

# Estudio de polimorfismos genéticos en CYP3A4 y CYP2D6, y su papel en la susceptibilidad a cáncer de mama

Laura Fleitas B.<sup>(1)</sup>, Noelia Durán M.<sup>(1)</sup>, Carla Miranda M.<sup>(2)</sup>, Kuen Lee C.<sup>(2)</sup>, Luis Quiñones S.<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Estudiante de Medicina Universidad de Chile

<sup>(2)</sup>Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética, Programa de Farmacología Molecular y Clínica, ICBM, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile

## SUMMARY

**Background:** Breast cancer is the first cause of death in women in Chile and worldwide. One of the causing factors is the exposition to endogenous and exogenous estrogens which stimulate cell proliferation. Estrogens are metabolized by cytochrome P450 enzymes, mainly CYP3A4 and CYP2D6, which participate in estradiol hydroxylation to 2-hydroxyestradiol and/or 4-hydroxyestradiol, facilitating their excretion from the body. Thus, polymorphisms in these enzymes alter the plasma estrogen concentration and its excretion rate. Moreover, CYP3A4\*1B polymorphisms have been associated to breast cancer risk and also with early menarche. **Goal:** To establish potential associations between breast cancer risk and CYP3A4\*1B and CYP2D6\*4 genetic variants in patients compared with healthy volunteers. **Methods:** The Research was authorized by the Ethical Committee of Military Hospital of Santiago, Chile. Patients signed an informed consent and genomic DNA was obtained for genotyping of CYP3A4 and CYP2D6 through PCR-RFLP. **Results:** Obtained genotype frequencies in patients for CYP3A4\*1B were: 0.821 for CYP3A4\*1/\*1; 0.184 for CYP3A4\*1/\*1B; 0.789 for CYP2D6\*1/\*1 and 0.211 for CYP2D6\*1/\*4. No recessive homozygote mutant genotypes were detected in patients (CYP3A4\*1B/\*1B or CYP2D6\*4/\*4). Genotype frequencies for healthy volunteers were 0.890 for CYP3A4\*1/\*1; 0.110 for CYP3A4\*1/\*1B; 0.735 for CYP2D6\*1/\*1; 0.245 for CYP2D6\*1/\*4 and 0.019 for CYP2D6\*4/\*4. It was observed a higher frequency of CYP3A4\*1/\*1B in patients in relation to healthy volunteers, however the difference was not statistically significant. **Conclusions:** This research is a first approach to the study of breast cancer susceptibility associated to CYP3A4 and CYP2D6 variants in Chilean patients. Even though we do not find an statistically significant association, the potential relationship observed for CYP3A4\*1B (OR=1,83, IC=0,63-5,22, p= 0,212) should be confirmed in a bigger study, so that these findings could be extrapolated to clinical therapeutics in breast cancer patients in order to favor early detection of the risk to acquire the pathology.

**Fecha recepción: marzo 2013 | Fecha aceptación: julio 2013**

## INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es la primera causa de muerte en mujeres tanto en Chile como en el mundo. Se estima que 458.503 mujeres mueren cada año en el mundo (tasa de mortalidad estandarizada por edad de 12,4 por 100.000 habitantes) con una producción de 1,15 millones de nuevos casos (tasa de incidencia estandarizada por edad de 37,4 por 100.000 mujeres)<sup>(1)</sup>. Más aún, se espera que una de cada ocho mujeres que alcanzan los 85 años de edad, hayan desarrollado cáncer de mama durante el transcurso de su vida<sup>(1)</sup>.

En Chile el cáncer de mama tiene una tasa de muerte observada de 15 por 100.000 mujeres al año<sup>(2)</sup>. Es decir, al día mueren tres mujeres por esta patología.

En los últimos años ha aumentado la incidencia del cáncer de mama en términos relativos, debido a la popularización de la mamografía y también debido a los cambios en el estilo de vida (sedentarismo y obesidad), reproducción, etc.<sup>(1)</sup>.

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea con una amplia gama de aspectos histológicos. Esta puede ser causada por muchos factores, como la edad, la exposición a estrógenos, densidad mamaria y la herencia, entre otros<sup>(3)</sup>.

