sistemas sanitarios, si bien es cierto que a nivel oncológico la implantación es muy superior a otros campos.

Aunque la farmacogenética presenta una indudable utilidad en el campo oncológico, no deja de ser una disciplina incipiente, cuyas bases aún no están bien establecidas. En ocasiones, los estudios farmacogenéticos conducen a resultados confusos y contradictorios. No hay que olvidar que en la farmacología humana, existen otros componentes no genéticos responsables de la variabilidad, por lo que, con cierta frecuencia, estos son los responsables de la desviación de los resultados esperados. Debido a esto, es necesario establecer las bases de la disciplina, y un posible paso hacia las mismas sería la elaboración de Guías Oficiales de Farmacogenética. Estas proporcionarían a los profesionales sanitarios una fuente de referencia, además de disminuir los problemas de reproducibilidad a nivel de los diferentes laboratorios.

Tal y como dijo el premio Nobel y co-descubridor de la estructura de la molécula de ADN, James Watson “Antes pensábamos que nuestro futuro estaba en las estrellas. Ahora sabemos que está en nuestros genes”.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Armijo J.A, Sanchez M.B. Influencia de los factores genéticos y ambientales, la edad y el embarazo sobre la respuesta a los fármacos. En: Flórez, Jesús, director. Farmacología Humana. 6ª ed. España: Elsevier Masson; 2014. p. 121-129
2. European Medicines Agency. EMA/CHMP EMEA/CHMP/ICH/437986/2006. Definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories. 2007.
3. Morán González, Dominica, Jimenez Cabrera, Silvia et al. Farmacogenética en oncología. Med Clin (Barc).2008;131(5): 184-192.
4. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM). Las cifras del cáncer en España. 2017. Disponible en: [www.seom.org/en/prensa/el-cancer-en-espanyacom/105941-las-cifras-del-cancer-en-espana-2017](http://www.seom.org/en/prensa/el-cancer-en-espanyacom/105941-las-cifras-del-cancer-en-espana-2017)
5. Colegios oficiales de Farmacéuticos. Cáncer. Panorama Actual del Medicamento. 2015; 39 (381): 127-155.
6. Hernández-Losa, Javier, Sanz, Julia, Landolfi, Stefania et al. Recomendaciones para la determinación de mutaciones de K-RAS en cáncer de colon. Rev Esp Patol. 2012;45(2):76-85.
7. Páez López- Bravo, David. Farmacogenética en el tratamiento del cáncer colorrectal. Directores: Montserrat Baiget Bastús, Agustí Barnadas Molins. Tesis doctoral inédita, Universitat Autònoma de Barcelona. Departamento de Medicina, 2012. p.8-66.
8. Rang HP, Ritter MJ, Flower RJ, Henderson G. Proliferación celular, apoptosis, reparación y regeneración. En: Rang HP, Ritter MJ, Flower RJ. Rang y Dale. Farmacología. 8ª ed. España: Elsevier. 2016. p.71-72
9. Lovly, C., D. Johnson, W. Pao, J. Sosman. 2015. BRAF in Melanoma. My Cancer Genome. Disponible en: [www.mycancergenome.org/content/disease/melanoma/braf/](http://www.mycancergenome.org/content/disease/melanoma/braf/)
10. Rodríguez-Vicente et al.: Pharmacogenetics and pharmacogenomics as tools in cancer therapy. Drug Metabol Pers Ther 2016; 31(1): 25–34.
11. Robert, Jacques. Le Morvan, Valerie et al. On the use of pharmacogenetics in cancer treatment and clinical trials. European Journal of Cancer. 2014;50: 2532-2543.

12. Relling, Mary V. Giacomini, Kathleen. Farmacogenética. En: Brunton, Laurence. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. México: McGraw-Hill. 2012. p.145-166
13. Prieto-Pérez, Rocio. Cabaleiro, Teresa. Abad-Santos, Francisco. Cómo se establece la relevancia clínica farmacológica de polimorfismos. Actualidad farmacología y Terapéutica. 2012; 10(2): 184-192.
14. Wasserman E, Myara A, Lokiec F, et al. Severe CPT-11 toxicity in patients with Gilbert's syndrome: two case reports. Ann Oncol 1997; 8: 1049-51.
15. N Patel, Jai. Cancer pharmacogenomics, challenges in implementation, and patient-focused perspectives. Pharmacogenomics and Personalized Medicine. 2016; 9: 65-77.
16. Cavic, Milena, Krivokuca, Ana et al. Pharmacogenetics in cancer therapy – 8 years of experience at the Institute for Oncology and Radiology of Serbia. JBUON 2016; 21(5): 1288-1289.
17. Caudle KE, Thorn CF, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for dihydropyrimidine dehydrogenase genotype and fluoropyrimidine dosing. Clin Pharmacol Ther. 2013; 94(6):640–645.
18. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica Vectibix®. Abril 2017. Disponible en:  
[www.ema.europa.eu/docs/es\\_ES/document\\_library/EPAR\\_\\_Product\\_Information/human/000741/WC500047710.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR__Product_Information/human/000741/WC500047710.pdf)
19. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica Erbitux®. Abril 2017. Disponible en:  
[www.ema.europa.eu/docs/es\\_ES/document\\_library/EPAR\\_\\_Product\\_Information/human/000558/WC500029119.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR__Product_Information/human/000558/WC500029119.pdf)
20. Therkildsen C, Bergmann TK et al. The predictive value of KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA and PTEN for anti-EGFR treatment in metastatic colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. Acta Oncol. 2014; 53(7):852-864
21. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica Zelboraf®. Abril 2017. Disponible en:  
[www.ema.europa.eu/docs/es\\_ES/document\\_library/EPAR\\_\\_Product\\_Information/human/002409/WC500124317.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR__Product_Information/human/002409/WC500124317.pdf)
22. Chapman PB, Hauschild A. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. N Engl J Med. 2011; 364(26):2507-16.
23. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica Tafenlar®. Abril 2017. Disponible en:  
[www.ema.europa.eu/docs/es\\_ES/document\\_library/EPAR\\_\\_Product\\_Information/human/00260/WC500149671.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR__Product_Information/human/00260/WC500149671.pdf)
24. Sun C, Wang L, Huang S, et al. Reversible and adaptive resistance to BRAF (V600E) inhibition in melanoma. Nature. 2014; 508(7494):118–122.
25. Robert C1, Karaszewska B. Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. N Engl J Med. 2015; 372(1):30-9.
26. Lluch A, Eroles P, Martínez de Dueñas. Clasificación molecular del cáncer de mama. En: Diaz-Faes, J. Ruibal. A. Tejerina A, editores Cáncer de mama. Aspectos de interés actual. Fundación de Estudios Mastológicos (FEMA) 2012. 103-122.
27. De Castro Carpeño, Javier. Biomarcadores moleculares y genómica en el cáncer de pulmón. Grupo clínico de Biomarcadores en oncología. Disponible en:  
[www.institutoche.es/oncobyg/marcadoresmoleculares/cancer\\_de\\_pulmon](http://www.institutoche.es/oncobyg/marcadoresmoleculares/cancer_de_pulmon)
28. Morgan SR, Whiteley J, Donald E, et al. Comparison of KRAS Mutation Assessment in Tumor DNA and Circulating Free DNA in Plasma and Serum Samples. Clin Med Insights Pathol. 2012; 5:15-22.