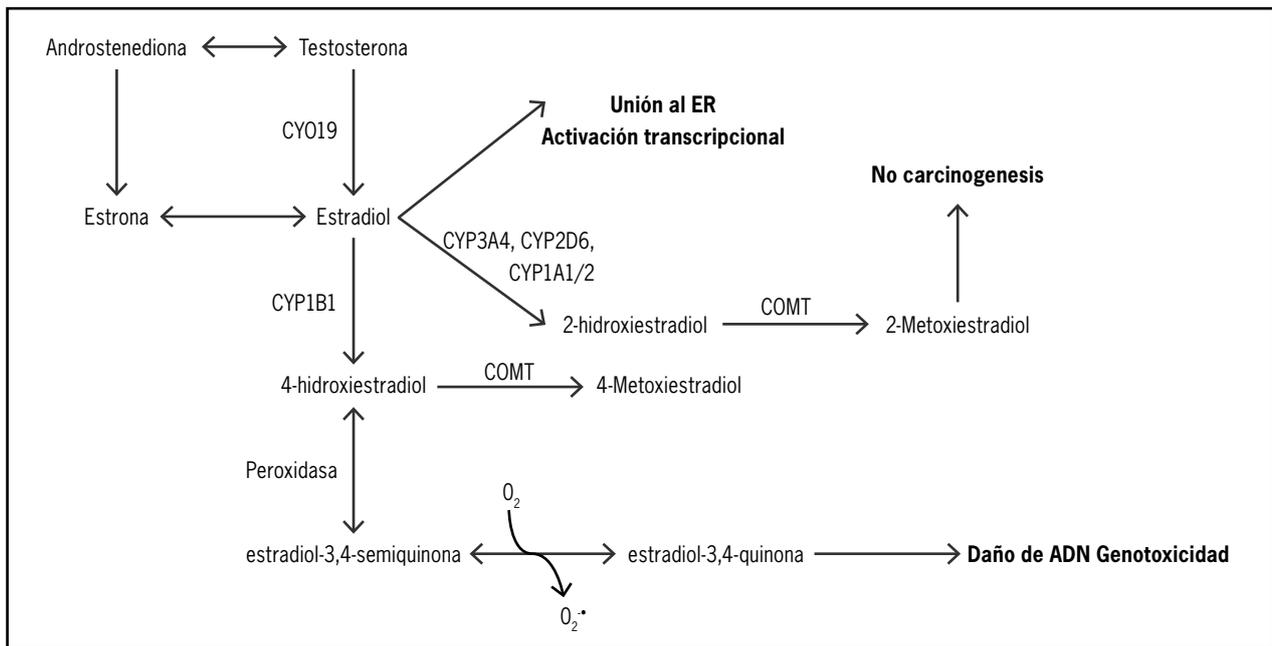
Se sabe que el 75% de los tejidos tumorales poseen la expresión del receptor de estrógeno (ER), por lo cual podrían ser dependientes de la señal de estrógeno para su crecimiento y replicación<sup>(4)</sup>. En las células que se expresan los ER, el estrógeno induce la síntesis de los factores de crecimiento celular como el TGF- $\alpha$ , IGF y EGF, y bloquea la transcripción de factor antiproliferativo TGF- $\beta$ <sup>(5)</sup>. Esto provoca la proliferación celular e inhibición de la apoptosis; por lo tanto, el crecimiento del tumor.

La fuente principal de estrógenos en las mujeres premenopáusicas son los ovarios, mientras que en las mujeres postmenopáusicas la mayoría de los estrógenos son producidos mediante la conversión del andrógeno en estrógeno por la enzima aromataza en los tejidos periféricos<sup>(6)</sup>. El estrógeno presente en el sistema circulatorio en las mujeres como también los hombres es el resultado de los estrógenos que han escapado del metabolismo local.

Los estrógenos endógenos entonces tienen un papel preponderante en la génesis de este cáncer y distintas situaciones dependientes del ambiente, los hábitos de vida y la presencia de polimorfismos en enzimas que participan en su metabolización pueden modificar el riesgo de cáncer de mama.

Los estrógenos endógenos y exógenos sufren metabolismo oxidativo en los microsomas hepáticos mediante enzimas citocromo P450 (CYP). Hidroxilación aromática, ya sea en la posición C2 o C4, es una vía principal del metabolismo del estradiol en los seres humanos. Varias isoformas del CYP, incluyendo CYP2C8, CYP2C9, CYP3A5, CYP2D6, CYP3A4, CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 y CYP2C19, catalizan la hidroxilación de estradiol a 2-hidroxiestradiol y/o 4-hidroxiestradiol. Este último metabolito puede transformarse en una semiquinona por acción de una enzima peroxidasa y posteriormente a una quinona por incorporación de O<sub>2</sub>, la cual puede producir genotoxicidad. La acción de CYP3A4, CYP2D6, CYP1A1/2 dirige el metabolismo de estradiol a 2-hidroxiestradiol, cuya vía metabólica conduce a metabolitos no tóxicos<sup>(7)</sup> (Figura 1).

Cambios en los niveles de expresión de las CYP metabolizadoras de estrógeno no solo alteran la intensidad de la acción del estrógeno, sino también el perfil de su efecto fisiológico a nivel hepático y en otros tejidos. Hay dos postulados principales para



**Figura 1.** Biotransformación de estradiol.  
COMT: catecol-O-metiltransferasa

la carcinogénesis de esta patología: los estrógenos por sí mismos actúan como una hormona estimuladora de proliferación celular y los estrógenos que funcionan como procarcinógenos que inducen genotoxicidad<sup>(7)</sup>.

Las diferencias entre individuos en la expresión o actividad de las enzimas CYP se deben a factores fisiológicos, patológicos, ambientales y/o genéticos<sup>(8-11)</sup>. Estos últimos pueden corresponder a repeticiones nucleotídicas, inserciones, deleciones o polimorfismos de un nucleótido (SNPs), lo cual modifica la secuencia aminoacídica de las proteínas codificadas y la expresión génica<sup>(12)</sup>. El aumento de la actividad de ésta puede deberse a: duplicación del gen (sobreexpresión), la exposición a factores ambientales como xenobióticos (que induzcan la expresión o activación de esta) o polimorfismos en los genes que codifican la enzima (aumento de la expresión o mayor actividad catalítica)<sup>(9,10)</sup>. La disminución de la actividad de la enzima puede deberse a: polimorfismos en los genes que codifican la enzima (disminución de la expresión o menor actividad catalítica) o falta total de actividad de la

enzima), exposición a un factor ambiental como una enfermedad infecciosa o xenobiótico (supresión de la expresión, inhibición o inactivación de la enzima)<sup>(9-11)</sup>.

Los genes que codifican para enzimas CYP son muy polimórficos. Por ejemplo, hasta la fecha se han encontrado más de 105 variantes de *CYP2D6* (<http://www.cypalleles.ki.se/cyp2d6.htm>). Esta enzima constituye el 1,5% de total de enzimas citocromo P450 en el hígado humano adulto y participa en el metabolismo de esteroides y de fármacos. La variante polimórfica *CYP2D6\*4* (rs3892097) es la más común con una frecuencia de 20-25% en estas poblaciones y es responsable del 70-90% de todos los metabolizadores pobres<sup>(12)</sup>. Es provocada por una transición G>A la cual provoca un cambio en el lugar de corte y empalme entre el intrón 3 y el exón 4, generando una proteína inactiva<sup>(13)</sup>. Por lo que *CYP2D6\*4* es un alelo no funcional de *CYP2D6*; por lo tanto, al encontrarse en su forma homocigota determina un fenotipo metabolizador pobre. Para chilenos se ha informado frecuencia del alelo mutado de 0,04<sup>(14)</sup>.

CYP3A4 es el citocromo P450 predominante que se expresa en el hígado humano adulto. El mayor sustrato endógeno identificado para esta familia son los esteroides y está involucrada en la vía de inactivación de testosterona, progesterona, androstenodiona y cortisol<sup>(15)</sup>. La actividad de CYP3A4 varía ampliamente en los seres humanos y se han encontrado más de 78 polimorfismos. Por lo que es probable que variantes en CYP3A4 puedan estar implicadas en cáncer de mama. Uno de los polimorfismos denominado *CYP3A4\*1B* (nombre trivial *CYP3A4-V*) ha sido asociado a cáncer avanzado de próstata. La modificación genética descrita consiste en el cambio de un sólo nucleótido (A→G) en la posición -292 en la región promotora 5' (rs2740574), en un motivo de secuencia conocido como el elemento de respuesta específico para nifedipino<sup>(16)</sup>. *In vitro* exhibe dos veces menor actividad enzimática que el genotipo común *CYP3A4\*1/\*1* (16–18); aunque estudios *in vivo* no han demostrado que la variante *CYP3A4\*1B* esté asociada a disminución de la actividad enzimática<sup>(19)</sup>. Para chilenos se ha informado frecuencia del alelo mutado de 0,06<sup>(14)</sup>.

La variación genética en las secuencias no codificantes que flanquean el locus CYP3A contribuye a la variación en los niveles de estrógeno glucuronido en premenopáusicas y se asocia con el riesgo de cáncer de mama en pacientes más jóvenes<sup>(20)</sup>. Otro estudio estadounidense muestra que la herencia de *CYP3A4\*1B* está correlacionada con la menarquía temprana, uno de los factores de riesgo del cáncer de mama<sup>(21)</sup>. Esta asociación es atribuible al mayor tiempo de exposición a estrógenos que enfrenta la persona al tener una aparición prematura de la pubertad<sup>(22)</sup>.

CYP2D6 es una de las enzimas más importantes en el metabolismo de fármacos y otros compuestos que actúan tanto a nivel del SNC como sistema circulatorio<sup>(23)</sup>. Fenotípicamente existe una elevada variabilidad en la capacidad de metabolización de

CYP2D6 que se puede explicar por los polimorfismos de este gen, ya que los cocientes metabólicos de un individuo son estables en el tiempo, indicando una influencia limitada de los factores medioambientales o fisiológicos en la actividad de esta enzima, a diferencia de CYP3A4 que presenta una importante influencia de los factores ambientales<sup>(24,25)</sup>.

Por lo tanto, resulta importante conocer el genotipo de cada individuo para aportar a las investigaciones que pretenden predecir el riesgo de cáncer de mama. De acuerdo a lo anterior, el presente trabajo persigue determinar si la presencia de las variantes genéticas de *CYP3A4* y *CYP2D6* constituyen factores de susceptibilidad a presentar cáncer de mama.

## MATERIALES Y METODOLOGÍA

### Materiales

En el presente trabajo se utilizaron partidores (*primers* o cebadores), agua DPC, dNTPs, de calidad “para biología molecular”, *Taq* ADN polimerasa (Invitrogen, Brasil), enzima de restricción *MboII* y *MvaI* (Fermentas, USA), marcador de peso molecular 100-1000 pb Hyperladder IV (Bioline, MA, USA), agarosa y poliacrilamida (Bioline, Taunton, MA, USA), kit comercial de purificación de ADN desde sangre periférica o saliva (Roche Diagnostics GmbH, Alemania; Isolate DNA Kits, Bioline, USA).

### Voluntarios

Se seleccionó un grupo de 38 pacientes con confirmación histológica de cáncer de mama tratadas en Hospital Militar de Santiago y OncoMed y un total de 115 mujeres sanas de la población general, reclutadas en el Centro de Investigaciones Farmacológicas y Toxicológicas de la Universidad de Chile (Tabla 1). Se consultó a las acerca de su voluntad de participar en el estudio, firmando

posteriormente un documento de consentimiento informado autorizado por Comité de Ética. Se les tomó una muestra de sangre periférica o de hisopado bucal para realizar el análisis genotípico.

#### Determinación de CYP3A4\*1B mediante PCR-RFLP

Se determinó la variante genética de *CYP3A4\*1B*, utilizando una adaptación del método de Cavalli *et al* 2001<sup>(18)</sup>, en el cual se amplifica la región promotora 5' del gen humano *CYP3A4* (nucleótidos -318 a +67). Posteriormente, el amplicón obtenido (385pb) fue sometido a digestión con la enzima de restricción *MboII*. Los resultados fueron evaluados mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 16% (Figura 2A).

#### Determinación de CYP2D6\*4 mediante PCR-RFLP

Se determinó la variante genética de *CYP2D6\*4* utilizando una adaptación del método descrito por Schur *et al* 2001<sup>(28)</sup>, en el cual se amplifica la región ubicada entre la unión del intrón 3 y el exón 4, la cual contiene un cambio de G18464A. Posteriormente el amplicón obtenido (355pb) fue sometido a digestión con la enzima de restricción *MvaI*. Los resultados fueron evaluados mediante electroforesis en geles de agarosa al 2% (Figura 2B).

#### Determinación del porcentaje de mezcla amerindio caucásica (%M<sub>A-C</sub>)

Se determinó el %M<sub>A-C</sub> mediante al equilibrio Hardy-Weinberg y ecuación de Bernstein tal como describe en la literatura<sup>(29,30)</sup>.

#### Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico para un estudio de caso-control. La relación entre estos genes polimórficos (*CYP3A4\*1B* y *CYP2D6\*4*) y el riesgo de cáncer de mama se examinó mediante Odds

**Tabla 1.**  
**Caracterización de las poblaciones en estudio.**

	Pacientes	Voluntarias sanas
Nº	38	115
Edad (años)	60 ± 14	32 ± 14*
Peso (Kg)	66 ± 11	61 ± 9
Talla (m)	1,57 ± 0,06	1,60 ± 0,06
IMC	27± 4	24±3
%M <sub>A-C</sub>	8,8	20,2*

Los datos están expresados como promedios ± desviación estándar.

IMC: Índice de masa corporal

%Ma-c = Porcentaje de mezcla amerindio-caucásica.

\*p<0,001

ratio (OR) con IC del 95% y el método de Woolf en un modelo logístico incondicional, utilizando el software Stata 10.0.

#### Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Militar y fue desarrollado de acuerdo a las normativas de buenas prácticas clínicas y cumpliendo con los acuerdos de la declaración de Helsinki<sup>(26,27)</sup>.

#### RESULTADOS

El análisis de los grupos de estudio muestra que el grupo de voluntarias sanas es significativamente más joven que el grupo de pacientes y que la composición étnica es también diferente. Esto último debido a que se encontró que el porcentaje de mezcla amerindio-caucásica (%MA-C) fue de 8,8% en las pacientes versus un 20,2% encontrado en la población de voluntarias sanas. Los parámetros de peso, talla e índice de masa corporal son equivalentes en ambos grupos (Tabla 1).

Los análisis genotípicos de las pacientes muestran que del total de 38 pacientes, para el polimorfismo *CYP3A4\*1B*, 31 pacientes poseen genotipo *CYP3A4\*1/1\** y 7 poseen genotipo *CYP3A4\*1/1B*.

**Tabla 2. Frecuencias genotípicas y alélicas de las variantes genéticas CYP3A4\*1B y CYP2D6\*4 de pacientes con cáncer de mama y voluntarias sanas.**

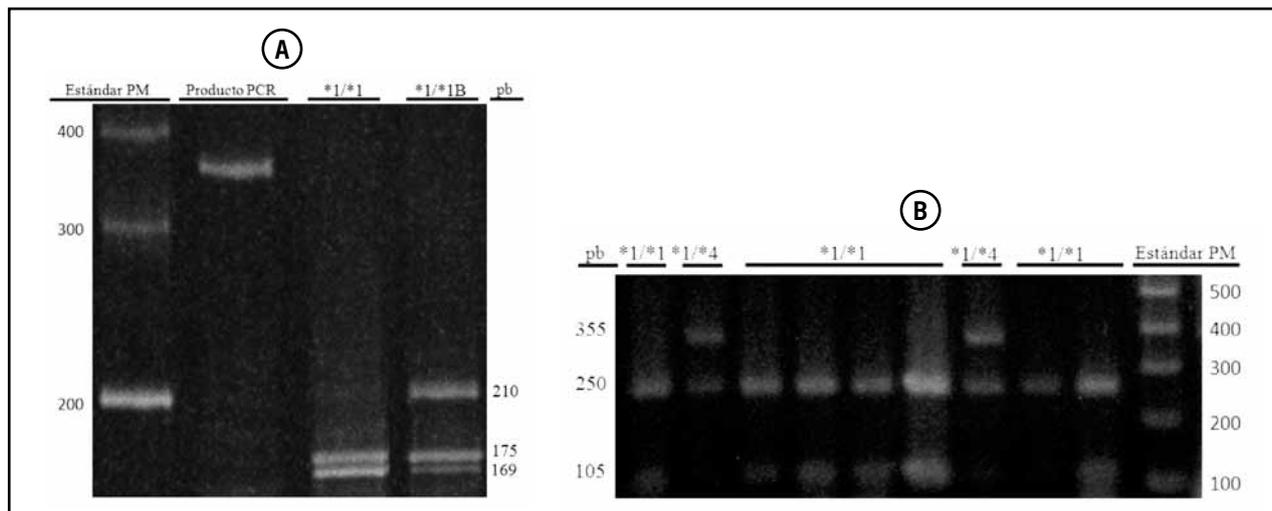
		Pacientes con cáncer de mama (n=38)					Voluntarias sanas (n=115)				
		CYP3A4*1B			Alélica		CYP2D6*4			Alélica	
		Genotípica			*1	*1B	Genotípica			*1	*4
Frecuencia		*1/*1	*1/*1B	*1B/*1B	0,908	0,092	*1/*1	*1/*4	*4/*4	0,858	0,142
		0,821	0,184	0,00			0,789	0,211	0,000		

Por su parte, para el polimorfismo CYP2D6\*4 30 poseen genotipo *CYP2D6\*1/\*1* y 8 poseen genotipo *CYP2D6\*1/\*4*. Esto se traduce en frecuencias genotípicas de 0,821 para *\*1/\*1* y 0,184 para *\*1/\*1B* para el polimorfismo CYP3A4\*1B y de 0,789 para *\*1/\*1* y 0,211 para *\*1/\*4*, para el polimorfismo CYP2D6\*4. En las voluntarias sanas las frecuencias genotípicas para el polimorfismo CYP3A4\*1B fueron de 0,890 para *\*1/\*1* y 0,110 para *\*1/\*1B* y para el polimorfismo CYP2D6\*4

fueron de 0,735 para *\*1/\*1*, 0,245 para *\*1/\*4* y 0,019 para *\*4/\*4* (Tabla 2).

En los pacientes, para ninguno de los polimorfismos estudiados se encontraron individuos homocigotos recesivos *\*1B/\*1B* o *\*4/\*4* respectivamente.

La frecuencia alélica encontrada en pacientes para *CYP3A4* fue 0,908 para el alelo *\*1* y de 0,092 para el alelo *\*1B*. En cambio en voluntarias sanas, fue



**Figura 2.** Patrón electroforético de los polimorfismo genético estudiado.

**A.** Identificación de CYP3A4 luego de la digestión del producto de PCR con la enzima de restricción *MbolI* se observaron fragmentos de 175 y 169 pb para el genotipo silvestre (*CYP3A4\*1/\*1*) y de 210, 175 y 169 pb para el genotipo heterocigoto (*CYP3A4\*1/\*1B*), mediante electroforesis en geles de poliacrilamida al 16%.

**B.** Identificación de CYP2D6 luego de la digestión del producto de PCR con la enzima de restricción *MvaI*. Se observaron fragmentos de 250 y 105 pb para el genotipo silvestre (*CYP2D6\*1/\*1*) y de 355, 250 y 105 pb para el genotipo heterocigoto (*CYP2D6\*1/\*4*), mediante electroforesis en geles de agarosa al 2%.

de 0,945 para el alelo \*1 y 0,055 para el alelo \*1B. En el análisis de *CYP2D6* en pacientes se determinó una frecuencia alélica de 0,105 para \*4 y de 0,895 para \*1; en cambio en voluntarias sanas, fue de 0,858 para \*1 y 0,142 para \*4.

El análisis comparativo de los grupos de estudio versus las variantes genóticas mostró que no existe una asociación estadísticamente significativa entre los diferentes genotipos y el riesgo de presentar cáncer de mama, aunque el valor de OR obtenido para el polimorfismo \*4 (OR=1,83, IC=0,63-5,22, p= 0,212) es considerablemente alto (Tabla 3).

### DISCUSIÓN

La tasa de incidencia específica por edad de cáncer de mama en las mujeres se eleva hasta la menopausia, se nivela y luego vuelve a subir a menor velocidad, lo que indica que hay una posible influencia hormonal sobre el riesgo de enfermedad. Varias evidencias se han encontrado las que indican que las hormonas y otros compuestos con actividad sobre los estrógenos participan en la patogénesis del cáncer de mama. Por lo que los niveles del estradiol endógeno puede influir en el riesgo de cáncer de mama<sup>(15)</sup>.

El estradiol se sintetiza en las células teca del ovario de mujeres premenopáusicas o en las células del estroma adiposo de la mama de mujeres posmenopáusicas y en cantidades menores en el tejido periférico. Estas células, así como el tejido de cáncer de mama, expresan todas las enzimas necesarias para la hidroxilación de estradiol tal como *CYP1A1*, *CYP3A4*, *CYP2D6*, etc. Los polimorfismos de estas enzimas pueden tener un papel en el riesgo de cáncer de mama<sup>(31)</sup> a través de la modulación de los niveles de hormonas sexuales.

Al comparar las frecuencias genóticas encontradas en las 38 pacientes con cáncer de mama versus chilenas sanas mediante estadística descriptiva, se observó que en las primeras hay mayor presencia del genotipo *CYP3A4\*1B*, aunque esto no se tradujo en una asociación estadísticamente significativa, presumiblemente debido a la baja potencia estadística de un grupo tan pequeño de pacientes; en cambio, no se observó diferencias estadísticamente significativas ni tendencias para el polimorfismo *CYP2D6\*4*. Para corroborar estas observaciones se realizó un análisis de riesgo, mediante cálculo de Odds Ratio (OR) para ambos polimorfismos en ambos grupos de estudio. Este análisis arrojó un valor de OR=1,83 (*p-value*= 0,212) para *CYP3A4\*1/\*1B* lo que muestra una tendencia clara

**Tabla 3. Efecto de variantes polimórficas *CYP3A4* y *CYP2D6* sobre el riesgo de desarrollo de cáncer de mama.**

Variante genotípica	casos		control		OR	95% CI	P-value
	n	f	n	f			
<b><i>CYP3A4*1B</i></b>	38	1	155	1			
<b>*1/*1</b>	31	0,821	138	0,890	1,00	-----	1,000
<b>*1/*1B</b>	7	0,184	17	0,110	1,83	0,63-5,22	0,212
<b><i>CYP2D6*4</i></b>	38	1	155	1			
<b>*1/*1</b>	30	0,789	114	0,735	1,00	-----	1,000
<b>*1/*4</b>	8	0,211	38	0,245	0,8	0,31-2,02	0,611
<b>*4/*4</b>	0	0	3	0,019	NA	-----	-----

OR, odds ratio; CI, interval de confianza.  
NA: no aplicable

que apoyaría la hipótesis presentada para esta variante. Contrariamente, en el caso de *CYP2D6\*4* no se observó una asociación significativa ni una tendencia estadística que sugiera una potencial asociación.

El análisis del %M<sub>A-C</sub> para las pacientes con cáncer de mama fue de 8,8%. El bajo componente amerindio observado en el grupo de estudio dificulta la generalización de los datos obtenidos, ya que no es comparable con el 20,2% encontrado en la población de voluntarias sanas. Del mismo modo, la diferencia etaria de ambos grupos de estudio podría estar encubriendo un potencial efecto de las variantes debido a que, a pesar que los polimorfismos son heredables y no varían con la edad, la enfermedad sí es edad-dependiente. Para resolver esta limitante, una opción en estudios futuros es comparar al grupo estudio con un grupo control de mayor componente caucásico y de similar rango etario, al mismo tiempo que ampliar el número de pacientes para lograr mayor representatividad y mayor poder estadístico.

En el presente trabajo no hemos estudiado la relación de estas variantes con la menarquía temprana, un aspecto que podría ser relevante para la aparición de la enfermedad a la luz de hallazgos

de otros investigadores al respecto, tales como el de Keshava *et al* (2004) que estudió un grupo de jóvenes de EE.UU. (n = 137, 39 de afro-americanas, 57 hispanos y 41 caucásicos) y asoció la herencia del alelo *CYP3A4\*1B* (OR= 3,21) con la aparición temprana de la menarquía y con la aparición de cáncer de mama<sup>(21)</sup>. Nuestros hallazgos aunque limitados respecto de *CYP3A4*, coinciden con este último aspecto, aunque difieren de otros estudios en que no se encontró asociación entre la presencia del cáncer de mama y la variante *CYP3A4\*1B*<sup>(15,16,32)</sup>. De acuerdo a lo anterior, aún permanece la controversia con respecto al papel de la variante *CYP3A4\*1B* como predictor de riesgo para el cáncer de mama.

Por lo tanto, los datos encontrados por nuestro equipo en conjunto con algunas investigaciones reportadas en la literatura científica, permiten sugerir que el estudio de las variantes de *CYP3A4* es de alta conveniencia para aportar a la evaluación de la susceptibilidad a cáncer de mama, sobre todo en mujeres con menarquía temprana. Sin embargo, los resultados de estos análisis deben ser tratados con precaución y en conjunto con otros factores relevantes, hereditarios o no, tales como los genes BRCA, la edad y la exposición medioambiental a compuestos hormono-miméticos.

## AGRADECIMIENTOS

*El grupo de investigación desea agradecer expresamente el apoyo de la dirección del Hospital Militar de Santiago y el apoyo bioestadístico del Dr. Dante Cáceres L.*

## REFERENCIAS

1. MINSAL. Guía clínica Cáncer de Mama. Santiago. 2011.
2. DEIS. Defunciones, mortalidad observada y ajustada por tumores malignos según localización, por Región y sexo. Chile 2000-2010 [Internet]. Noviembre 2012. Consultado en: <http://www.deis.cl/estadisticas-mortalidad/>
3. Robbins & Cotran. Patología estructural y funcional. Cap. 23. SA. BEEE, editor. Barcelona; 2010. p. 1066–95.
4. Dunnwald L, Rossing M, Li C. Hormone receptor status, tumor characteristics, and prognosis: a prospective cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2007;9:R6.
5. Band A, Laiho M. Crosstalk of TGF- $\beta$  and estrogen receptor signaling in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2011;16:109–15.
6. Gruber C, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber J. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med* 2002;346:340–52.
7. Tsuchiya Y, Nakajima M, Yokoi T. Cytochrome P450-mediated metabolism of estrogens and its regulation in human. *Cancer letters* 2005;227:115–24.
8. Guengerich F. Human Cytochrome P450 Enzymes. In: Ortiz de Montellano P, editor. *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*. 3th editio. New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: KluwerAcademic/Plenum Publishers; 2005. p. 377–530.
9. Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenetics: an opportunity for a safer and more efficient pharmacotherapy. *J Int Med* 2001;250:186–200.
10. Schuetz E. Induction of cytochromes P450. *Current drug metabolism* 2001;2:139–47.
11. Pirmohamed M, Park B. Cytochrome P450 enzyme polymorphisms and adverse drug reactions. *Toxicology* 2003;192:23–32.
12. Zhou S, Di Y, Chan E, Du Y, Chow V, Xue C *et al*. Clinical pharmacogenetics and potential application in personalized medicine. *Curr Drug Metab* 2008;9:738–84.
13. Higgins M, Stearns V. CYP2D6 polymorphisms and tamoxifen metabolism: clinical relevance. *Curr Oncol Rep* 2010;12:7–15.
14. Roco A, Quiñones L, Agúndez JAG, García-Martín E, Squicciarini V, Miranda C *et al*. Frequencies of 23 functionally significant variant alleles related with metabolism of antineoplastic drugs in the Chilean population: comparison with caucasian and asian populations. *Front Genet* 2012;3:229.
15. Spurdle AB, Goodwin B, Hodgson E, Hopper JL, Chen X, Purdie DM *et al*. The CYP3A4\*1B polymorphism has no functional significance and is not associated with risk of breast or ovarian cancer. *Pharmacogenetics* 2002;12:355–66.
16. Rebbeck TR, Jaffe JM, Walker AH, Wein AJ, Malkowicz SB. Modification of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4. *J Natl Cancer I* 1998;90:1225–9.
17. Felix C, Walker A, Lange B, Williams T, Winick N, Cheung N *et al*. Association of CYP3A4 genotype with treatment-related leukemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1998;95:13176–81.
18. Cavalli SA, Hirata MH, Hirata RD. Detection of MboII polymorphism at the 5' promoter region of CYP3A4. *Clin Chem* 2001;47:348–51.
19. Wandel C, Witte J, Hall J, Stein C, Wood A, Wilkinson G. CYP3A activity in African American and European American men: population differences and functional effect of the CYP3A4\*1B5'-promoter region polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 2000;68:82–91.

20. Johnson N, Walker K, Gibson LJ, Orr N, Folkerd E, Haynes B, *et al.* CYP3A variation, premenopausal estrone levels, and breast cancer risk. *J Natl Cancer I* 2012;104:657–69.
21. Keshava C, McCanlies EC, Weston A. CYP3A4 polymorphisms--potential risk factors for breast and prostate cancer: a huge review. *Am J Epidemiol* 2004;160:825–41.
22. Kadlubar FF, Berkowitz GS, Delongchamp RR, Wang C, Green BL, Tang G, *et al.* The CYP3A4\*1B variant is related to the onset of puberty, a known risk factor for the development of breast cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2003;12:327–31.
23. McElroy S, Sachse C, Brockmoller J, Richmond J, Lira M, Friedman D, *et al.* CYP2D6 genotyping as an alternative to phenotyping for determination of metabolic status in a clinical trial setting. *AAPS pharmSci* 2000;2:E33.
24. Eichelbaum M, Burk O. CYP3A genetics in drug metabolism. *Nature Medicine* 2001;7:285–7.
25. Baker SD, Van Schaik RHN, Rivory LP, Ten Tije AJ, Dinh K, Graveland WJ *et al.* Factors affecting cytochrome P-450 3A activity in cancer patients. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research.* 2004;10:8341–50.
26. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. 2008.
27. Guidance for Industry. E6 Good Clinical Practice: Consolidated Guidance, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, ICH. 1996.
28. Schur B, Bjerke J, Nuwayhid N, Wong S. Genotyping of cytochrome P450 2D6\*3 and \*4 mutations using conventional PCR. *Clin Chim Acta* 2001;308:25–31.
29. Valenzuela C, Acuña M, Harb Z. Gradiente Sociogenético en la Población Chilena. *Rev Med Chil* 1987;115:295–9.
30. Acuña P M, Llop R E, Rothhammer E F. Composición genética de la población chilena: las comunidades rurales de los valles de Elqui, Limarí y Choapa. *Rev Méd Chile* 2000;128:593–600.
31. Kristensen VN, Harada N, Kristensen T, Borresen-Dale AL. [Genetic polymorphism and variability of steroid hormone metabolism: connection with risk of developing breast neoplasms]. *Voprosy Onkologii* 2001;47:156–9.
32. Le Marchand L, Donlon T, Kolonel LN, Henderson BE, Wilkens LR. Estrogen metabolism-related genes and breast cancer risk: the multiethnic cohort study. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 2005;14:1998–2003.

### CORRESPONDENCIA

Dr. Luis Quiñones Sepúlveda  
 Laboratorio Carcinogénesis Química y Farmacogenética  
 Programa de Farmacología Molecular y Clínica  
 Instituto de Ciencias Biomédicas  
 Facultad de Medicina, Campus Occidente, Universidad de Chile  
 Fono: 2681 7756  
 Email: lquinone@med.uchile.cl

